

**IDENTIFICACIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN ALIMENTOS SUMINISTRADOS
A NIÑOS EN EL SUR DEL DEPARTAMENTO DEL TOLIMA**

LIZETH KATHERINE BASTO PARRA

**Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de
Biólogo**

Director

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

**UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
IBAGUÉ-TOLIMA**

2017



FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

TÍTULO Identificación de *Listeria monocytogenes*
en alimentos suministrados a niños en el
sur del departamento del Tolima.

AUTORES Lizeth Katherine Basto Poma

DIRECTOR Marta Lily Ocampo

JURADOS Carmen Amelia Henao - Marco Fidel A'vila

CALIFICACIÓN 4.7 (cuatro. siete).

APROBADO

REPROBADO

OBSERVACIONES _____

FIRMAS

Carmen Amelia Henao
JURADO 1.

[Signature]
JURADO 2.

[Signature]
Director del Trabajo

[Signature]
Director del Programa

Ciudad y fecha: Ibagué, 21 marzo 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque todo lo debo a Él.

A mi familia, especialmente a mi hermana y a mi mamá por su apoyo incondicional.

A mis amigos por cada vez que me animaron.

A mi directora Martha Lily Ocampo Guerrero por permitirme hacer parte del proyecto y del laboratorio de microbiología.

Al Grupo de investigación en Genética y Biotecnología Vegetal y Microbiana de la Universidad del Tolima (GEBIUT).

A la Universidad del Tolima y a la oficina de investigaciones.

Al Instituto Colombiano de Bienestar Familiar regional Tolima.

A la Secretaría de Educación Departamental.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	10
1. MARCO TEÓRICO	13
1.1 ATENCIÓN NUTRICIONAL A LA POBLACIÓN INFANTIL	13
1.1.1 Programa de Alimentación Escolar (PAE)	13
1.1.2 Centros de Desarrollo Infantil (CDI)	14
1.2 INOCUIDAD Y CALIDAD DE ALIMENTOS	15
1.2.1 Decreto 3075 de 1997	16
1.3 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	16
1.4 INCIDENCIA Y VIGILANCIA DE ETA	18
1.5 GENERALIDADES DE <i>Listeria</i> spp.	19
1.5.1 Especies de <i>Listeria</i>	20
1.6 CARACTERÍSTICAS DE <i>Listeria monocytogenes</i>	21
1.6.1 Ecología de <i>L. monocytogenes</i>	22
1.6.2 Serotipos	23
1.6.3 Factores de virulencia	23
1.6.4 Ciclo infeccioso	24
1.7 LISTERIOSIS HUMANA	25
1.7.1 Tipos de listeriosis	26
1.7.2 Transmisión	27
1.7.3 Tratamiento	27
1.7.4 Incidencia de listeriosis	27
1.7.5 Listeriosis en Colombia	28
1.8 <i>Listeria monocytogenes</i> EN LOS ALIMENTOS	29
1.9 PREVALENCIA DE <i>Listeria monocytogenes</i> EN COLOMBIA	31
2. OBJETIVOS	34
2.1 OBJETIVO GENERAL	34

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3. METODOLOGÍA	35
3.1 ÁREA DE ESTUDIO	35
3.2 TAMAÑO DE MUESTRA	37
3.3 DISEÑO DE ENCUESTA Y APLICACIÓN	37
3.4 PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	38
3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	38
3.6 ANÁLISIS DE DATOS	41
4. RESULTADOS	43
4.1 MUESTRAS ANALIZADAS	43
4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	44
4.3 PREVALENCIA DE <i>L. monocytogenes</i> Y <i>Listeria</i> spp.	47
4.4 DIAGNÓSTICO DEL CUMPLIMIENTO DE BPM EN RESTAURANTES ESCOLARES Y CDI	48
4.5 PROCEDENCIA DE LA MATERIA PRIMA	53
5. DISCUSIÓN	54
6. CONCLUSIONES	62
RECOMENDACIONES	63
REFERENCIAS	64
ANEXOS	78

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Distribución de alimentos en las diferentes jornadas de atención en los CDI	15
Tabla 2. Clasificación taxonómica del género <i>Listeria</i>	20
Tabla 3. Algunas características fenotípicas para la diferenciación de especies.	21
Tabla 4. Límites de crecimiento y supervivencia de <i>L. monocytogenes</i>	22
Tabla 5. Brotes asociados a <i>L. monocytogenes</i> desde 2010	28
Tabla 6. Aislamientos de <i>L. monocytogenes</i> asociados a brotes en Colombia, en el periodo 2008 a 2012.	33
Tabla 7. Número de establecimientos muestreados por municipio y tipo de institución	36
Tabla 8. Cantidad y tipo de muestras analizadas.	43
Tabla 9. Cantidad de muestras por municipio y tipo de establecimiento.	44
Tabla 10. Número y porcentaje de aislamientos positivos para las especies de <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> y <i>Listeria</i> spp., según el tipo de muestra	48

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Tipos de complemento alimentario	14
Figura 2. Proceso de infección intracelular por <i>Listeria monocytogenes</i>	25
Figura 3. Ubicación de la zona sur del Tolima.	36
Figura 4. Interpretación de resultados en prueba de CAMP	40
Figura 5. Protocolo aislamiento e identificación de <i>L. monocytogenes</i>	41
Figura 6. Resultados positivos en las pruebas de confirmación del género <i>Listeria</i>	46
Figura 7. Resultados en pruebas de confirmación de especie	47
Figura 8. Áreas de preparación de restaurantes escolares y CDI de la zona sur del Tolima.	49
Figura 9. Porcentaje general de agua potable en los lugares de muestreo.	50
Figura 10. Porcentaje de agua potable en CDI e IE.	50
Figura 11. Porcentaje de desinfección de equipos, utensilios y superficies.	51
Figura 12. Porcentaje de establecimientos que utilizan refrigeración y congelación para conservar los alimentos.	51
Figura 13. Uso de uniforme en los restaurantes escolares y CDI de la zona sur del Tolima	52
Figura 14. Porcentaje general de procedencia de carne	53

RESUMEN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), son un problema común con alto impacto sobre la salud mundial. *Listeria monocytogenes*, es uno de los agentes etiológicos involucrados, ampliamente distribuido en el ambiente e importante en la industria alimentaria, ya que puede resistir a diversas condiciones y procesos de desinfección. Ha sido aislado en carnes, lácteos, ensaladas, entre otros. Estos alimentos son proporcionados diariamente a niños en comedores de Instituciones Educativas (IE) y Centros de Desarrollo Infantil (CDI). En este estudio, se determinó la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos ofrecidos en los establecimientos antes mencionados, del sur del departamento del Tolima; la prevalencia del patógeno y el género *Listeria* se relacionó con el cumplimiento de las normas establecidas para estos lugares, además se determinaron los principales factores de riesgo asociados.

Se aplicaron encuestas descriptivas para diagnosticar el cumplimiento de la normatividad. Mediante el método ISO 11290-1: 2004, se analizaron 166 muestras entre alimentos, superficies y utensilios. La prevalencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp. en alimentos fue del 0,8 % y 6,55 %, respectivamente, siendo muy baja para la especie, posiblemente debido al enmascaramiento por otros microorganismos, sin embargo la presencia de *Listeria* spp. puede sugerir inadecuadas BPM. Se evidenció una alta deficiencia en el abastecimiento de agua potable, aspecto que junto con la procedencia de materias primas y la contaminación cruzada pueden ser los factores de riesgo más importantes. En general, fueron mayores las falencias en la aplicación de BPM en comedores de IE que en comedores de los CDI.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp., CDI, alimento, comedores escolares, BPM

ABSTRACT

Foodborne Diseases are a common problem with a high impact on global health. As *Listeria monocytogenes* can resist to diverse conditions and disinfection process, it is one of the etiological agents involved and widely distributed in the environment which is relevant into the food industry. So that this food is provided to children in educational institutions and child development centers, It has been isolated in meats, lacteal, salads, between others.

In this study, it was determined the presence of *L. monocytogenes* in nourishment offered in the schools from the south of the department of Tolima. The prevalence of the pathogen and the genus *Listeria* was related to compliance the established standards for these places, thus main associated risk factors were considered.

Therefore descriptive surveys were applied to diagnose compliance with regulations. Using the method ISO 11290-1: 2004, 166 samples were analyzed between food, surfaces and utensils. The prevalence of *L. monocytogenes* and *Listeria* spp. in food was 0.8% and 6.55%, respectively, very low, probably due to masking by other microorganisms. However the presence of *Listeria* spp. may suggest inadequate GPM. In addition to there was a high deficiency in the supply of drinking water, an aspect linked to the source of raw materials and cross contamination that may be the most important risk factors. In general, there were greater deficiencies in the control of GPM in school cafeteria than in child development centers dining rooms.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp., CDI, food, school canteen, GPM.

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) comprenden una amplia gama de afecciones las cuales constituyen un problema de salud pública que se ha generalizado e incrementado en el mundo, afectando tanto países desarrollados como en vías de desarrollo, en los cuales su ocurrencia es mayor (Instituto Nacional de Salud, 2014). Niños, ancianos, mujeres embarazadas, personas inmunodeprimidas y población de bajos recursos son los más vulnerables a padecer estas enfermedades. Su incidencia, se halla asociada principalmente a factores como el uso de agua contaminada para la preparación de alimentos, falta de higiene, producción y almacenamiento inadecuados, a causa de la falta de educación e ineficiencia en la aplicación y formulación de normas para la inocuidad de los mismos (World Health Organization, 2015). De lo anterior se establece que cada vez es más importante conocer todas las etapas que recorre el alimento desde su origen hasta el consumo, (Food and Agriculture Organization, 2009), esto con el propósito de identificar y controlar posibles focos de contaminación de los alimentos.

Según el INS, (2012 y 2016a), en Colombia, los principales factores de riesgo para que se presenten casos de ETA, se asocian a inadecuado almacenamiento y conservación, fallas en la cadena de frío y contaminación cruzada.

Algunos de los patógenos asociados a ETA, en el mundo son: *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, E.Coli (STEC) O157 y *Listeria monocytogenes* (INS, 2016a; Scallan et al., 2011).

En cuanto a *L. monocytogenes*, esta es una bacteria que presenta un riesgo para la salud humana principalmente de la población más vulnerable como niños, ancianos y mujeres embarazadas, produciendo la enfermedad denominada listeriosis.

