

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES QUE SE EXPENDEN EN MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD DE GUATEMALA

JUAN CARLOS DUBÓN PÉREZ

Médico Veterinario

GUATEMALA, JUNIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes*
EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES QUE SE EXPENDEN EN
MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD DE GUATEMALA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

JUAN CARLOS DUBÓN PÉREZ

Al conferírsele el Grado Académico de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, JUNIO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez.
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo.
VOCAL I:	Lic. Sergio Amilcar Dávila Hidalgo.
VOCAL II:	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno.
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco.
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez.
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

M.V. BLANCA JOSEFINA ROMILLO DE ZELAYA
M.V. DRA. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ
M.V. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

DEDICATORIA

A MIS ASESORES:

M.V. Blanca Zelaya de Romillo, M.V. Jacqueline Escobar Muñoz, M.V. Jaime Rolando Méndez.

A MIS PADRINOS:

M.V. Oscar Ruano, M.V. Jacqueline Escobar y en especial M.V. Clelia Veras, gracias por compartir este momento.

A MIS AMIGOS DE UNIVERSIDAD:

Por cada uno de esos momentos compartidos.

A MIS AMIGOS DE INFANCIA

Por su gran amistad. En especial a Evelyn Zepeda.

A MIS CENTROS DEL SABER:

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Clínica Veterinaria Pet-center, Clinivet, Laboratorio de Microbiología y en especial Clínica Veterinaria Ararat y su personal. Muchas gracias.

ACTO QUE DEDICO

- A Dios: Por ser mi padre celestial, por guardarme y permitirme disfrutar de tantos éxitos.
- A mis padres: Julio Dubón y Laura Ester de Dubón, por todo su apoyo, amor y múltiples oraciones.
- A mi abuelita: María del Carmen Brione Piedra Santa. Por ser como mi madre.
- A mis hermanas: Karina y María René. Por todo su amor y apoyo incondicional.
- A mis primas: Viviana Mariel y Flor de María, por su amor incondicional.
- A mis Tías: Ana María y Floridalma Emperatriz, por sus múltiples muestras de amor y sus oraciones.
- A mis sobrinos: Mathew, Samanta, Camila, Abigail, Carmen y Arón, que les sirva como un ejemplo de vida.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo General.....	2
2.2 Objetivo Específico.....	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 Queso fresco artesanal.....	3
3.1.1 Contaminación de quesos frescos artesanales.....	3
3.1.2 Factores de riesgo por consumir quesos frescos artesanales.....	4
3.1.3 Microbiología de quesos frescos artesanales.....	5
3.1.3.1 Patógenos.....	5
3.1.3.2 Situación epidemiológica de listeriosis humana.....	6
3.1.4 Primer brote importante de listeriosis	6
3.1.4.1 Brotes de listeriosis asociados al consumo de lácteos a nivel mundial.....	6
3.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	9
3.2.1 Morfología.....	9
3.2.2. Habitat natural de <i>Listeria monocytogenes</i>	9
3.2.3 Serotipos de <i>Listeria monocytogenes</i>	10
3.2.4 Propiedades bioquímicas.....	11
3.2.5 Resistencia.....	11
3.2.6 Listeriosis en humanos.....	12
3.2.6.1 Período de incubación.....	12
3.2.6.2 Cuadro clínico.....	13
3.2.6.3 Prevención de la listeriosis.....	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1 Materiales.....	15
4.1.1 Recursos humanos.....	15
4.1.2 Materiales de campo.....	15
4.1.3 Recursos de tipo biológico.....	16
4.1.4 Materiales y equipo de laboratorio.....	16
4.1.5 Medios de cultivo y reactivos.....	16
4.1.6 Centros de referencia.....	16
4.2 Metodología.....	17
4.2.1 Descripción del área.....	17

4.2.2 Muestreo.....	17
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	19
VI. CONCLUSIONES.....	25
VII. RECOMENDACIONES.....	26
VIII. RESUMEN.....	27
SUMMARY.....	29
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
X. ANEXOS.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1	
Condiciones óptimas para el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i>	11
Cuadro No. 2	
Clasificación científica.....	12
Cuadro No.3	
Total de muestras positivas <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria spp</i>	22
Cuadro No.4	
Características macroscópicas de las colonias de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria spp</i>	23
Cuadro No. 5.	
Pruebas confirmativas de <i>Listeria monocytogenes</i>	24
Cuadro No. 6	
Muestras de quesos frescos artesanales de mercados municipales de la ciudad de Guatemala.....	25
Cuadro No. 7	
Mercados municipales de la ciudad de Guatemala.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1

Muestras positivas y negativas de quesos frescos artesanales de
mercados municipales de la ciudad de Guatemala.....22

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA's) constituyen un peligro para la salud humana, debido a que los productos alimenticios representan la fuente principal de riesgo biológico y que dichas enfermedades se encuentran distribuidas a nivel mundial.

La bacteria *Listeria monocytogenes* es de gran importancia entre los microorganismos causantes de ETA's. (enfermedades transmitidas por alimentos), debido a su amplia distribución en la naturaleza, ya que ha sido aislada de varias especies de animales y una amplia variedad de productos alimenticios frescos y procesados, como la leche cruda no pasteurizada, quesos, helados, legumbres, productos cárnicos, entre otros, logrando que se constituya en una seria amenaza para la salud humana, ya que produciendo la enfermedad denominada listeriosis.

Considerando que la presencia de esta bacteria en quesos artesanales listos para la venta, puede representar un riesgo potencial para la salud pública, porque en los puntos de ventas no se tienen las medidas necesarias para mantener su inocuidad es necesario determinar su presencia en este producto alimenticio.

