

**PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN MUESTRAS DE QUESOS, CARNES Y
PRODUCTOS INCLUIDOS EN LA MINUTA QUE SE EXPENDE EN EL
RESTAURANTE ESTUDIANTIL DE LA UNIVERSIDAD DEL TOLIMA**

GINNA ZUREILA ROJAS BERNAL

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Bióloga**

Directora

**MARTHA LILY OCAMPO GUERRERO
Bacterióloga, sp Microbióloga, cMSc**

Co-Directora

**NATALY RUIZ QUIÑONES
Biólogo, M.Sc.**

**UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
IBAGUE-TOLIMA**

2015



FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: "Presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de quesos, carnes y productos incluidos en la minuta que se expende en el restaurante estudiantil de la Universidad del Tolima"

AUTORES: Ginna Zureila Rojas Bernal

DIRECTOR: Martha Lily Ocampo Guerrero & Nataly Quiñonez

JURADOS: Laily Saltaren García
Luz Clemencia Fandiño de Rubio

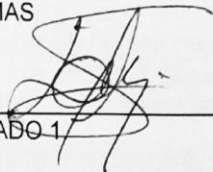
CALIFICACIÓN: 3.9 (tres Nueve)

APROBADO

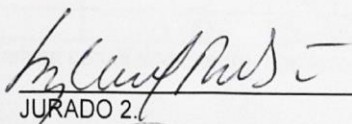
REPROBADO

OBSERVACIONES:

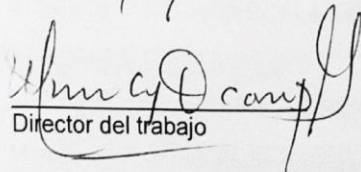
FIRMAS



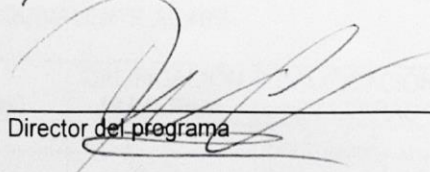
JURADO 1



JURADO 2



Director del trabajo



Director del programa

Ciudad y fecha:
Ibagué, 12 de febrero de 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios por estar en todo momento a mi lado dándome la fuerza necesaria para salir adelante en la adversidad y en los momentos de dificultad abriendo nuevas y mejores oportunidades.

A la Dra. Martha Lily Ocampo Guerrero y Nataly Ruiz Quiñones por abrir las puertas del laboratorio.

Al profesor Neftalí Mesa López por su valioso apoyo durante este proceso.

A la Universidad del Tolima institución educativa que me brindo lo necesario para mi formación a través de la Oficina de Investigaciones, que financió el proyecto.

A los propietarios de los restaurantes y/o coordinadores de los mismos, por permitirnos la aplicación de las encuestas BPM y la recolección de las muestras.

DEDICATORIA

A mis padres Patricia Bernal y Oscar Rojas, por las enseñanzas del día a día, y por permitirme ser la mujer luchadora que hoy han formado, brindándome lo preciso para continuar en el camino.

A Erika Rojas Bernal, mi sisi mayor, por confiar, creer y apoyar cada decisión con la cual me hiciste crecer como profesional y ser humano.

A Luis Montoya, por su cariño, paciencia, enseñanzas y apoyo incondicional cada día y además por brindarme una mano en la cual sostenerme, en cada una de las dificultades, alegrías y procesos de la vida, recordándome que hay que luchar por los sueños, ya que son la fuerza que mueve la vida.

Ana Jaramillo, Lina Dávila, por siempre estar a mi lado y enseñarme que aquel que posee más objetos no es más feliz, por compartir sus risas y conocimientos.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	14
1 OBJETIVOS	17
1.1 GENERAL	17
1.2 ESPECÍFICOS	17
2 MARCO TEÓRICO.....	18
2.1 GENERALIDADES DE <i>LISTERIA SPP</i> :.....	18
2.1.1 Identificación De Especies.....	20
2.1.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	21
2.2 ECOLOGÍA DEL MICROORGANISMO	22
2.2.1 <i>Listeria spp.</i> En Los Alimentos Listos Para El Consumo	23
2.2.2 Invasión de <i>Listeria spp.</i> en Restaurantes y Fábricas.	24
2.2.3 <i>Listeria spp.</i> en Derivados Lácteos y Quesillos.	24
2.3 LISTERIOSIS	26
2.4 FORMACIÓN DE BIOFILM.....	29
2.5 ANÁLISIS DE BPM PARA RESTAURANTES.....	30
2.5.1 Bpm En Funcionarios	31
2.5.2 Manejo De Residuos	32
2.6 BPM EN ALIMENTOS	32
2.7 BROTES DE LISTERIOSIS EN EL MUNDO	33
2.8 BROTES ASOCIADOS A DERIVADOS LÁCTEOS	34
2.9 NORMATIVIDAD COLOMBIANA DE CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS.	36
2.9.1 Normatividad De Control De Calidad Para El Queso Doble Crema, Colombiano.	36
2.9.1.1 Proceso De Elaboración Del Queso Doble Crema Colombiano.....	36
2.9.2 Normatividad De Control De Calidad Para Las Carnes Procesadas.....	37