La listeriosis puede ser de dos tipos: invasiva o no invasiva (gastroenteritis), aunque es poco común; en su forma invasiva presenta altas tasas de mortalidad (20-30%) frente a enfermedades causadas por otros patógenos (Organización de Estados Iberoamericanos, 2004); puede provocar desde fiebre, dolor de cabeza, diarrea, vómitos, hasta meningitis, septicemia y aborto espontáneo (Soto, Pérez y Estrada, 2016). Puede ser transmitida de madre a hijo, durante el embarazo, pero en el 99% de los casos esta se debe al consumo de alimentos contaminados (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013).

Esta bacteria presenta características particulares que generan riesgos de importancia en el sector de alimentos, tales como la capacidad para multiplicarse a temperaturas de refrigeración, resistencia a procesos de limpieza y desinfección, debido a que puede formar biopelículas sobre las superficies de trabajo y equipos (Schöbitz, Ciampi, y Nahuelquin, 2009), generando alta probabilidad de contaminación de los alimentos si no existen unas Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Ha sido aislada en quesos, leche no procesada, pollo fresco y congelado (Duque y Varón, 2006), en carne congelada y fresca, frutas, verduras, (Jay, Loessner y Golden, 2005) entre otros. Además se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente, encontrándose en suelos, aguas y vegetación (Cisternas et al., 2002; European Centers for Disease Prevention and Control, 2013).

En Colombia, se ha determinado la prevalencia en varios alimentos, siendo los quesos y cárnicos, en los que más comúnmente se ha aislado *L. monocytogenes* (INS, 2011). En cuanto a la listeriosis es muy poca la información de la epidemiología de esta enfermedad (Moreno, 2013; INS, 2015).

El sur del departamento del Tolima, presenta condiciones como falta de tratamiento del agua para consumo humano, carencia de educación en salud, malos hábitos alimenticios e higiénicos, contaminación ambiental y altos índices de hacinamiento (Instituto Colombiano de Desarrollo Rural, 2012). Briñez, Guarnizo, y Arias, (2012) en un estudio de la calidad del agua en el departamento, reportan que los municipios de Ataco y

Planadas tienen índices de agua inviable sanitariamente y Roncesvalles un índice de riesgo alto.

Teniendo en cuenta todos los factores mencionados, en el presente trabajo se evaluó la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos que se ofrecen a niños en comedores escolares de Instituciones Educativas (IE) y Centros de Desarrollo Infantil (CDI), en el sur del departamento del Tolima.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ATENCIÓN NUTRICIONAL A LA POBLACIÓN INFANTIL

En búsqueda de garantizar las condiciones de igualdad y equidad, en los países latinoamericanos, se establece la importancia de atender a la infancia especialmente los niños y niñas menores de 6 años, en virtud a que es en este periodo de vida en el que se fundamenta el posterior desarrollo de la persona en todos los aspectos como el fisiológico, psico- social, cultural, económico, etc.; del mismo modo se ha entendido que la atención a la primera infancia es una inversión que garantiza beneficios sociales y económicos a largo plazo, por ejemplo un mayor éxito en universalizar la educación primaria y para la disminución de la pobreza (Documento Conpes social 109, 2007).

Atendiendo a lo descrito anteriormente, a las diferentes acciones planteadas por organizaciones como la OMS y teniendo en cuenta cifras como las entregadas por el DANE en el 2010, en las que se señala que el 60,03% de niños y niñas de la primera infancia viven en condiciones de pobreza, entre ellos un 23,36% en pobreza extrema (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013), se han venido desarrollando políticas públicas encaminadas a la creación de estrategias para la atención integral a la primera infancia, en las que la nutrición adecuada es uno de los aspectos más importantes.

En este sentido, se han creado, el Programa de Alimentación Escolar y dos modalidades de atención inicial: familiar y Centros de Desarrollo infantil.

1.1.1 Programa de Alimentación Escolar (PAE): De acuerdo con el MEN, (2015):

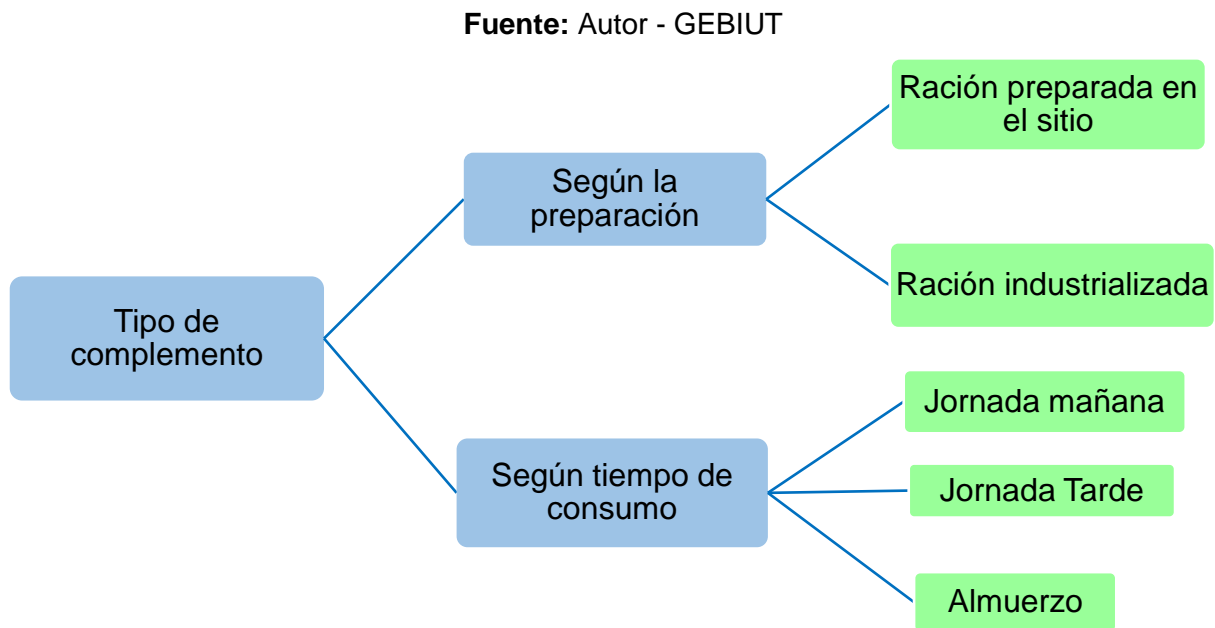
El PAE, es una estrategia estatal, direccionada por el Ministerio de Educación Nacional, que promueve la permanencia en el sistema educativo oficial de las niñas, niños y adolescentes asegurando el acceso a un complemento alimentario durante la jornada escolar, para mantener

los niveles de alerta e impactar de forma positiva los procesos de aprendizaje y el desarrollo cognitivo; contribuyendo a garantizar los derechos a la educación y a la alimentación (p.15).

Para definir la población que se beneficiará del programa, el ministerio cuenta con un programa de priorización en el que se establecen cuatro criterios. Así, las zonas rurales son de prioridad frente a zonas urbanas, igualmente se busca atender principalmente a aquellas poblaciones más vulnerables como comunidades indígenas, raizales, afrocolombianos, a víctimas del conflicto armado, población con vulnerabilidad nutricional y socioeconómica. Además, se intenta cubrir primero a los niños y niñas más pequeños.

El PAE ofrece un complemento alimentario, que cubre un porcentaje del valor calórico total, así como los requerimientos de energía y nutrientes por grupo de edad.

Figura 1. Tipos de complemento alimentario



Fuente: autor

1.1.2 Centros de Desarrollo Infantil (CDI): El MEN (2012) define los CDI como:

Una de las modalidades de atención definidas en el marco de la Política Pública de la Primera infancia, orientada a potenciar el desarrollo integral de los niños y niñas y a garantizar el derecho que tienen de recibir una educación inicial de calidad, desde la gestación hasta su ingreso al sistema educativo, en el grado de transición (p. 5).

Están dirigidos principalmente a niños y niñas en la primera infancia, entre los dos años y antes de cumplir los 6 años o hasta que ingresan al grado transición. Sin embargo, esta modalidad también se ha diseñado para atender las edades comprendidas entre 3 meses y dos años, en casos en los que sus padres deben salir a trabajar o a estudiar.

De acuerdo con los estándares para el componente de salud y nutrición, los CDI ofrecen un servicio de alimentación, a través del cual se pretende cubrir la totalidad de calorías requeridas por grupo de edad, de acuerdo con el tiempo en que el niño o niña permanece en la institución (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de alimentos en las diferentes jornadas de atención en los CDI

Horario de atención	Tiempos de comida	% de calorías y nutrientes a cubrir
Media jornada mañana (7 am -12 am)	Desayuno - media mañana- almuerzo	60
Jornada completa (7 am - 4pm)	Desayuno - media mañana- almuerzo - onces	70
Media jornada tarde (12am - 4pm)	Almuerzo - onces	40
Tiempo extendido	Desayuno - media mañana- almuerzo - onces - comida	100

Fuente: Modificado de MEN, (2012)

1.2 INOCUIDAD Y CALIDAD DE ALIMENTOS

En los programas de atención a la población infantil, en los que la alimentación es un factor relevante, se hace necesario garantizar que todos los aspectos de la seguridad alimentaria estén presentes y se lleven a cabo adecuadamente, siendo la calidad e inocuidad de los alimentos fundamental, es por esto que dentro de los lineamientos para el PAE y la modalidad de CDI, se establece la obligatoriedad en el cumplimiento de las normas vigentes en el país para llevar a cabo adecuados procesos de transporte, almacenamiento, distribución y preparación.

1.2.1 Decreto 3075 de 1997: Este decreto es el documento base en Colombia, mediante el que se establecen las medidas a tener en cuenta con el fin de garantizar adecuadas condiciones higiénico sanitarias que permitan disminuir el riesgo por consumo de alimentos; haciendo referencia a aspectos como: condiciones de las instalaciones, requisitos para el personal manipulador de alimentos, programas de abastecimiento de agua potable, manejo de residuos sólidos y líquidos, control de plagas, limpieza y desinfección. Comedores enmarcados en el PAE como en CDI, se basan en este decreto para regular todas las actividades asociadas a la preparación de alimentos seguros para la población infantil beneficiada.

De acuerdo con las definiciones dadas en este decreto, una las fundamentales a tener en cuenta son las BPM, definidas como:

Los principios básicos y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte, distribución y entrega de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los productos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción” (Ministerio de Salud y Protección Social, 1997 p.14).