En el presente estudio se pretende determinar la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala. Para ello se analizarán muestras de queso con un peso de 4 onzas, utilizando el método, ISO 11290-1/AFNOR modificado, con el propósito de establecer si este producto es una posible fuente de infección por el microorganismo, poniendo en riesgo la salud de la población susceptible.

II. OBJETIVOS

2.1 General

Generar información sobre la calidad microbiológica de quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

2.2 Específico

Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales, que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Queso fresco artesanal

Es el producto fresco, solido o semisólido que se produce por acción, de la separación del suero que es la parte liquida, luego de la coagulación o cuajo, de la leche que es la materia prima. (3)

3.1.1 Contaminación de quesos frescos artesanales

El queso fresco artesanal es un producto lácteo que ofrece condiciones favorables para el crecimiento de *Listeria monocytogenes*; ya que la mayor parte de productores elaboran estos quesos a partir de leche cruda sin pasteurizar, sumado a esto, la inadecuada practica de elaboración más la alta humedad que mantiene este tipo de queso y al hecho de que no se tienen controles de almacenamiento, distribución y expendio, se convierte en una fuente potencial para la transmisión de listeriosis en humanos. (15)

Listeria monocytogenes se ha vuelto una amenaza en los ambientes de producción y procesamiento de alimentos. No se puede saber si un queso está contaminado solo por su aspecto, ya que la bacteria no modifica el sabor ni cambia el olor en los alimentos de consumo humano. (15)

En los departamentos y municipios aledaños a la ciudad capital se concentra la producción y manufactura de quesos frescos artesanales, siendo por lo general productores que elaboran pequeñas cantidades de queso porque manejan una baja cantidad de animales (vacas) de las cuales extraen la leche, siendo el objetivo primordial para ellos vender su producto no importando la salubridad que puedan ofrecer al mercado. No cumpliendo con normas de inocuidad como lo es el transporte para su distribución, por lo regular son traídos a la capital en carros (tipo panel, pickup) sin ningún método de

refrigeración o refrigeración inadecuada para mantener un ambiente ideal del producto y así evitar la contaminación con los diferentes tipos de bacterias patógenas como lo es el caso de este estudio *L. monocytogenes*. También un medio de transporte de lácteos son los buses extraurbanos, en donde tampoco se toman medidas de inocuidad y refrigeración.

De todos los alimentos, es evidente que los quesos son contaminados con mayor frecuencia, en especial aquellos que en su elaboración se utiliza leche cruda no pasteurizada. Estos tienen un pH mayor que la mayoría de los quesos y en consecuencia, son más vulnerables a la contaminación por esta bacteria. Hay estudios que indican que hasta 10% están contaminados con *L. monocytogenes* y que la prevalencia de este patógeno varía entre los diferentes tipos de quesos. En quesos blandos y semiblandos, la actividad de agua es mayor que en los duros, permitiendo el crecimiento de la bacteria. Durante la producción de lácteos fermentados, la baja actividad de agua y bajo pH previenen la supervivencia y crecimiento de *L. monocytogenes*. (15)

3.1.2 Factores de riesgo por consumir quesos frescos artesanales

Entre los factores que favorecen a que se presente la enfermedad por el consumo de alimentos contaminados están:

- Cantidad y frecuencia de consumo de alimento.
- Frecuencia de la contaminación del alimento con *L. monocytogenes*.
- Características del alimento.
- Temperatura de refrigeración.
- Duración del alimento en refrigeración.

- Cantidad de *L. monocytogenes* que esté presente en alimentos listos para el consumo.

Existe una legislación microbiológica, donde el nivel de *L. monocytogenes* es variado desde una tolerancia de 0 UFC por 25 gramos, para el caso de Estados Unidos, hasta 100 UFC por gramo, para países de la unión Europea. (9)

Para el caso de países como el nuestro, según el COGUANOR avalado por el Codex Alimentarius, la FAO y normas microbiológicas de los alimentos la concentración de contaminación con *L. monocytogenes* es ausencia en 25 gramos a 100 UFC por gramo o mililitro. (7)

3.1.3 Microbiología de quesos frescos artesanales

3.1.3.1 Patógenos

- *Estafilococos aureus*
- *Escherichia coli* O157:H7
- *Listeria monocytogenes*
- *Clostridium sp.*
- *Mycobacterium sp.*
- *Streptococo pyogenes,*
- *Brucella sp.*
- *Coxiella sp.* (11).

3.1.3.2 Situación epidemiológica de listeriosis humana

3.1.4 Primer brote importante de listeriosis

Listeria monocytogenes se descubrió en 1926 pero recién se conoció y documentó la transmisión por alimentos en 1981, año en que se presentó el primer brote. Este se originó por el consumo de ensaladas de vegetales en Nueva Escocia (Canadá), los vegetales habían sido conservados en refrigeración por un período prolongado, factor que desencadenó el crecimiento de *L. monocytogenes*. Estos vegetales fueron cultivados en hortalizas, donde habían heces de ganado ovino contaminados con *Listeria monocytogenes*. (9)

A raíz de este brote se hicieron muchos estudios en todo el mundo y al reconocimiento de *L. monocytogenes* como microorganismo de transmisión por alimento. Constituyéndose así la enfermedad conocida como listeriosis que es la que afecta a humanos. (9)

3.1.4.1 Brotes de listeriosis asociados al consumo de lácteos a nivel mundial

Linnan y cols: informaron sobre un brote de listeriosis al sur de California donde 93 mujeres embarazadas y 49 pacientes no embarazadas se infectaron por el consumo de queso tipo mexicano (queso crudo). Cuando se hizo el análisis del brote se constató que la materia prima (leche) no estaba pasteurizada, sumado a que este tipo de queso no necesita cocción. Este queso tipo mexicano en Guatemala sería llamado queso fresco artesanal. (17)