2.9.2.1 Chorizo.....	38
2.9.2.2 Jamón.....	38
2.9.2.3 Salchicha.....	38
2.10 PROTOCOLO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE <i>LISTERIA SPP</i>	39
2.10.1 Pre-Enriquecimiento.....	39
2.10.2 Enriquecimiento.....	39
2.10.3 Aislamiento de <i>Listeria spp</i>	39
2.10.3.1 Palcam.....	39
2.10.3.2 Brilliance.....	40
2.10.4 Confirmación de <i>Listeria spp</i>	40
2.10.4.1 Prueba de Catalasa.....	40
2.10.4.2 Tinción de Gram.....	41
2.10.4.3 Iluminación De Henry.....	41
2.10.5 Conservación De Cepas.....	42
2.10.5.1 BHI.....	42
2.10.5.2SKIM MILK.....	42
2.10.5.3T-SAYE.....	42
3 METODOLOGÍA.....	44
3.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	44
3.2 MUESTREO.....	44
3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	44
3.4 CONSERVACIÓN DE CEPAS.....	46
3.5 ESTADO DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM) CON LA PRESENCIA O AUSENCIA DE <i>L. MONOCYTOGENES</i>	47
3.6 SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS A LA COMUNIDAD DE LA UNIVERSIDAD DEL TOLIMA Y COMUNIDAD CIENTÍFICA.....	48
4 RESULTADOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.1 TOMA DE MUESTRAS.....	50

4.2	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	51
4.2.1	Temperatura	51
4.3	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	51
4.3.1	Pre- Enriquecimiento	51
4.3.2	Enriquecimiento.....	52
4.3.3	Aislamiento	53
4.3.4	Confirmación Y Conservación	56
	Tinción de Gram.....	56
4.3.4.1	Prueba de Catalasa.....	57
4.4	RESULTADOS BPM.....	57
5	DISCUSIÓN.....	60
6	CONCLUSIONES.....	62
	RECOMENDACIONES.....	63
	REFERENCIAS	64
	ANEXOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación científica del genero <i>Listeria spp.</i>	19
Tabla 2. Brotes de listeriosis reportados en Europa y Norte América.....	34
Tabla 3. Tipo y Cantidad de muestras analizadas	50
Tabla 4. Muestra positiva en fraser semi para <i>Listeria spp.</i>	52
Tabla 5. Muestra positiva en fraser completo para <i>Listeria spp.</i>	53
Tabla 6. Muestra presuntivamente positiva para <i>Listeria spp.</i> en fase de aislamiento. 55	55
Tabla 7. Confirmación de 6 muestras, presuntivamente positivas para <i>Listeria spp.</i> ...	56
Tabla 8. Relación del porcentaje de cumplimiento de las BPM y restaurantes encuestados.....	58

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diferentes afecciones fisiológicas en humanos tras la ingesta de alimentos contaminados con <i>L. monocytogenes</i>	277
Figura 2. Ciclo Infeccioso Intracelular de <i>L. monocytogenes</i>	288
Figura 3. Prueba de Catalasa positiva y negativa para bacterias aerobias.	41
Figura 4. Protocolo de Aislamiento e Identificación de <i>Listeria spp.</i>	466
Figura 5. Protocolo Conservación de Cepas	477
Figura 6. Poster de resultados presentado ante la comunidad Científica y Administrativos del Restaurante Estudiantil de la Universidad del Tolima.	499
Figura 7. Exposición de poster ante la comunidad científica.	499
Figura 8. Caldo Fraser semi+ suplemento: a la izquierda sin oscurecimiento del medio (negativo para <i>Listeria spp.</i>); a la derecha ennegrecimiento positivo para <i>Listeria spp.</i>	51
Figura 9. Caldo Fraser Completo+suplemento: a la izquierda sin oscurecimiento del medio (negativo para <i>Listeria spp.</i>); a la derecha ennegrecimiento positivo para <i>Listeria spp.</i>	53
Figura 10. Crecimiento de colonias en agar Brillance: a la izquierda colonias atípicas de color amarillo y blanco; al centro colonias verde azul, típicas de <i>Listeria spp.</i> ; a la derecha colonias verde azul y blancas.	54

Figura 11. Crecimiento en agar Palcam: a la izquierda se observa oscurecimiento del medio pero no hay formación de UFC, a la derecha se observa oscurecimiento del medio y formación de UFC de color grisacea con centros negros y rodeado de un halo oscuro (positivo para *Listeria spp*). 54

Figura 12. Tinción de Gram, realizada para confirmar, colonias presuntivamente positivas para *Listeria spp*. 57

Figura 13. Prueba de la catalasa, realizada a colonias presuntivamente positivas para *Listeria spp.*, resultado negativo. 57

Figura 14. Tipo de esponja stick usada en la investigación..... 86

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Presencia De <i>Listeria monocytogenes</i> En Quesos Y Carnes De Productos Comercializados En La Universidad Del Tolima.	75
Anexo B. Medios De Cultivo: Composicion Y Preparacion De Medios De Cultivo Y Reactivos (Normativo).....	81
Anexo C. Esponjas Stick	87
Anexo D. Parámetros Fisicoquímicos Para El Queso (NTC 1325).....	88
Anexo E. Requisitos De Composición Y Formulación Para Productos Cárnicos Procesados Crudos Frescos (NTC 1325/2008).	90
Anexo F. Resultado De Los Parametros Fisico- Quimicos.....	92
Anexo G. Resultados Del Indice General De Bpm, Tomados De Los Tres Restaurantes Ubicados Al Interior De La Universidad Del Tolima	93
Anexo H. Resultado Obtenido En El Laboratorio De Cada Una De Las Pruebas Realizadas A Las Muestras Recolectadas.	95