1.3 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

La Enfermedad Transmitida por alimentos es “el síndrome originado por la ingestión de alimentos, incluida el agua, que contienen agentes etiológicos en cantidades tales que

afectan la salud del consumidor a nivel individual o en grupos de población” (INS, 2010). Las ETA son clasificadas en dos tipos, infecciones e intoxicaciones alimentarias.

Infecciones alimentarias: “Producidas por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados por agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos o parásitos “(Muriel, 2008).

Estas son divididas en dos grupos: las infecciones invasivas, en las que el microorganismo afecta otros tejidos y órganos del hospedero. Las toxiinfecciones ocasionadas por bacterias que no son consideradas invasivas, pero que pueden colonizar, multiplicarse y excretar toxinas en el tracto intestinal (Schmidt, Goodrich, Archer, y Schneider, 2003).

Intoxicaciones alimentarias: “Las enfermedades generadas al ingerir un alimento en el que se encuentra la toxina o veneno formado en tejidos de plantas o animales o como metabolito de los microorganismos... También se incluyen las intoxicaciones causadas por sustancias químicas incorporadas al alimento en forma accidental o intencionalmente, como plaguicidas, metales pesados u otras” (FAO, 2009).

Se han identificado más de 250 enfermedades de transmisión alimentaria, que en su mayoría corresponden a infecciones ocasionadas por agentes de origen bacteriano (Puig, Leyva, Robert, y Pérez, 2013). De acuerdo a su etiología o a las condiciones de salud de la persona que ingiere el alimento contaminado, pueden provocar síntomas que tienen una corta duración como náuseas, vómitos, diarrea dolor abdominal, dolores musculares y fiebre. Además, principalmente en personas con un sistema inmune debilitado pueden causar enfermedades con síntomas más prolongados y muy graves, llegando en algunos casos hasta la muerte (United States Department of Agriculture, 2013; WHO, 2015).

1.4 INCIDENCIA Y VIGILANCIA DE ETA

La incidencia real de las enfermedades de transmisión alimentaria es difícil de estimar, puesto que no hay datos exactos de la ocurrencia de estas enfermedades en el mundo y los sistemas de vigilancia son muy variables en cuanto a eficiencia, de manera que una notificación más alta no siempre está ligada a un mayor problema de seguridad alimentaria, además, otros factores que impiden un conocimiento más exacto de las ETA es la diversidad de agentes etiológicos y la falta de eficiencia en cuanto a la uniformidad en el diagnóstico del origen etiológico (Rodríguez, Barreto, Cabrera, Martínez y Vergara, 2015). Esto se refleja en las estadísticas encontradas para diferentes países y regiones en el mundo, algunas mencionadas a continuación.

En Estados Unidos, que cuenta con uno de los más eficientes sistemas de vigilancia, se estima que cada año hay 76 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos; 325.000 hospitalizaciones y 5000 muertes asociadas (INS, 2014).

En la Unión Europea (UE), la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de enfermedades, son las instituciones encargadas de llevar a cabo la vigilancia, estas reportan que en el año 2010 se registraron 5.262 brotes de ETA, involucrando a 43.000 personas, 4.695 hospitalizaciones y 25 muertes (EFSA & ECDC, 2012). En el 2012 se registraron 5.363 brotes con un total de 55.453 casos humanos, 5.118 hospitalizaciones y 41 muertes, mientras que para el año 2013, 5.196 con 43.183 casos de personas afectadas entre estas, 5.946 hospitalizadas y 11 fallecimientos (EFSA & ECDC, 2015).

De acuerdo con datos hallados por Muriel, (2008) en la región de América Latina, entre 1999 y 2008 se presentaron 6511 informes de brotes en 22 países, en el 57% de los casos la patología fue asociada con bacterias.

A nivel mundial, la OMS estima que cada año hasta 600 millones de personas enferman por la ingesta de alimentos contaminados, 40% son menores de 5 años. Las regiones

del mundo con la carga más alta de estas enfermedades son: África, seguida de Asia sudoriental y el mediterráneo sudoriental (WHO, 2015).

1.4.1 Incidencia y vigilancia de ETA en Colombia: En Colombia, el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) inició en el año 2000, el seguimiento epidemiológico de enfermedades provocadas por el consumo de alimentos contaminados, con un registro de 2983 casos. Los siguientes años las notificaciones hechas fueron aumentando, reportándose entre el 2001 y 2012, 105.989 casos de brotes. Durante el 2012 se notificaron 11836 casos (1004 brotes) de los cuales en un 51% se realizó la identificación de algún agente etiológico. Algunos de los agentes etiológicos detectados en muestras biológicas, de alimentos y de superficies, fueron: *Staphylococcus aureus*, coagulasa positivo, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, Hepatitis A, Complejo *Entamoeba histolytica/dispar* (INS, 2014). Para los años 2013 y 2014 fueron notificados 11425 y 9326 casos, respectivamente (INS, 2016a). El boletín epidemiológico de la semana 39 del 2016, indica que hasta el mes de septiembre se registran 7 148 casos, siendo los menores entre 1 y 14 años los más afectados (INS, 2016b).

1.5 GENERALIDADES DE *Listeria spp.*

Este género ha recibido su nombre en reconocimiento al científico Joseph Lister, que es conocido por introducir el concepto de prevención de la sepsis quirúrgica (Ruíz-Bolívar, Poutou-Piñales y Carrascal-Camacho, 2008). Inicialmente fue clasificado dentro de la familia Corynebacteriaceae, pero en la actualidad se ha definido que pertenece a los bacilos grampositivos no esporulados, estando relacionado de manera cercana con *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterococcus spp.*, y *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus* y *Brochothrix* entre otros géneros (Ryser y Marth, 2007; Ruíz-Bolívar et al., 2008), encontrándose más estrechamente relacionado con este último (Winn, et al., 2008).

Tabla 2. Clasificación taxonómica del género *Listeria*

Filo	Clase	Orden	Familia	Género
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Erysipelotrichaceae	<i>Listeria, Brochothrix</i>
			Bacillaceae	
			Listeriaceae	
			Sporolactobacillaceae	
			Paenibacillaceae	

Fuente: Modificado de Winn et al., (2008); Marco, (2012).

Listeria spp. es un género definido por un bajo contenido de C + G del 36-38 % (Winn et al, 2008), que se caracteriza por presentar forma de bacilos con un tamaño entre 0.4 y 1.5µm, (Ruíz-Bolívar et al., 2008), anaerobios facultativos, que no forman esporas ni capsula, móviles entre 10 a 25°C, (Vázquez-Boland et al., 2001), no ácido resistentes y catalasa positivo (Jay et al., 2005)

1.5.1 Especies de *Listeria*: hasta el año 2009 se habían descrito 6 especies para el género *Listeria*: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. innocua* y *L. grayi*. Las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en vegetación en descomposición, suelos, heces de humanos y animales, aguas residuales, ensilados, agua y gran variedad de alimentos (Jay et al., 2005; Ruíz-Bolívar et al., 2008). Actualmente, a este género se han sumado otras 11 especies: *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. cornellensis*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, y *L. booriae* (Orsi y Wiedmann, 2016).

Tabla 3. Algunas características fenotípicas para la diferenciación de especies.

Especie	D-xilosa	L-ramnosa	Manitol	Glicerol	Motilidad	Beta hemólisis	Prueba de	
							<i>S.aureu</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	-	+	-	V	+	+	+	-
<i>L. ivanovii</i>	+		-	+	+	+	-	+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	+	+	-	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+		-	+	+	+	+	-
<i>L. welshimeri</i>	+	V	-	+	+	-	-	-
<i>L. grayi</i>	-	V	+	V	+	-	-	-
<i>L. marthii</i>	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>L. recourtaie</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>L. weihenstephanensis</i>	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>L. grandensis</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. riparia</i>	+	+	V	V	-	V	-	-
<i>L. booriae</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>L. fleischmannii</i>	+	+	V	-	-	-	-	-
<i>L. floridensis</i>	+	+	-		-	-	-	-
<i>L. aquatica</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>L. newyorkensis</i>	+	V	+	+	-	-	-	-
<i>L. cornellensis</i>	+	-	-	+	-	V	-	-

Fuente: Modificado de Henk et al., (2016); Orsi y Wiedmann, (2016).

Solamente dos especies son consideradas patogénicas *L. monocytogenes* la cual causa enfermedad en humanos y animales y *L. ivanovii* que ha sido asociada como causante de enfermedad solamente en animales (Torres, Sierra, Potou, Carrascal y Mercado, 2005), sin embargo se han reportado algunos casos en que se ha aislado en pacientes humanos, considerándose como un patógeno humano oportunista entérico (Guillet, et al., 2010). Algunas cepas raras de *L. innocua* también se han identificado como patógenos (Orsi y Wiedmann, 2016) y hasta el momento hay un solo reporte realizado en 1986, en donde *L. seeligeri* es identificada como causante de la enfermedad (Müller, Schmid, Meyer y Meussdoerffer, 2010).

1.6 CARACTERÍSTICAS DE *Listeria monocytogenes*

Son bacilos Gram-positivos, cortos, no ramificados, que no forman esporas, no capsulados, anaerobios facultativos, psicrótrofos (Colón, 2015; Torres et al., 2005), catalasa positiva, oxidasa y ureasa negativas y β hemolíticos en agar sangre (Colón, 2015). Posee de uno a cinco flagelos periticos, que permiten un amovilidad acrobática

(volteretas) a 25° C, la cual disminuye a 37°C debido a una notable reducción en la producción de flagelina (Farber y Peterkin, 1991; Mandel, Bennett y Dolin, 2012).

1.6.1 Ecología de *L. monocytogenes*: Se desarrolla a temperaturas de refrigeración, ya que crece en un amplio intervalo de entre 0 y 45°C, y además tolera los medios ácidos, en un pH que va desde 4.1 a 9,6 aproximadamente, sobrevive a altas concentraciones de NaCl (10% w/v) (Vera, González, Domínguez y Bello, 2013) y en un rango de actividad de agua (aw) que varía de 0.90 a 0.99 (Food Safety Authority of Ireland, 2005). Factores que contribuyen a que esta bacteria se halle ampliamente distribuida en el medio ambiente, donde puede sobrevivir por largos periodos de tiempo, (Jay. et al., 2005; Medin, Medin, Rossotti y Siskin, 2013). Puede ser aislada a partir de agua, suelo, aguas residuales, material vegetal, vegetación en descomposición, y numerosas especies de aves, peces y mamíferos, incluidos los seres humanos (Cowan, 2015).