Boggs JD y Col: En noviembre del 2000 y enero del 2001, describieron otro brote en Carolina del Norte, también por el consumo de queso tipo mexicano, elaborado con leche sin pasteurizar, que provenía de una lechería local del sector; esta vez resultaron infectadas 11 mujeres entre las edades de 18-38 años, y un anciano de 70 años; diez de las mujeres estaban

embarazadas y la infección con *L. monocytogenes* dió lugar a 5 fetos muertos, 3 prematuros y 2 recién nacidos infectados. La undécima mujer tenía 5 meses post parto cuando se presentó en un hospital local con meningitis causada por *L. monocytogenes*, sin haber presentado alguna sintomatología debido al consumo de queso. (17)

Billa y cols En el año de 1974 a 1982, reportaron otros brotes; esta vez en el oeste de Suiza relacionados por el consumo de quesos blandos, se reportaron 28 casos de listeriosis humana. Durante el invierno de 1983 – 1984 hubo un aumento de casos por listeriosis pero llamó la atención ya que los infectados eran relativamente jóvenes y sanos. (17)

En los siguientes inviernos también aumentaron los casos por listeriosis sin confirmar, hasta que el año de 1987, se llevó a cabo el tercer estudio de casos y controles, estableciéndose la relación entre el consumo de quesos frescos tipo suizo y su elaboración solo en los meses de invierno, dando como resultado la presencia de *Listeria monocytogenes* en pacientes, en quesos blandos tipo suizo y en instalaciones de plantas procesadoras de quesos. De 1983 a 1987, se registraron un total de 122 casos de los cuales 65 se dieron en recién nacidos y mujeres gestantes, 57 casos en varones y mujeres no gestantes; se aisló la bacteria de líquido cefalorraquídeo de los pacientes los cuales presentaron un cuadro de fiebre, síntomas digestivos, meningitis y meningoencefalitis produciendo alteraciones neurológicas; la tasa de mortalidad fue de un 32%. (17)

Goulet y cols: (1994-1995). Estudiaron un monitoreo de alimentos realizado por el Ministerio de Agricultura de Francia en donde constataron que productos lácteos son más vulnerables a contaminarse con *L. monocytogenes* que productos como: ensaladas preparadas, productos de mar, productos cárnicos, encontrando en los lácteos cantidades de *L. monocytogenes* mayores

a 100 UFC/gr, comparado con el 0.3%, 0.5% y 1.1% de las ensaladas, mariscos y productos cárnicos, respectivamente. (14)

En Chile, Cordano y colaboradores estudiaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos comunes en Santiago, entre 1990 y 1997; para ello tomaron 2,145 muestras de helados, quesos blandos, quesos duros, cecinas y mariscos, de las cuales 77 fueron positivas (3.6%). El porcentaje de muestras positivas para cada tipo de alimento fue: helados, 3.5%; quesos blandos, 0.8%; quesos duros, 0%; cecinas 3.6% y mariscos, 11.6%. En el año 2000 se desarrolló la segunda etapa del estudio, en la cual se estudiaron 709 muestras de ensaladas preparadas en supermercados; los análisis demostraron que 26% de las ensaladas congeladas y 10,5% de las ensaladas frescas contenían *Listeria monocytogenes*, lo que sugiere que esta bacteria se encuentra en cantidad significativa en alimentos que se comercializan como “listos para consumir”. (17)

Así mismo en este país (Chile), En junio de 2008 se observó un aumento de los casos de listeriosis, especialmente en el sector oriente de la capital; en diciembre de ese año se habían notificado 119 casos, cifra cinco veces superior a lo descrito en los anteriores. El producto contaminado se retiró del mercado y a partir de la semana 51 del año 2008 la incidencia de casos nuevos se redujo marcadamente. El 40% de los casos del brote ocurrió en mujeres embarazadas; 23% en adultos mayores con o sin patologías; 14% en recién nacidos; 15% en inmunocomprometidos y 8% en pacientes sin factores de riesgo. Seis pacientes fallecieron. El estudio de las cepas realizado por el Instituto de Salud Pública concluyó que 55% de los casos fueron causados por una cepa relacionada genéticamente conocida como clon 09. (4)

Así mismo en el año 2008 se confirmó un brote de listeriosis, entre enero y julio se diagnosticaron 10 casos de infección por *L. monocytogenes*, siete de

los cuales afectaron a mujeres embarazadas y tres en pacientes inmunodeprimidos, debido al consumo de diferentes lácteos. (4)

3.2 *Listeria monocytogenes*

3.2.1 Morfología

Es un bacilo gram positivo relativamente pequeño (0.4 a 0.5 x 0.5 a 2 μm), no ramificado y anaerobio facultativo, estos bacilos cortos aparecen de forma aislada, en parejas o en cadenas cortas, tienden a confundirse con *Streptococcus pneumoniae* o *Enterococos*, ambas también producen meningitis. (1)

Se demostró que *L. monocytogenes* tiene un máximo de cuatro flagelos peritricos, cuando crece a temperatura del laboratorio de microbiología, pero cuando se cultiva a 37°C., puede encontrarse en formas aflageladas en su mayoría, escaso porcentaje con un solo flagelo y muy pocas con dos o tres. (1)

L. monocytogenes es un patógeno facultativo intracelular que puede crecer en los macrófagos y es la única especie que afecta al ser humano. (1)