Tabla 4. Límites de crecimiento y supervivencia de *L. monocytogenes*

Parámetro	Óptimo	Sobrevive (No crecimiento)
Temperatura	30-37°C	-18
pH	7	3.3-4.2
Aw	0,97	< 0.90
% Na Cl	N/A	20

Nota: N/A: No Aplica.

Fuente: FSAI, (2005).

Otra característica importante de esta bacteria es su capacidad para formar biopelículas o *biofilms*, los cuales se definen como una población de células que crecen unidas a una superficie y envueltas en un matriz de sustancias poliméricas extracelulares que protegen a los microorganismos de agentes como antibióticos (Herrera, 2004; Navia, Villada y Mosquera, 2010). La formación de estos, permite a *L. monocytogenes* adherirse y crecer en superficies frías y húmedas, ideales para la formación de biopelículas, tales como el acero inoxidable, plástico, superficies de policarbonato entre otras (Tresse et al., 2007). Esta habilidad le confiere una mayor resistencia a los agentes físicos y químicos comúnmente usados en la desinfección (Carrillo, Redondo & Arias,

2010) lo que le puede otorgar resistencia a los procesos de limpieza y a los desinfectantes (Pérez-Rubiano, Mercado-Reyes y Carrascal-Camacho, 2008).

L. monocytogenes es un patógeno intracelular oportunista (Moreno, 2015; Willey, Woolverton y Sherwood, 2008) ya que puede sobrevivir y multiplicarse fuera de los hospedadores animales (Marco, 2012).

1.6.2 Serotipos: Las cepas de *L. monocytogenes* pueden diferenciarse, teniendo en cuenta antígenos somáticos (O) y flagelares (H), resultando 13 serotipos distintos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7 (Winn et al., 2008); mientras que Donnelly y Diez-Gonzalez (2013) mencionan 14 serotipos (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4bX, 4c, 4d, 5, 6a, y 6b) sin embargo, la mayoría de autores mencionan 13.

Se ha determinado que en más del 95% de los casos de enfermedad, se deben a los tipos 1/2a, 1/2b y 4b (Donnelly y Diez-Gonzalez, 2013; Vera et al., 2013), lo que sugiere una mayor virulencia de los mismos. Tanto en los casos esporádicos como en los brotes de origen alimentario el serotipo más frecuente es el 4b (Parrilla, 2011), el serotipo 4b es el más virulento (Soto et al., 2016). Estos tres serotipos son también los que se han aislado con mayor frecuencia en Colombia, de 1424 aislamientos de *L. monocytogenes* se encontró en serotipo 4b en el 57% de los casos, seguido del 1/2b (10.8%) y del 1/2a (9.55%) (Muñoz, A.I., 2012).

1.6.3 Factores de virulencia: *L. monocytogenes* tiene la capacidad de invadir diferentes tipos de células como las epiteliales, endoteliales, hepáticas, fibroblastos o fagocitos, además de atravesar la barrera intestinal, placentaria y hematoencefálica tanto en humanos como en animales (Rahimi, Montaz, Behzadnia y Baghbadorani, 2014). La patogenicidad de *L. monocytogenes* es debida a esta capacidad para adherirse, invadir y multiplicarse en diferentes células no fagocíticas, tal proceso es facilitado por los factores de virulencia: *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA*, *plcB* (Moreno, 2013).

El gen *prfA*, codifica para la proteína PrfA, factor de transcripción estructural (Torres et al., 2005) que se necesita en la expresión de los factores de virulencia de la bacteria (Vera et al., 2013).

Los genes *hly*, *plcA* y *plcB*, cuyos productos son la Listeriolisina O, la Fosfatidilinositol fosfolipasa C (PI-PLC) y la Fosfatidilcolina fosfolipasa C (PC-PLC), respectivamente, tienen como función la lisis del fagosoma (Vera et al., 2013). El gen *actA*, codifica para la proteína de superficie *actA*, que produce la polimerización intracelular de la actina, permitiendo así la translocación de las bacterias hacia la membrana de la célula y su invasión a otras células (Winn, et al., 2008). El gen *mpl*: Codifica la proteasa *mpl*, que procesa el pro péptido inactivo de la PC-PLC (Moreno, 2013).

Otros genes de importancia son el *InlA* y *InlB*, los cuales codifican para las dos proteínas de superficie internalina A e internalina B, las principales responsables de la invasión celular de *L. monocytogenes* (Sánchez y Palencia, 2010 y Vera et al., 2013).

1.6.4 Ciclo infeccioso: De acuerdo con Moreno, (2013) las etapas en el ciclo de infección son la internalización, evasión de la vacuola intracelular, nucleación de filamentos de actina y expansión de célula a célula.

Internalización: El ciclo inicia con la adhesión a la superficie de las células y la subsecuente penetración de la bacteria en la célula hospedera (Vázquez-Boland et al., 2001). La invasión de las células no fagocíticas, requiere un mecanismo de tipo zipper, en el que la bacteria se hunde progresivamente en la superficie celular (Sánchez y Palencia, 2010). Este proceso es mediado por la interacción de las internalinas, proteínas de superficie de la bacteria, con el receptor E-cadherina de la célula eucariota (Jay, et al, 2005).

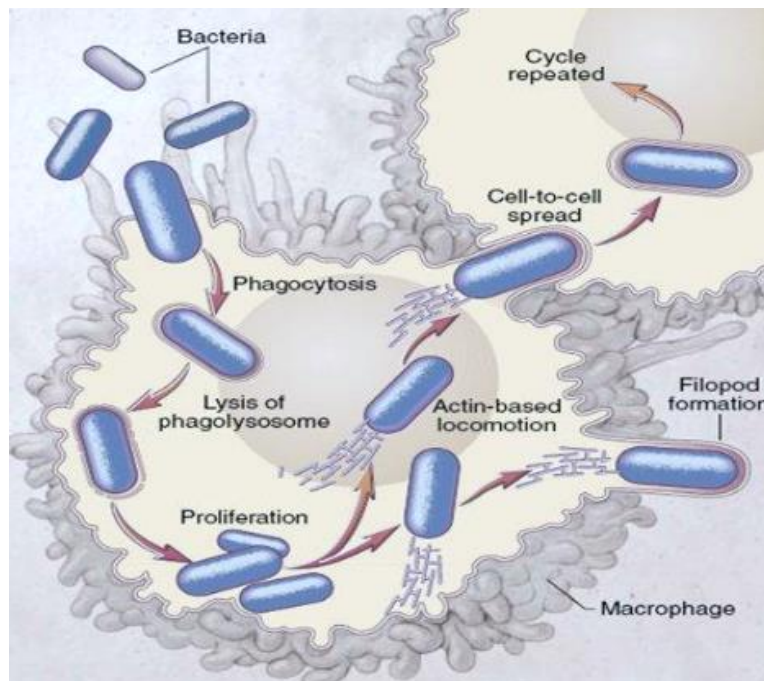
Evasión de vacuola intracelular: Una vez en el interior de la célula, la vacuola fagocítica es rápidamente lisada por la acción de la Listeriolisina O (LLO) y dos fosfolipasas (PI-PLC y PC-PLC). LLO forma poros en la membrana de los fagosomas, permitiendo que

L. monocytogenes escape de las vacuolas primarias y secundarias. Esta acción citolítica se ve aumentada por la PI-PLC, específica para el fosfatidilinositol y por PC-PLC (Torres et al., 2005).

Nucleación de filamentos de actina: en el citosol se induce la polimerización de filamentos de actina en un polo de la bacteria, creando una estructura que se organiza para formar apéndices que facilitan su desplazamiento intracelular y migración a otras células (Vera et al., 2013).

Expansión de célula a célula: Los filamentos de actina impulsan la bacteria hacia la membrana citoplasmática, mediante la acción de las fosfolipasas el microorganismo se libera e inicia de nuevo el ciclo, al entrar en células adyacentes (Jay, et al., 2005).

Figura 2. Proceso de infección intracelular por *Listeria monocytogenes*



Fuente: Olivares, 2009; tomado de Domínguez, 2014.

1.7 LISTERIOSIS HUMANA

No se puede asociar a la listeriosis humana con un conjunto definido de síntomas, ya que dependen del estado de la persona infectada (Jay *et al*, 2005), teniendo mayor riesgo los ancianos, niños, mujeres embarazadas, individuos con un sistema inmunológico deprimido (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, 2014) y personas con enfermedades debilitantes como cirrosis hepática, insuficiencia renal avanzada, diabetes mellitus, (Sánchez & Palencia, 2010) cáncer, por el trasplante de órganos, por el uso de corticoides o por el SIDA (Andrés, 2009).

Generalmente las personas inmunocompetentes y que no están embarazadas no padecen la enfermedad (Jay *et al.*, 2005) o ésta se presenta sólo como un cuadro gastrointestinal leve y autolimitado (Larraín Y Carvajal, 2008). Se ha estimado que hasta un 5% de los seres humanos sanos son portadores de *L. monocytogenes* en su tracto gastrointestinal (Donnelly Y Diez-Gonzalez, 2013).

1.7.1 Tipos de listeriosis: Se conocen dos formas en las que puede desarrollarse la listeriosis: No invasiva e invasiva, siendo esta última la más frecuente (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, 2009).

Listeriosis no invasiva: La listeriosis no invasiva también es llamada gastroenteritis febril por listerias (AESAN, 2009). Tiene un periodo medio de incubación entre 18 y 20 horas, los síntomas que puede presentar son: fiebre, fatiga malestar, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, diarrea y calambres (Donnelly y Diez-Gonzalez 2013)

Listeriosis invasiva: El periodo medio de incubación para la enfermedad invasiva es cercano a 30 días sin presentarse síntomas. En el caso de personas que no se encuentran en estado de embarazo los síntomas pueden ser: conjuntivitis, endocarditis (lesiones cardíacas subyacentes), neumonía por aspiración, meningitis, meningoencefalitis, infección del sistema nervioso central no meningítica, septicemia y bacteriemia primaria con fiebre (Donnelly y Diez-Gonzalez 2013).

Para el caso de mujeres en estado de embarazo pueden no presentar síntomas y cuando suceden, por lo general son leves y similares a los de una gripe. Sin embargo, la infección puede tener como consecuencia el aborto, partos prematuros y niños nacidos muertos (Jay et al., 2005). En el neonato, la listeriosis es de dos tipos, de inicio temprano, en el que se presenta bajo peso al nacer, bronconeumonía o septicemia al nacimiento o muerte del recién nacido por una infección diseminada. Por otro lado, puede presentarse una listeriosis neonatal tardía (1 a 8 semanas después del parto) en la que ocurre síndrome febril acompañado por meningitis y en algunos casos gastroenteritis y neumonía, la mortalidad es del 10% al 20% (Domínguez, 2014).