3.2.2 Hábitat natural de la *Listeria monocytogenes*

El hábitat de esta bacteria es el intestino de los animales y el hombre. También se encuentra en el suelo, agua y lodo contaminado con heces y deposiciones de animales, (pollos, patos, pavos, cerdos, vacuno, etc.) y del hombre. También se encuentra en abonos usados para fertilizar el suelo y aguas de riego que reciben descargas de excretas de aves y cerdos. Las bacterias se encuentran en suelo, alimentos y forraje para aves, cerdos, caballos, etc., también se encuentran en ensilados contaminados con heces y deposiciones de animales y/o del hombre. (5)

La abundancia de esta bacteria en la naturaleza indica que *Listeria monocytogenes* puede estar presente en una amplia gama de alimentos frescos y procesados como la leche y sus derivados, en este caso queso fresco artesanal. (8)

Cuadro No. 1 Condiciones óptimas para el crecimiento de *Listeria monocytogenes*

Temperatura	Optima 37°C, rango <1.5 a < 45 °C.
pH	Optimo 7,0 rango: 4.6 a 9.0
Actividad de agua (aw)	Límite máximo para crecer 10% a 11,5%
Cloruro de sodio	Límite máximo para crecer 10% a 11,5%
Atmósfera gaseosa	Crecimiento en presencia de 5 a 10% de CO ₂

(11)

3.2.3 Serotipos de *Listeria monocytogenes*

Existen 17 serotipos de *L. monocytogenes* identificados, la mayor parte de casos de infección a humanos se producen por los serotipos 1/2a, 1/2b y el serotipo 4b. (10)

El serotipo 4b. es el responsable de la mayoría de brotes por consumo de alimentos contaminados y este es el que produce mayor mortalidad, por padecer listeriosis. Según estudios realizados se demostró que mujeres embarazadas presentaron el serotipo 4b. (10)

3.2.4 Propiedades bioquímicas

Los microorganismos del género *Listeria* crecen en medios ordinarios de laboratorio, en agar con sangre de oveja, la mayoría de las cepas producen una zona de hemólisis estrecha en medios sólidos, como el agar-triptosa, las colonias suelen tener un diámetro de 1 a 2 mm., y tienen un color azul-verde. (1)

L. monocytogenes tiene una tolerancia al calor mayor que la de las demás bacterias. Cuando su concentración inicial en la leche sobrepasa los 5×10^4 microorganismos / ml, algunos microorganismos han resistido la pasteurización, pero la pasteurización de tiempo corto y temperatura elevada elimina todas las bacterias. (1)

Cuadro No. 2 Clasificación científica

Dominio:	Bacteria
Filo:	Firicutes
Clase:	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Listeriaceae
Genero	<i>Listeria</i>
Especie	<i>L. monocytogenes</i>

(11)

3.2.5 Resistencia

Puede crecer en concentraciones altas en cloruro de sodio, lo que le permite sobrevivir aun en productos con alto contenido de humedad como quesos frescos. Es resistente a los medios alcalinos y tiene la capacidad de replicarse en condiciones microaerófilas y anaerobias; las concentraciones de nitrito de sodio que están permitidas en los conservantes de alimentos no inhiben la replicación del microorganismo. Sin embargo, los productos lácteos

acidificados, como por ejemplo el requesón, están libres de este patógeno, esto quizás se deba a la presencia de vinagre en su elaboración. (17)

En casos de humanos se han usado los betalactámicos, pero se ha demostrado que forma resistencia, por lo que se recomienda el uso de penicilinas. (17)

Listeria monocytogenes, es bastante sensible a diferentes desinfectantes, solo es necesario llegar hasta los niveles de mayor concentración de dicha bacteria. Existen Biofilm que es una formación de películas biológicas, formadas de bacteria inmovilizadas en una determinada superficie, (vidrio, polipropileno, acero). (17)

Existen Bacterias Acido Lácticas (BAL): industrialmente reconocidas por su capacidad de fermentación que permite inhibir la microflora natural de alimentos contaminados, incluyendo *L. monocytogenes*. (17)

3.2.6 Listeriosis en humanos

La listeriosis en humanos forma parte del llamado grupo de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS); ya que un gran porcentaje de reportes de brotes epidémicos o esporádicos, se debe al consumo de quesos frescos artesanales contaminados con *L. monocytogenes* u otro tipo de queso dependiendo del origen de cada país. (15)

3.2.6.1 Período de incubación

El período de incubación en los adultos susceptibles es 3 a 70 días, con un período de incubación promedio estimado en tres semanas.

Los recién nacidos infectados durante el parto desarrollan los síntomas, pocos días o semanas más tarde. (9)

3.2.6.2 Cuadro clínico

Esta enfermedad se caracteriza por afectar en el mayor de los casos a mujeres embarazadas, personas inmunocomprometidas, recién nacidos. (15)

Las embarazadas tienen un riesgo mayor de padecer esta enfermedad que la población en general, se manifiesta normalmente por compromiso de estado general, fiebre, cefalea y mialgias. Puede asociarse a diarrea y vómitos. A diferencia de la manifestación en inmunosuprimidos y recién nacidos, la meningitis rara vez se presenta en embarazadas. (12)

Puede afectar cualquier etapa del embarazo, pero en especial afecta más durante el tercer trimestre, tiende a confundirse con un cuadro de gripe. (12)

Puede presentarse un cuadro de bacteremia sin foco evidente que es la presentación clínica más común. Durante el embarazo se da una transmisión transplacentaria, causando infección intra uterina, que puede provocar una corioamnionitis, parto prematuro, aborto, muerte fetal y embrionaria, e infección precoz del neonato. (12)