1.7.2 Transmisión: No se tienen conocimiento de infección de persona a persona, solamente en la transmisión de tipo vertical, de madre a hijo o en raros casos de contaminación cruzada en sala de parto. La infección es generalmente producida por la ingesta de alimentos contaminados, en el 99% de los casos (INS, 2011). Sin embargo, no hay datos del inoculo oral necesario para producir enfermedad (Mandell et al., 2012).

1.7.3 Tratamiento: La mayoría de los antibióticos, incluyendo las penicilinas, son bacteriostáticos frente a *L. monocytogenes*. Los aminoglucósidos, glucopéptidos y cotrimoxazol resultan bactericidas (Sánchez y Palencia, 2010). En general se sugiere el uso de ampicilina preferiblemente y penicilina, solos o asociados a gentamicina para tratar la bacteremia en casos en que las personas presentan disminución de los linfocitos T. También se ha tenido buen resultado con la combinación Sulfametoxazol trimetoprim, que es la mejor alternativa a la penicilina cuando hay alergia a esta (WHO, 2008; Mendell et al., 2012). Es necesario el uso de dosis elevadas durante un tiempo prolongado, siempre en función del tipo de paciente y la evolución (Sánchez y Palencia, 2010).

1.7.4 Incidencia de listeriosis:

Tabla 5. Brotes asociados a *L. monocytogenes* desde 2010

Año	País	Alimento	Nº de afectados	Referencia
2010	Estados Unidos	Queso	14	INS, 2015
2011	Bélgica	Queso	12	Yde et al, 2012
	Suiza	Jamón	6	INS, 2015
	Estados Unidos	Melón	146	Maertens de Noordhout, 2014
2012	Finlandia	Queso	20	INS, 2015
	España	Queso	11	Instituto de Salud Carlos III, 2012
2013	Suecia	N.D	50	ECDC, 2014
2014	Dinamarca	N.D	41	ECDC, 2014
	Estados Unidos	Queso	8	Food and Drug Administration, 2016
2015	Estados Unidos	Helado	5	FDA, 2015

Fuente: Autor-GEBIUT.

De acuerdo con una revisión realizada por Maertens de Noordhout et al., (2014) para estimar la incidencia de la listeriosis en el mundo, a partir de la información de diferentes sistemas de vigilancia, solo encontraron datos disponibles para el 52% de la población en el mundo, faltando en su mayoría información de África, América Latina y Asia. Sin embargo, se estimó que para el 2010 se enfermaron 23150 personas a causa de *L. monocytogenes*, la más alta incidencia se presentó en América Latina y la estimación más baja fue para Europa oriental. El 20.7% de los casos se presentaron en mujeres embarazadas, para los demás casos, el 2% fueron niños entre los 1 y 4 años, mientras que un 4% para la edad de 5 a 14 años. Sin embargo, debido a la escasez de datos de la incidencia de la enfermedad, aún existe una gran incertidumbre sobre el verdadero efecto de listeriosis en todo el mundo (Maertens de Noordhout et al., 2014).

1.7.5 Listeriosis en Colombia: La información sobre la prevalencia de listeriosis en Colombia, es escasa y tiene un alto subregistro, debido a que no es una enfermedad de notificación obligatoria (INS, 2015). Existe un reporte de 19 casos de listeriosis, en un hospital en la ciudad de Santiago de Cali, realizado por Crespo et al., (1999). De acuerdo con el INS, (2011) el SIVIGILA reportó en el 2009 un caso con manifestaciones de meningitis en un niño de 9 años, debido al consumo de queso fresco (INS, 2011).

En el 2011 se presentó un caso de un paciente de 22 años de edad, sin deficiencias en su sistema inmunitario, este presentó cefalea, vómito, deterioro de su estado general y, finalmente, alteración del estado de conciencia y muerte, el Instituto Neurológico de Colombia, hizo diagnóstico de encefalitis del tallo y mielitis por *L. monocytogenes*. Posiblemente la infección estuvo asociada al consumo de productos lácteos no pasteurizados en una zona rural de Antioquia (Castro, Hernández, Uribe, Guerra y Uruña, 2013).

Moreno, (2013) menciona que se han documentado casos de listeriosis en personas con un estado inmunológico deficiente a causa del VIH sida, terapias inmunosupresoras, cáncer y trasplantes. Sin embargo, los casos de listeriosis en el país no son diagnosticados por no tener una completa documentación, por lo que no existe información epidemiológica representativa sobre esta enfermedad.

1.8 LISTERIA MONOCYTOGENES EN LOS ALIMENTOS

Debido a que esta bacteria presenta una amplia distribución en la naturaleza, dispone de muchas oportunidades de contaminar alimentos en distintas etapas de la producción alimentaria. Las características de resistencia a condiciones adversas como la acidez y altas concentraciones de sal, hacen de este un microorganismo ubicuo, que puede encontrarse en el agua y en los alimentos tanto frescos como procesados y en las instalaciones de procesamiento de los alimentos que no tienen una adecuada higienización (AESAN, 2009). La capacidad de formar biopelículas y adherirse a superficies que entran en contacto con los alimentos, hacen difícil su eliminación a través de procesos de desinfección por lo que, a pesar de que se sometan los alimentos a tratamientos térmicos que impiden su sobrevivencia pueden llegar a contaminarse después de este (López, Suárez, Chico, Navas y Martínez, 2006).

Por lo que se hace necesario que en toda la industria alimentaria se mantengan implementados rigurosos programas de limpieza y desinfección, así como hacer uso de

higienizantes o biocontroladores capaces de eliminar al patógeno, incluso cuando forme biopelículas (Schöbitz et al., 2009).

Muchos alimentos están contaminados con *L. monocytogenes*, según Schöbitz et al, (2009) *L. monocytogenes* ha sido aislado a partir de alimentos sin procesar como leche, carne y vegetales; así como de alimentos procesados entre quesos suaves, helado, mantequilla, carne cruda, carne procesada, pescado crudo y ahumado en frío. Farber y Peterkin, (1991) mencionan que los alimentos más frecuentemente implicados en la transmisión de *L. monocytogenes* son las carnes frescas y los productos cárnicos, los productos lácteos, las hortalizas y los productos derivados del pescado. Mendell et al., (2012) menciona que habitualmente se reportan tasas del aislamiento entre 15-70 %, en alimentos frescos como congelados.

FAO y OMS, (2004) realizaron la evaluación de riesgo de *L. monocytogenes* en alimentos Listos para el Consumo (LPC), para ello seleccionaron cuatro alimentos: leche pasteurizada, helados, productos cárnicos fermentados y pescado ahumado en frío. Definiendo que, la leche pasteurizada es un alimento cuya frecuencia y nivel de contaminación con *L. monocytogenes* son muy bajas, pero permite la proliferación del microorganismo durante el almacenamiento; con el helado ocurre algo similar a la leche, pero este no permite la proliferación de la bacteria durante el almacenamiento. Los productos cárnicos fermentados están frecuentemente contaminados con listerias, pero su composición final evita la proliferación del microorganismo durante el almacenamiento. El pescado ahumado en frío está frecuentemente contaminado con *L. monocytogenes* y permite la proliferación del microorganismo cuando se almacena durante un período prolongado.

El INS, (2011) publicó la evaluación de riesgos de *L. monocytogenes* en queso fresco, realizado con base en datos que reportan a este como el principal alimento asociado a brotes de ETA por esta bacteria, concluyendo que la contaminación de queso con *L. monocytogenes* puede abarcar todas las etapas de la cadena agroalimentaria, debido a la ubicuidad del microorganismo, deterioro de la infraestructura, contaminación de pisos

y/o equipos, presencia de biopelículas, temperatura de almacenamiento inadecuada, entre otros. Esta misma entidad en el 2015, realizó la evaluación de riesgos en cárnicos Listos Para el Consumo (LPC), determinando que las principales fuentes de contaminación con *L. monocytogenes* son la materia prima contaminada, el ambiente, los manipuladores y las biopelículas.

1.9 PREVALENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN COLOMBIA

Estudios realizados en Colombia han demostrado la presencia de *L. monocytogenes* en varios alimentos. Muñoz, Vargas, Otero, Díaz y Guzmán, (2011) quienes evaluaron alimentos LPC, procedentes de plazas de mercado y de supermercados de cadena en la ciudad de Bogotá, encontraron que el 11.3 % de las muestras analizadas fueron positivas para *L. monocytogenes*; con una mayor frecuencia en quesos, ensaladas y cárnicos cocidos. Aislamientos de *Listeria* realizados en diferentes departamentos y enviados al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), durante los años 2000 a 2009 para su serotipificación, reflejaron que los grupos de alimentos con mayor frecuencia de *L. monocytogenes*, fueron los quesos frescos (39,5 %), los cárnicos cocidos (20,7 %) y las leches (10,8%) (Muñoz, A. I., 2012).

Resultado de la vigilancia de este patógeno realizada por Laboratorios Departamentales de Salud Pública (LDSP) en muestras de derivados cárnicos provenientes de establecimientos de comercialización, para el año 2011 se determinó una prevalencia del 1.7% en 1703 muestras analizadas, mientras que en el 2015 se halló el 0,7% de 426 muestras (INS, 2015). Gamboa-Marín et al., (2012) hallaron una prevalencia de 13,82% en cárnicos porcinos y sus derivados. Otros estudios se han realizado en departamentos como Norte de Santander, mostrando prevalencia de 3% en leche de vaca y en Boyacá donde se halló una prevalencia de 22,2% en este mismo producto, (Carrascal, Albarracín y Sarmiento, 2007). También en Norte de Santander se determinó que el 3.9% en muestras de pescado fresco provenientes de expendios (Herrera y Suarez, 2012).

Además, hay un reporte de prevalencia en manipuladores de alimentos, realizado a partir de 1322 muestras provenientes de manipuladores en 10 departamentos del país, aislándose en 138, lo equivalente a 10,4 % de incidencia (Muñoz, Chaves, Rodríguez y Realpe, 2013).