La listeriosis neonatal se clasifica a su vez en temprana si la enfermedad se manifiesta dentro de la primera semana de vida y tardía si ocurre después de los siete días. (12)

En personas inmunocomprometidas, ancianos o pacientes con patologías tales como cáncer, diabetes mellitus, insuficiencia renal, hepatomegalia, SIDA y personas sometidas a tratamientos con corticosteroides, su presentación clínica más común es la bacteremia e infección. (12)

3.2.6.3 Prevención de la listeriosis

Sugerencias para evitar contaminación de alimentos con *L. monocytogenes*:

- Comidas listas para comer tienen que estar por lo menos a una temperatura de 4°C.
- Consumir los alimentos perecederos lo antes posible.
- Cocinar carnes (vacunos, aves y peces) en forma adecuada.
- Lavar y desinfectar frutas y legumbres antes de consumirlas.
- Solo consumir leche y subproductos debidamente pasteurizados.
- Limpiar y desinfectar la refrigeradora periódicamente.
- Mantener divididos los diferentes tipos de alimentos dentro de la refrigeradora.
- Mantener superficies de cocina y utensilios limpios y desinfectados.
- Recomendación para la población en riesgo (mujeres embarazadas, ancianos, inmunodeprimidos) para evitar infección con listeriosis.
- No consumir quesos no pasteurizados.
- No consumir embutidos hasta que lleguen a su cocción. (16)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Recursos humanos

- Investigador
- 3 Profesionales asesores de trabajo de graduación
- 2 Técnicos de laboratorio

4.1.2 Materiales de campo

- Bolsas plásticas
- Hielera.
- Hielo
- Masking tape
- Marcadores
- Libreta de apuntes
- Guantes desechables
- Lapiceros

4.1.3 Recursos biológicos

- 42 muestras de queso fresco artesanal (4 onzas)

4.1.4 Materiales y equipo de laboratorio

- Balanza
- Porta objetos
- Beaker

- Tubos de ensayo
- Pipetas de 1 ml.
- Gradillas
- Vortex
- Frascos estériles de 250 ml.
- Refrigerador
- Incubadora (37 °c)
- Asa bacteriológica
- Campana de flujo laminar.
- Incinerador de asas bacteriológicas
- Bolsas especiales

4.1.5 Medios de cultivo y reactivos

- Agar Aloa
- Agar BHI
- Caldo Fraser
- Pruebas bioquímicas
- Colorantes para tinción de gram: (cristal violeta, lugol, alcohol, acetona, safranina)
- Prueba Catalasa (peróxido de hidrógeno).

4.1.6 Centros de referencia

- Biblioteca de la Universidad de San Carlos.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

4.2 Documentos en línea.

4.3 Metodología

4.2.1 Descripción del área

Se realizó el estudio en la Ciudad de Guatemala, en los 21 mercados municipales, seleccionando 2 queserías al azar de las cuales tome muestras de queso fresco artesanal (4 onzas).

4.2.2 Muestreo

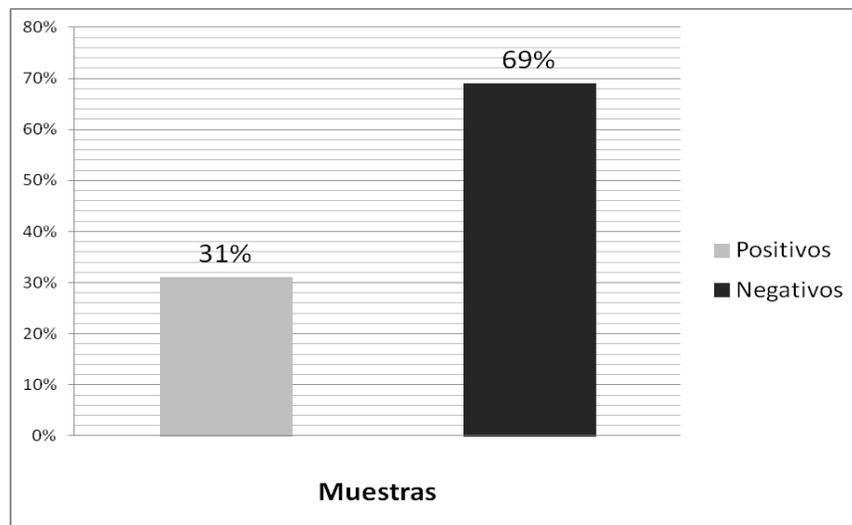
- Se seleccionó al azar 2 queserías de cada mercado municipal de la ciudad de Guatemala.
- En cada quesería seleccionada se tomó la muestra de queso fresco artesanal (4onzas).
- Las muestras se identificaron y transportaron en hieleras para mantenerlas a una temperatura ideal.
- Las muestras se trasladaron al laboratorio de Microbiología en la FMVZ
- Se procedió al análisis.
- Se Tomó 25 gr. de la muestra de queso, luego se le agrego 225 ml., de caldo Fraser y se dejó reposar en un frasco incubándose por 24 horas /35°C.
- Luego se realizó la siembra en agar Aloa en cajas de Petri.
- Se observó si hubo crecimiento de colonias típicas a *L. monocytogenes*.
- Para obtener mejores resultados se realizaron 2 procedimientos:
- En el procedimiento A. (media concentración). Se sembró en agar Aloa por agotamiento a 37°C /24 horas.

- A las 24 horas se observó si hubo crecimiento de colonias características de *L. monocytogenes*, a 37°C/24 horas.
- Se observó y si hubo crecimiento de colonias características se confirmó con pruebas: Tinción de Gram + Catalasa y pruebas de Carbohidrato (Glucosa, Ramnosa y Xilosa).
- Para el Procedimiento 2 (Concentración completa); se tomó 0.1 ml., del contenido del frasco con la muestra de queso y caldo fraser mas 9 ml, de caldo fraser puro.
- Se realizó la siembra en agar Aloa a 37°C. /24 horas.
- A las 24 horas se observó si hay crecimiento de colonias características de *L. monocytogenes*. Si hubiesen colonias sospechosas se confirmó con pruebas: Tinción de Gram + Catalasa y pruebas de Carbohidratos (Glugosa, Ramnosa y Xilosa).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 42 muestras de queso fresco artesanal que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala, se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes* en 13 muestras de queso fresco artesanal, lo cual representa el 31% del total de muestras analizadas. En 29 muestras de queso (69%), se observaron colonias típicas a *Listeria* spp. **(Ver grafica No. 1 y tabla No. 3)**

Figura No. 1 Muestras positivas y negativas a *Listeria monocytogenes*, de quesos frescos artesanales de mercados municipales de la ciudad de Guatemala.



Fuente: Elaboración propia

Cuadro No. 3 Total de muestras positivas *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.*

Especie/bacteria	Muestras positivas	%
<i>Listeria monocytogenes</i>	13	31 %
<i>Listeria spp.</i>	29	69 %
Total	42	100%

Fuente: Elaboración propia

Debido al medio utilizado ALOA (Agar *Listeria* Ottaviani y Agosti), fue posible observar macroscópicamente características propias de las colonias de *Listeria monocytogenes* tales como el color verde (turquesa), con forma redonda, y el halo opaco o color gris verdoso con una zona negra característica que envuelve a esta bacteria; en otras 29 muestras de queso, también se pudo apreciar la presencia de colonias de color verde, de forma redonda correspondientes a otras especies de *Listeria spp.* **(Ver tabla No. 2)**

Cuadro No.4 Características macroscópicas de las colonias de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.*

COLONIA	No. DE MUESTRAS	CARACTERISITICAS
<i>Listeria monocytogenes</i>	13	Colonias de color azul verdoso de forma redonda rodeada de un halo gris opaco.
<i>Listeria spp.</i>	23	Colonias de color verde azul de forma redonda sin halo.

Fuente: Elaboración propia

Otras pruebas confirmaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en las 13 muestras positivas de queso; a la prueba de catalasa dio positiva, con la tinción de gram también se confirmó positiva, y en cuanto a las pruebas de carbohidratos Glucosa (+) Rhamnosa (+), Xylosa (+) se confirmó la presencia de *Listeria monocytogenes*. (Ver tabla No. 4)

Cuadro No. 5. Pruebas confirmativas a *Listeria monocytogenes*

No. Muestra (+)/ mercado	Catalasa	Gram (+)	Carbohidratos		
			Glucosa	Xilosa	Ramnosa
Mercado 4 Muestra: I	+	+	+	+	+
Mercado 4 Muestra: II	+	+	+	+	+
Mercado 5 muestra I	+	+	+	+	+
Mercado 5 muestra II	+	+	+	+	+
Mercado 6 muestra: I	+	+	+	+	+
Mercado 7 Muestra: I	+	+	+	+	+
Mercado 8 muestra: I	+	+	+	+	+
Mercado 9 muestra: I	+	+	+	+	+
Mercado 9 muestra: II	+	+	+	+	+
Mercado 11 muestra I	+	+	+	+	+
Mercado 11 muestra: II	+	+	+	+	+
Mercado 19 muestra: II	+	+	+	+	+
Mercado 20 muestra: II	+	+	+	+	+

Fuente: Elaboración propia

Cabe mencionar que en los mercados 4, 5, 9 y 11 se confirmó la presencia de *Listeria monocytogenes* en ambas muestras de queso a diferencia de los mercados: 6, 7, 8, 19 y 20 en los cuales solo una muestras de las 2 dió positivo a *Listeria monocytogenes*. (Ver tabla No. 1)

Cuadro No. 6 Muestras de quesos frescos artesanales, positivas y negativas a *Listeria monocytogenes* de 2 queserías de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

<i>Mercados</i>	<i>Muestra I</i>	<i>Muestra II</i>
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	+	+
5	+	+
6	+	-
7	+	-
8	+	-
9	+	+
10	-	-
11	+	+
12	-	-
13	-	-
14	-	-
15	-	-
16	-	-
17	-	-
18	-	-

19	-	+
20	-	+
21	-	-
22	-	-

En cuanto al proceso de manufactura, también pueden llegar a contaminarse con *Listeria monocytogenes* ya que son quesos elaborados artesanalmente donde tampoco se cumplen con prácticas de higiene mínimas, aunado a que son quesos que mantienen mucha humedad lo cual favorece a la contaminación por esta bacteria. La realización de la pasteurización de la leche que va a ser destinada para la elaboración de quesos frescos artesanales no se implementa en la mayoría de lecherías favoreciendo así a la proliferación de bacterias que en este estudio es *Listeria monocytogenes*. Finalmente el queso fresco artesanal llega al punto de expendio, a un estimado de 9:00 am a 10:00 am y es colocado en mesas provisionales, vitrinas, azafates para su debida venta y en su mayoría estos puestos de expendio no cuentan con refrigeración.

Por otro lado se pudo observar que no existe un control de calidad e higiene por parte de los vendedores, ya que los utensilios (cuchillos, tablas de picar), que se usan para cortar el queso en cuarterones, también son utilizados para cortes de carnes y embutidos (longanizas y chorizos) dando como resultado así, una contaminación cruzada, exponiendo así a la población consumidora.