Para el departamento del Tolima, Moreno, (2013), determinó una prevalencia 1,3% en derivados cárnicos de origen porcino recolectados en plantas de procesamiento. Galindo, (2011) realizó un estudio en la ciudad de Ibagué sobre *Listeria* en quesillos, encontrando que 16 muestras de 142 fueron positivas para *L. monocytogenes*, reflejando posiblemente una inadecuada ejecución de las BPM. Puentes, (2014) realizó un estudio en ensaladas servidas en restaurantes de la ciudad de Ibagué, no detectando la presencia de esta bacteria.

La mayoría de los estudios se han dirigido a determinar la prevalencia en etapas de producción o de comercialización de los alimentos, y se encuentran pocos reportes en etapas finales de preparación o aprovechamiento del producto, importantes teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* es destruida por la cocción, pero un producto cocido se puede contaminar de nuevo por prácticas inadecuadas en el manejo del alimento y a un saneamiento deficiente (USDA, 2014), además alimentos LPC, que se consumen directamente, pueden ser también consumidos contaminados. En la tabla 6, se muestran reportes del SIVIGILA en los que dentro de los patógenos aislados a partir de alimentos que fueron asociados con brotes reportados en Colombia, se encuentra *L. monocytogenes*. Como se observa en la tabla, los establecimientos educativos fueron los lugares principalmente involucrados.

Tabla 6. Aislamientos de *L. monocytogenes* asociados a brotes en Colombia, en el periodo 2008 a 2012.

Año	Ciudad	N° de casos	Alimento implicado	Lugar de consumo
2010	Bogotá D.C	16	Agua, Goulash, Jamón	Establecimiento educativo
2010	Bogotá D.C	34	Piña, Jamón, arepa, avena y queso	Establecimiento educativo
2010	Zipaquirá	65	Pasabocas de pollo, atún, galletas, queso,	Club social
2011	Sogamoso	36	Café, calado, mortadela, arroz, carne fría y papa salada	Establecimiento penitenciario
2011	Bogotá D.C	50	Mora, granadilla, verdura fría, sopa de patacón, arroz con perejil.	Establecimiento educativo
2011	La Unión	2	Salchicha, queso, salsas, aderezo y carne	Restaurante comercial

Fuente: Modificado de INS, (2015).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos suministrados a niños entre los 0 y 12 años, en restaurantes escolares y Centros de Desarrollo Infantil (CDI), en la zona sur del departamento del Tolima, con el fin de formular medidas preventivas para disminuir este riesgo en la población infantil vulnerable.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar a través de encuestas el estado actual de las BPM, en restaurantes de los establecimientos educativos y CDI, a su vez relacionarlo con la presencia o ausencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.
- Determinar los principales factores de riesgo asociados a la contaminación con *L. monocytogenes*, en los alimentos suministrados en los establecimientos escolares e infantiles en el sur del Tolima.

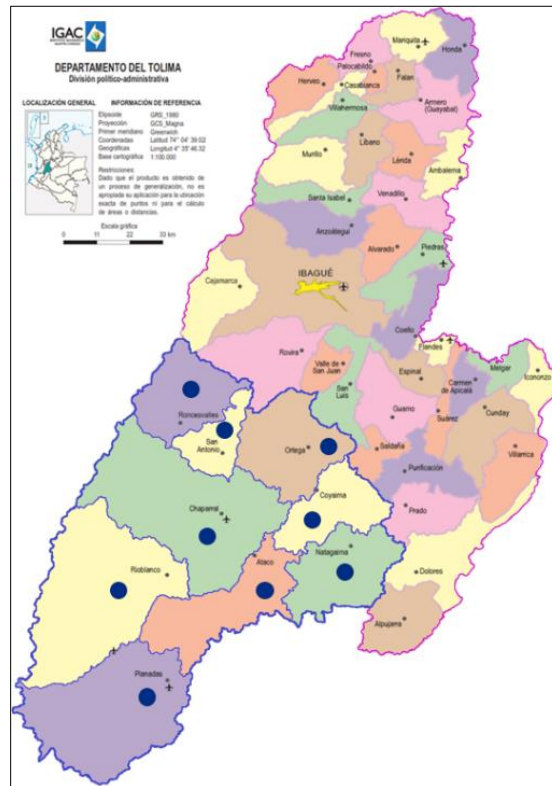
3. METODOLOGÍA

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

En el presente estudio se definieron los siguientes 9 municipios: Coyaima, Ataco, Rioblanco, Ortega, Planadas, San Antonio, Chaparral, Natagaima y Roncesvalles; ubicados en la zona sur del departamento del Tolima. En los que se visitaron, comedores de IE, asociados al PAE, así como comedores de CDI, pertenecientes al ICBF.

En el caso de los comedores pertenecientes a instituciones educativas, se logró tomar muestras en 7 de ellos, pertenecientes a solo 4 de los 9 municipios, debido a que durante el período de muestreo hubo un recorte del presupuesto nacional destinado al PAE, razón por la que no se suministraron alimentos en los restaurantes escolares de la zona urbana y rural. En el caso de comedores pertenecientes al ICBF, se tomaron muestras en 12 CDI, cubriendo así la totalidad de municipios definidos.

Figura 3. Ubicación de la zona sur del Tolima.



Nota: En azul se resalta los municipios objeto de este estudio.

Fuente: Modificado de Instituto Geográfico Agustín Codazzi.

Tabla 7. Número de establecimientos muestreados por municipio y tipo de institución

Municipio	Cód.	ICBF	I.E	Total
San Antonio	A	1	2	3
Planadas	B	1	2	3
Roncesvalles	C	1	2	3
Chaparral	D	2	0	2
Ortega	E	1	1	2
Coyaima	F	2	0	2
Natagaima	G	1	0	1
Ataco	H	2	0	2
Ríoblanco	I	1	0	1
Total		12	7	19

Fuente: Autor-GEBIUT

3.2 TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de muestras se determinó a través de la fórmula descrita por Thrusfield, (2007), citado en Rodríguez, (2015):

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{d^2}$$

En donde: Z^2 es el coeficiente del nivel de confianza fijado anteriormente (1.962) que corresponde a una confianza del 95%. p es la proporción esperada estimada, para este caso fue de 11,6%, que está basada en la prevalencia de *L. monocytogenes* determinada por (Márquez & Rivera, 2011) en un estudio de derivados cárnicos en el departamento del Tolima. q es igual a 1 menos la proporción esperada (1- p), y d es la precisión o error que en este estudio es del 5% (0.05).

$$n = \frac{(1.962)^2 \times 0,116 \times 0.884}{0.05^2} = \frac{0.3947}{0.0025} = 157.89$$

Así se definió el análisis de muestras, incluyéndose para cada establecimiento, la recolección de materia prima (carnes crudas, harinas para colada), alimentos Listos Para el Consumo (LPC), (quesos, yogur, kumis), alimentos preparados(ensaladas, carnes cocidas, sopas, coladas) y muestras ambientales que tienen contacto directo con el alimento como utensilios (Tablas de picar, cuchillos) y mesones.

3.3 DISEÑO DE ENCUESTA Y APLICACIÓN

Durante la recolección de muestras llevada a cabo en cada establecimiento, se aplicó una encuesta de tipo descriptivo (Anexo A), la cual fue diseñada con base en anteriores encuestas aplicadas por Moreno, (2013) y Puentes, (2014), en estudios que tuvieron como objetivo determinar la presencia de *L. monocytogenes* en carnes y derivados porcinos del Tolima y en restaurantes en la ciudad de Ibagué, respectivamente. Los datos fueron obtenidos a partir de respuestas de los manipuladores, registros fotográficos y observaciones realizadas en el momento de la toma de muestras. Todos los trabajadores encuestados firmaron un consentimiento informado (Anexo B).

3.4 PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

De forma aséptica se tomaron aproximadamente 100 g para muestras sólidas y 100 ml de muestras líquidas, que se depositaron en bolsas con sello hermético, conservándose en refrigeración hasta su procesamiento, para la identificación y aislamiento de *L. monocytogenes* en el Laboratorio de Microbiología y Micorrizas del Grupo GEBIUT de la Universidad del Tolima.

Para las muestras ambientales se realizó un frotis de la superficie del utensilio o área del mesón, con el uso de una esponja estéril previamente humedecida en tubos que contenían agua peptonada buferada, igualmente se conservaron en refrigeración hasta llegar al laboratorio, donde se colocaron a 37°C por aproximadamente 18 horas y se procedió a realizar un segundo enriquecimiento en caldo Fraser.

3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se utilizó el protocolo establecido por la norma ISO 11290-1: 2004, descrito en Anmat (2011). Como control positivo se utilizó la cepa de *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. Este protocolo consta de dos etapas de enriquecimiento, un aislamiento selectivo, confirmación de *Listeria* spp. y confirmación de *L. monocytogenes*, que son descritas a continuación:

Enriquecimiento primario: Dilución de 1/10, se pesaron 25 g o ml de la muestra, se agregó 225 ml de caldo Fraser semi y se homogenizaron. Incubados durante 24 h \pm 2 h a 30°C \pm 2°C.

Enriquecimiento secundario: se agregó 0,1 ml del cultivo obtenido en el enriquecimiento primario a 10 ml de caldo Fraser con concentración completa y se incubaron a 37°C, 48 h \pm 2 h.

Aislamiento selectivo: A partir del caldo Fraser completo se estrió una gota de aproximadamente 0,1 ml en agar cromogénico, considerándose presuntivo para *Listeria* las colonias azules. No se utilizó el medio selectivo cromogénico, recomendado en la ISO, pero si el Brilliance *Listeria*, que tiene igual fundamento para identificar las especies de *Listeria* basado en la detección de la enzima β -glucosidasa (Ortiz, 2016).

De forma paralela se sembró, en agar selectivo PALCAM, en que se consideró presuntivo el crecimiento de colonias verdes grisáceas, a veces con centro negro, rodeadas de halo un oscuro. Se incubaron por 24 a 48 horas a 37^a C.

Confirmación de *Listeria* spp.: se seleccionaron colonias sospechosas, que se sembraron en agar TSAYE (Trypticase Soja Agar + Extracto de Levadura) y se incubaron a 37°C entre 18 h y 24 h. Pasado este tiempo se realizaron las siguientes pruebas:

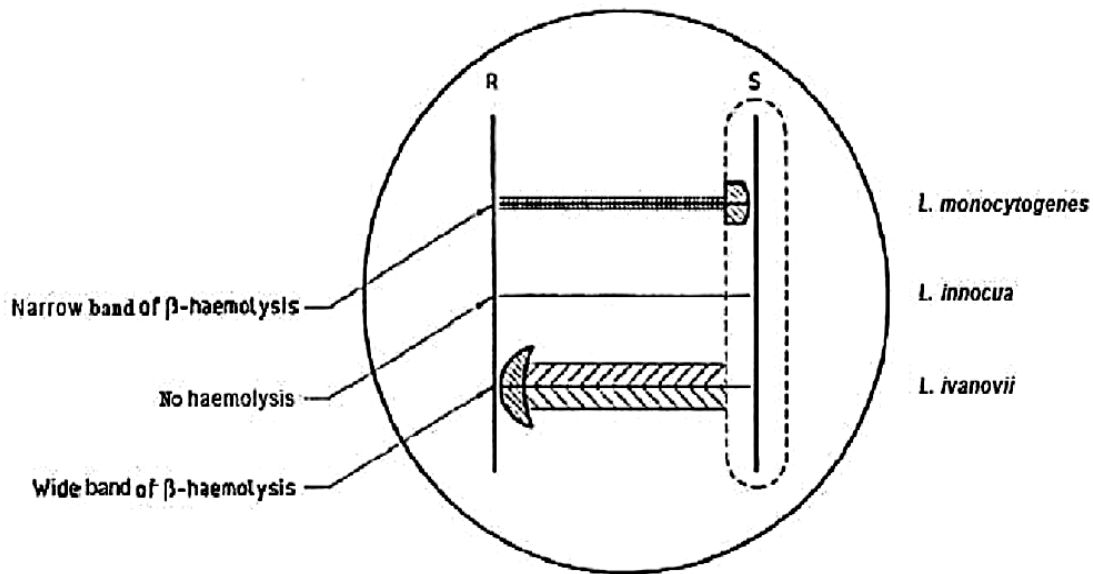
- Test de Iluminación de Henry: Se observó a la luz blanca, la presencia de iluminación color azul-verdoso en un ángulo de 45° o 60°.
- Catalasa: Se utilizó peróxido de hidrógeno al 3%, y se observó la aparición de burbujas como positivo.
- Tinción de Gram. Se observó al microscopio bacilos pequeños o cocobacilos Gram positivos.
- Movilidad: se inoculó una colonia en medio SIM (Sulfuro-Indol-Movilidad) y se incubó a 25°C durante 48h, hasta 5 días cuando no se observó crecimiento, realizando observación diariamente. *Listeria* spp. tiene un crecimiento en forma de paraguas, inmediatamente debajo de la superficie del agar.

Confirmación de *L. monocytogenes*: las muestras que tuvieron un confirmativo para el género *Listeria*, se sometieron a las siguientes pruebas:

- Utilización de carbohidratos: Se sembró una colonia de a partir de TSAYE en caldo rojo de fenol con los respectivos carbohidratos (L- Ramnosa y D-Xilosa) y se llevó a incubación a 37°C, durante 24 horas, cuando no se observó cambios se incubaron hasta 5 días.

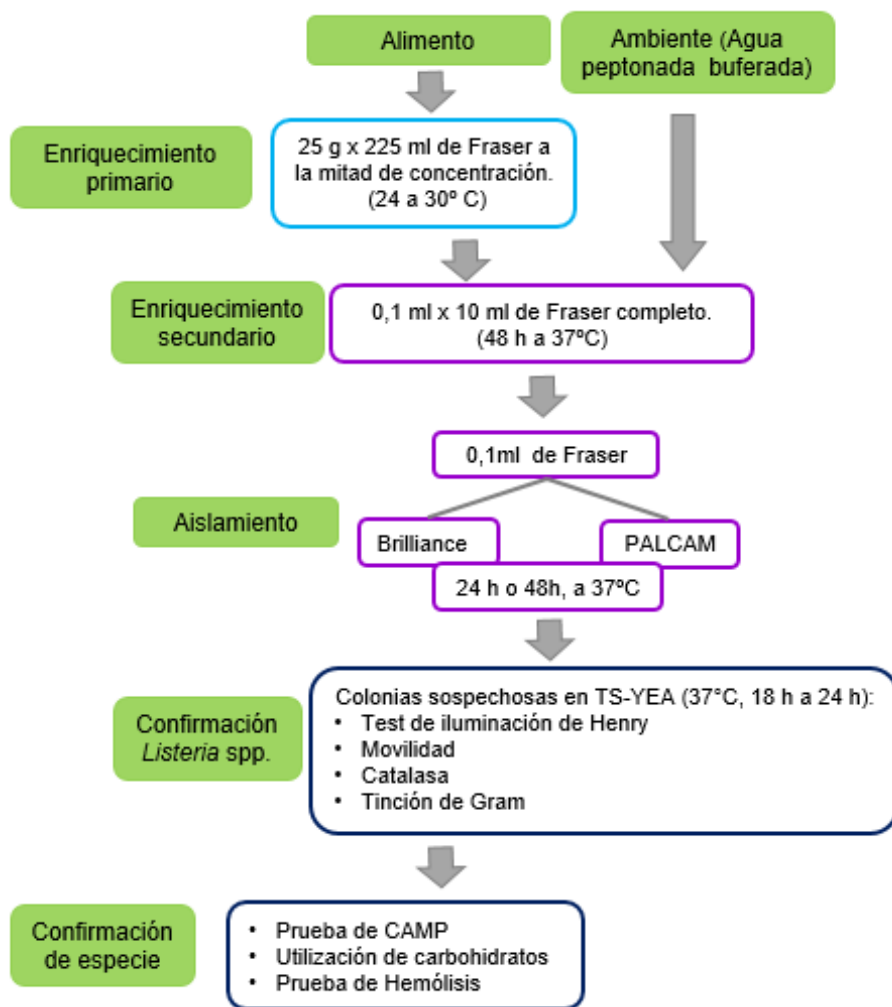
- Test de Hemólisis: En agar con el 5% de sangre desfibrinada de cordero, se sembró con aguja algunas colonias y un control positivo. Se incubaron a 37° C durante 24 h ± 2 h.
- Test de CAMP (Christie, Atkins, and Munch-Peterson): Se sembraron dos líneas rectas y paralelas en agar sangre, una estría de *Staphylococcus aureus* y otra de *Rhodococcus equi*, a una distancia suficiente para colocar de forma perpendicular a estas, cada una de las cepas sospechosas y el control, separados aproximadamente 2 mm de *S. aureus* y *R. equi*. Se incubaron por 24 horas a 35–37°C. Considerándose una reacción positiva la presencia de una zona acrecentada de beta hemólisis en la intersección con *S. aureus*.

Figura 4. Interpretación de resultados en prueba de CAMP



Fuente: Administración Nacional Medicamentos y Tecnología Médica, 2011.

Figura 5. Protocolo aislamiento e identificación de *L. monocytogenes*



Fuente: Autor-GEBIUT

3.6 ANÁLISIS DE DATOS

La organización de los datos de forma individualizada, el cálculo de frecuencias y listados, se realizó mediante el programa Microsoft Excel versión 2010.

La prevalencia de determino mediante la siguiente fórmula (Carrascal et al; 2007)

$$P = \frac{\text{Número de cepas positivas}}{\text{Muestras analizadas}} \times 100$$

De acuerdo con los diferentes aspectos contemplados en el del decreto 3075/97, los resultados de las encuestas se organizaron en tres categorías:

Categoría 1: Condiciones generales y específicas (abastecimiento de agua, área de preparación).

Categoría 2: Operaciones de preparación (cadena de frío, desinfección de utensilios, equipos y superficies).

Categoría 3: Personal manipulador, teniendo en cuenta capacitación, prácticas higiénicas y medidas de protección.

Se observó la procedencia de la materia prima pero no se tuvo en cuenta dentro de las categorías antes mencionadas, puesto que ésta no se especifica en la artículos que regulan las BMP para restaurantes.

En total se realizaron 19 encuestas (100%) en cada uno de los restaurantes escolares y CDI donde se colectaron muestras, los datos relacionados a los items categorizados en la encuesta fueron tabulados para determinar la frecuencia de establecimientos que cumplían o no con estos.

4. RESULTADOS

4.1 MUESTRAS ANALIZADAS

Se recolectaron un total de 166 muestras, distribuidas entre materia prima (59), alimento preparado (22), Alimentos LPC (41) y muestras de ambientes (44), detalladas en la tabla 8.

El municipio de chaparral aportó la mayor cantidad de muestras con 31 en total y Natagaima y Rioblanco, el menor número con 12 muestras. En los CDI se recolectaron 129 muestras, frente a 37 tomadas en las Instituciones Educativas (tabla 9), representando el 78,11% y 21,89%, respectivamente.

Tabla 8. Cantidad y tipo de muestras analizadas.

Tipo	Muestra	Cantidad
Materia prima	Leche polvo	11
	Pollo crudo	12
	Carne cruda	9
	Hígado	2
	Harina colada	17
	Huevo	8
Alimento preparado	Pollo cocido	5
	Carne cocida	6
	Colada	2
	huevo	3
	otros	6
ALC	Quesos	11
	Yogur	9
	Kumis	5
	Leche entera	4
	Ensalada	7
	Pan	2
	Otros	3
Ambientes	Utensilios	27
	Mesón	17
Total		166

Fuente: Autor-GEBIUT

Tabla 9. Cantidad de muestras por municipio y tipo de establecimiento.

Municipio	CDI	I.E	Total	%
San Antonio	10	11	21	12,65
Planadas	9	14	23	13,86
Roncesvalles	9	6	15	9,04
Chaparral	31	0	31	18,67
Ortega	8	6	14	8,43
Coyaima	18	0	18	10,84
Natagaima	12	0	12	7,23
Ataco	20	0	20	12,05
Ríoblanco	12	0	12	7,23
Total	129	37	166	100,00

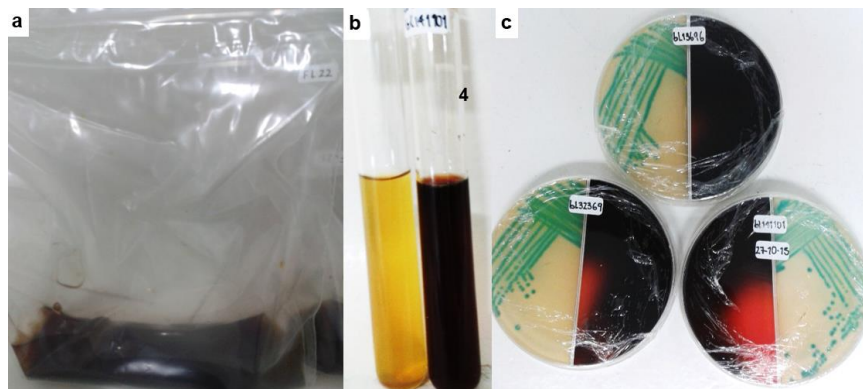
Nota: I.E: Institución Educativa. CDI: Centro de Desarrollo Infantil.