Los resultados obtenidos evidencian que los quesos frescos artesanales comercializados en los mercados municipales, presentan condiciones higiénicas deficientes y no cumple con lo establecido en las normas y regulaciones del Codex Alimentarius, el cual tiene un rango de cero UFC de *Listeria monocytogenes* por gramo.

Se utilizó el método ISO 11290-1 / AFNOR modificado, siendo este método el de elección para determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales y se demostró que esta bacteria está presente, ya que de un total de 42 muestras, se confirmaron 13 muestras positivas a *Listeria monocytogenes*.

Con estos resultados se puede confirmar la presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala, demostrando el riesgo que se corre por el consumo de dichos quesos, la población vulnerable como lo son: mujeres embarazadas, niños recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas.

VI. CONCLUSIONES

Con el método ISO 11290-1/AFNOR modificado, se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes* en 13 muestras de queso fresco artesanal, que se expenden en mercados municipales de la ciudad de Guatemala, representando el 31 % de 42 muestras analizadas.

VII. RECOMENDACIONES

- Las entidades de Salud Pública deben de informar sobre los riesgos que se corre de padecer listeriosis humana, en personas que se encuentran dentro de los grupos de mayor riesgo como lo son mujeres embarazadas, ancianos, recién nacidos y personas inmunosuprimidas.
- Es necesario informar a productores de lácteos la implementación de la pasteurización de leche que va a ser utilizada para la elaboración de quesos frescos artesanales, debido a que es un alimento listo para el consumo por lo que aumenta el riesgo de contaminación.
- Se recomienda a las entidades de Salud Pública promover capacitaciones a productores de lácteos, sobre manejo y manufactura de productos para así ofrecer a los consumidores alimentos inocuos y de buena calidad y con ello disminuir el riesgo de padecer listeriosis humana.

VIII. RESUMEN

Se recolectaron 42 muestras de queso fresco artesanal, de mercados municipales de la ciudad de Guatemala, seleccionando 2 queserías al azar de cada mercado, las muestras fueron debidamente identificadas, transportadas en hieleras al laboratorio de microbiología de la facultad de Medicina Veterinaria, una vez las muestras estuvieron en el laboratorio de microbiología se procedió al análisis de las muestras de acuerdo al método ISO 11290-1 / ANFOR modificado, a cada muestra sospechosa de *Listeria monocytogenes*, se le corrieron pruebas bioquímicas y tinción de gram para confirmar la presencia de dicha bacteria.

Y como resultado se confirmó la presencia de *Listeria monocytogenes* en 13 muestras colectadas de un total de 42 muestras, representando así el 31% de muestras positivas, del total de muestras de queso fresco artesanal de 21 Mercados Municipales de la ciudad de Guatemala.

Al determinar la presencia de esta bacteria en quesos frescos artesanales de consumo humano se demuestra el riesgo de contraer listeriosis humana por el consumo de dichos quesos y el daño irreversible que causa esta enfermedad a personas que están dentro del grupo vulnerable como lo son mujeres embarazadas en las cuales se provoca abortos, y en recién nacidos meningitis, y en ancianos y personas inmunocomprometidas afectando su sistema inmune, provocando hasta la muerte. Al respecto se determinó que de un total de 42 puestos de expendio de quesos frescos artesanales, que se muestrearon un pequeño porcentaje contaban con refrigeración, siendo esto un factor determinante de contaminación de *Listeria monocytogenes* a quesos frescos artesanales, otro factor importante es todo el proceso de manufactura y elaboración de quesos frescos, desde el ordeño de vacas con escasas medidas

de higiene y control, la falta de proceso de pasteurización de la leche, y el lugar de procesamiento donde raramente se cumplen con medidas mínimas de higiene, por otro lado el transporte de estos quesos tampoco cumple con las medidas de control mínimas ya que la mayoría de este producto es transportado en buses, motocicletas, carretas incluso por las mismas personas, exponiendo así a temperaturas elevadas el producto.

SUMMARY

42 samples of fresh artisan cheeses, municipal markets in the city of Guatemala, selecting 2 dairies at random from each market were collected, samples were properly identified, transported in coolers to the microbiology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, once the samples were in the microbiology laboratory proceeded to sample analysis method according to ISO 11290-1 / Anfor modified each sample suspected of *Listeria monocytogenes*, he ran biochemical tests and Gram stain to confirm the presence of such bacteria .

And as a result the presence of *Listeria monocytogenes* in 13 samples collected from a total of 42 samples, thus representing 31% of positive samples 100% of the total sample of 21 artisanal cheese Municipal Markets of Guatemala City was confirmed.

In determining the presence of this bacterium in fresh artisan cheeses human consumption demonstrates the risk of human listeriosis from consumption of these cheeses and irreversible damage that causes this disease to people who are vulnerable within the group such as pregnant women which is caused abortions and meningitis in newborns, and the elderly and immunocompromised persons affecting your immune system, leading to death.

In this regard it was determined that a total of 42 stalls sale of fresh artisan cheeses, which sampled a small percentage had cooled, this being a determinant of *Listeria monocytogenes* contamination in fresh artisan cheeses, another important factor is the whole process manufacturing and processing of fresh cheese from milking cows with poor hygiene and control, lack of pasteurization of milk, and the processing plant where they rarely meet minimum hygiene measures, on the other hand transport of these cheeses not meet the minimum control measures as most of the product is transported in buses,

motorcycles, carts even by the same people, thus exposing the product to high temperatures.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biberstein, EL; Chung Zee, Y. 1994. Tratado de microbiología veterinaria. Trad. MR Vergés. España, Acribia. 673 p.
2. Chamarro, MC; Losada, MM. 2002. Tecnología de alimentos: el análisis sensorial de los quesos. (en línea) España. Consultado 04 feb. 2011. Disponible en <http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=UNraJqwOlqUC&oi=fnd&pg=PA13&dq=queso+fresco+libros&ots=nTL8y43Zmm&sig=5sIV8rC8haxyPnfn3uEi5bBGpw#v=onepage&q&f=false>
3. Díaz, R. 2009. *Listeria monocytogenes* a propósito de un brote. (en línea). Re- vista chilena de obstetricia y ginecología Vol. 74 no. 1. Consultado el 08 feb. 20 11. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S07172620090100001&script=sci_arttext&tlng=en
4. Epidemia de listeriosis y focos de industrias insalubres. s .f. Consultado 06 feb. 2011. Disponible en <http://www.vmasv.cl/historico/blog/colaboradores/5715-epidemia-de-listeriosis-y-focos-de-industrias-insalubres.html>
5. Espinoza, A et al. 2004. Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de producción artesanal que se expenden en los mercados del distrito ICA, enero–marzo 2003 (en línea). Consultado 04 feb. 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/363/36300203.pdf>
6. FDA U.S FOOD AND DRUG Administration,protecting and promoting your health. Consultada el 5 nov. 2013. Disponible en: <http://www.fda.gov/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods>

7. LIMITES MICROBIOLÓGICOS DE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS – Consultado 4 abr. 2014. Disponible en http://bscw.rediris.es/pub/bscw.cgi/d311306-3/*/*/*normictb.htm
8. *Listeria monocytogenes*. s. f. (a). Consultado 04 feb. 2011. Disponible en <http://apa.cl/archivos/LISTERIAparaweb.1.pdf>
9. _____(b). 2004. Consultado 05 feb. 2011. Disponible en http://www.bpm-haccp.com.ar/index_archivos/pdf/Listeria-monocytogenes.pdf
10. _____(c). 2008. Consultado 05 feb. 2011. Disponible en <http://www.scie-lo.cl/pdf/rci/v25n5/art04.pdf>
11. _____ s. f. (d). Consultado 05 feb. 2011. Disponible en <http://www.cfsph.ia-state.edu/factsheets/pdf/listeria>
12. Listeriosis. s.f. Consultado 04 feb. 2011. Disponible en <http://www.revista-api.com>
13. Microbiología de alimentos. s. f. Consultado 06 feb. 2011. Disponible en www.fq.uach.mx/index.php/.../56-microbiologia-de-diagnostica.html?
14. Olivares, R. 2009. *Listeria monocytogenes*: Bacteria Antigua, Desafío Permanente (en línea). Consultado 05 feb. 2011. Disponible en <http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/Cursos/3994>
15. Poutou, R et al. 2005. Estandarización de la extracción de ADN y validación de la PCR múltiple para detectar *Listeria monocytogenes* en queso, leche, Carne de res y pollo. (en línea). Consultado 05 feb. 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/499/49910207.pdf>

16. Roberts, HR. 1986. Sanidad alimentaria. Trad. JM Zumalcarregui; VD Fernández. España. Acribia. 261 p.

17. Rossi, ML et al. 2008. Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: Una Revisión de las vías que llevan a su aparición. (en línea). Consultado feb. 20 11. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182008000500002

X. ANEXOS

Cuadro No. 7 Mercados municipales de la ciudad de Guatemala

Mercado	Puestos autorizados	Ubicación
CENTRAL	852	9ª. Av. entre 7ª. y 8ª. calle, zona 1
LA TERMINAL	4464	0 Av. entre 7ª. y 8ª. calle, zona 4
SUR 2	1,176	6ª. Av. entre 19 y 21 calle, zona 1
LA PRESIDENTA	507	2ª. Av. entre 21 y 22 calle, zona 1
COLÓN	467	13 Av. entre 7ª. y 6ª. calle, zona 1
PARROQUIA	623	Calle Martí y 11 Ave. zona 6
CERVANTES	143	Ave. Elena y 18 calle, zona 3
LA PALMITA	504	16 Av. entre 26 y 27 calle, zona 5
EL GUARDA	2,989	3ª. Av. entre 2ª. y 3ª. calle, zona 11
VILLA DE GUADALUPE	111	14 Av. entre 18 y 19 calle, zona 10
EL GRANERO	1,152	28 calle final Vía 1, zona 4
SAN MARTÍN DE PORRES	967	18 Av. entre 1ª. y 1ª. calle "A", zona 6
LA FLORIDA	1,087	12 Av. y 5ª. calle, zona 19

EL GALLITO	328	13 calle entre 2ª. y 3ª. Avenidas, zona 3
SAN JOSÉ MERCANTIL	627	5ª. calle y 12 Av. Quinta Samayoa, zona 7
LA CANDELARIA	73	5ª. Av. y 25 calle, Proyecto 4-3, zona 6
LA REFORMITA	231	11 Av. entre 22 y 23 calles, zona 12
LA ASUNCIÓN	130	35 Av. y 18 calle, zona 5
DE FLORES	108	Avenida El Cementerio y 18 calle, zona 3
ROOSEVELT	264	12 Av. y 11 calle, zona 11
SANTA FE	112	11 Av. y 2ª. calle Santa Fe, zona 13
BETHANIA	267	11 Av. y 27 calle, zona 7
JUSTO RUFINO BARRIOS	87	Col. Justo Rufino Barrios, zona 21

Fuente: <http://mu.munigate.com/index.php/component/content/article/3-mercados/177-mercadosmunicipales>