Fuente: Autor-GEBIUT

4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

62 muestras de las 166 analizadas fueron presuntivas para *Listeria* spp. en caldo Fraser completo, presentando oscurecimiento del medio. En la etapa de aislamiento selectivo, 14 muestras presentaron colonias sospechosas en el medio de cultivo PALCAM y 22 en agar cromogénico (Figura 6).

Figura 6. Resultados positivos en medios de enriquecimiento y selectivos

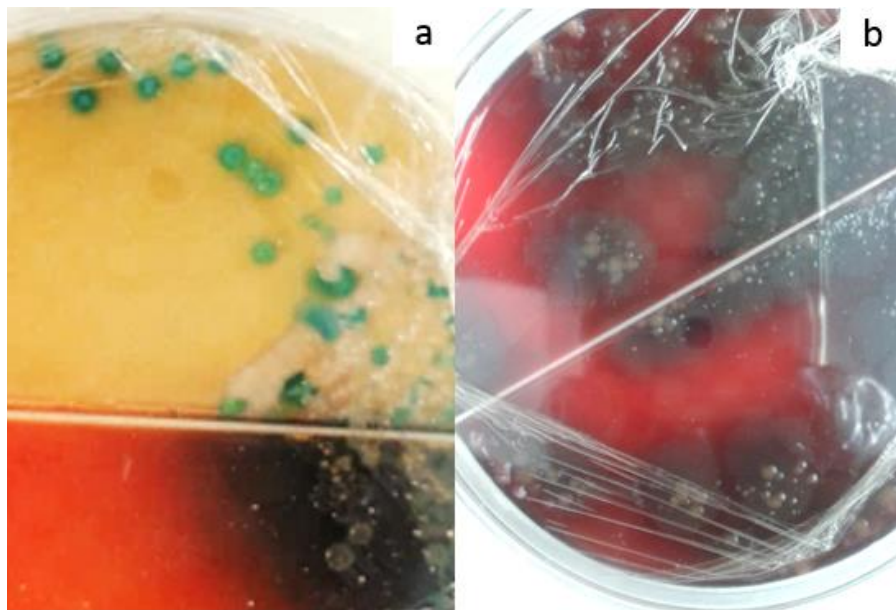


a. Enriquecimiento primario. b. Cambio de coloración en Fraser completo. c. colonias típicas en medios selectivos (PALCAM y Brilliance).

Fuente: Autor-GEBIUT

Fue difícil el aislamiento de las cepas de *Listeria* spp., ya que se presentó una alta contaminación en los medios de cultivo. En más del 50 % de las muestras se presentó el crecimiento de otros microorganismos en medios selectivos. En la figura 7 se observan algunas muestras con colonias sospechosas que no fue posible aislar debido a dicha contaminación.

Figura 7. Muestras con colonias sospechosas y contaminación de otros microorganismos

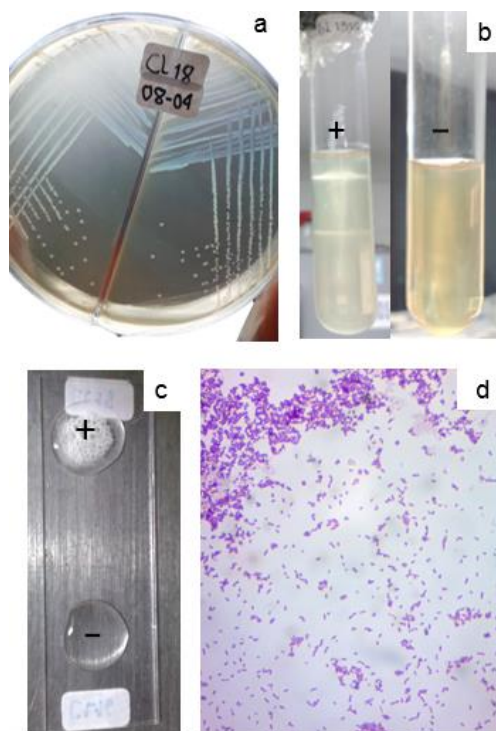


a. Muestra de pollo crudo en medios selectivos Brilliance y PALCAM b. Muestra de utensilio en medio selectivo PALCAM.

Fuente: Autor-GEBIUT

22 muestras, fueron sembradas en TSAYE, observándose de forma clara la iluminación azul en 11 de estas. Se logró establecer la presencia de la enzima catalasa en 14 muestras. Mediante la tinción de Gram, en 9 muestras, se visualizó bacilos cortos Gram positivos característicos del género *Listeria* y en 8 de estas se observó movilidad en forma de sombrilla (Figura 8 c). Así, se confirmó en estas 8 muestras la presencia del género *Listeria* spp.

Figura 6. Resultados positivos en las pruebas de confirmación del género *Listeria*



a. Test de iluminación de Henry. b. Prueba de movilidad. izq. crecimiento en sombrilla. c. Prueba de catalasa. d. Tinción de Gram, bacilos cortos Gram positivos. Software ZEN 2012 (Blue edition, Carl Zeiss, Alemania).

Fuente: Autor-GEBIUT.

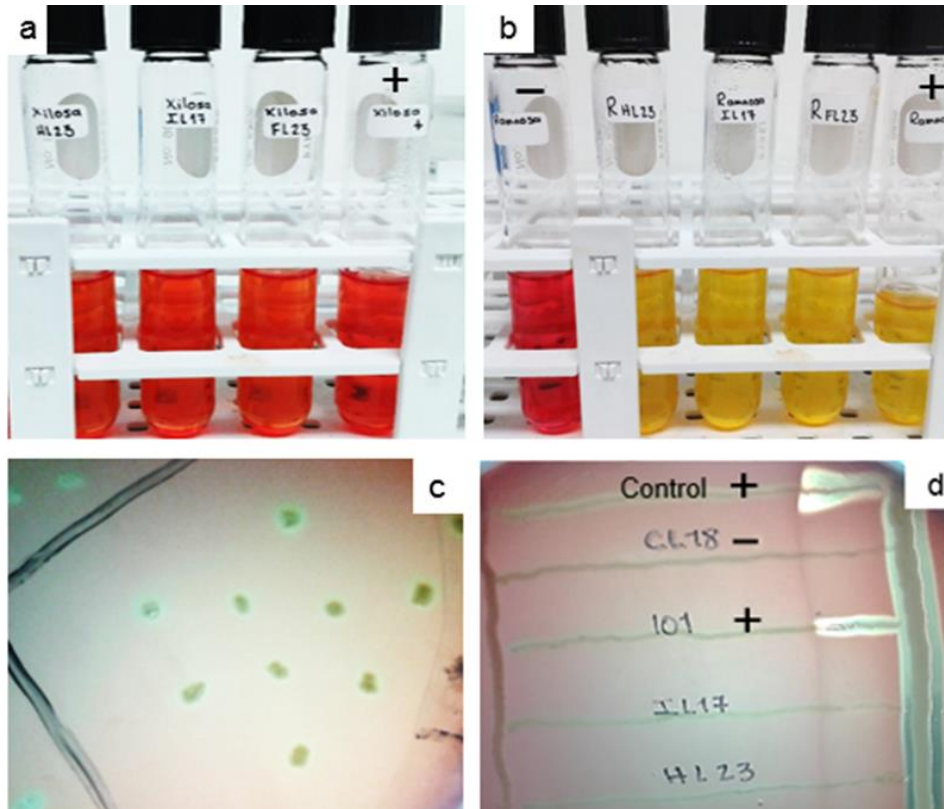
Las cepas aisladas de *Listeria* spp., fueron sometidas a pruebas de fermentación de azúcares, hemólisis y CAMP, para la identificación de la especie *L. monocytogenes* (figura 9). En la primera prueba, se evidenció la fermentación de ramnosa y no de xilosa en 6 muestras, típico de *L. monocytogenes*. Mientras que una cepa fermentó xilosa y no la ramnosa y una última no evidenció fermentación de ninguno de los azúcares, siendo descartadas estas como positivo para *L. monocytogenes*.

En la prueba de hemólisis, se observaron 5 cepas gamma hemolíticas y una cepa con hemólisis intermedia distintiva para *L. monocytogenes*.

Para la prueba de CAMP, solamente en una cepa hubo reacción beta hemolítica sinérgica con las cepa de referencia *S. aureus*, el resto no presentaron una reacción beta

hemolítica sinérgica con las cepas de referencia utilizadas (figura 9d), por lo que solamente se consideró una muestra como positiva para *L. monocytogenes*.

Figura 7. Resultados en pruebas de confirmación de especie



a. Resultados prueba fermentación de xilosa. b. resultados fermentación de Ramnosa. c. Prueba de hemólisis. d. Test de CAMP.

Fuente: Autor-GEBIUT

4.3 PREVALENCIA DE *L. monocytogenes* Y *Listeria* spp.

Del total de muestras analizadas se lograron realizar 8 (4,8 %) aislamientos de *Listeria* spp., dentro de los cuales el 12,5 % correspondió a *L. monocytogenes*, 62,5 % a *L. innocua* y el 25%, a cepas en las que no se determinó la especie. Como se observa en la tabla 10, el mayor número de aislamientos correspondió a materia prima, que en total presentó 4 muestras positivas para el género, de las que una correspondió a la especie *L. monocytogenes*. Planadas fue el municipio con más aislamientos, en total 3, cabe

resaltar que 2 de los aislamientos, incluido el de *L. monocytogenes* provenían de un solo establecimiento, igual que las muestras de ambientes positivas para *L. innocua*.

Tabla 10. Número y porcentaje de aislamientos positivos para las especies de *L. monocytogenes*, *L. innocua* y *Listeria* spp., según el tipo de muestra

Muestras positivas	<i>Listeria</i> spp		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Listeria innocua</i>		Municipio
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Ensalada	1	14,28					Planadas
Pollo crudo	2	16,6	1	8,33			Planadas
Mesón	1	5,88			1	5,88	Roncesvalles
Cuchillo	1	3,7			1	3,7	Roncesvalles
Carne cruda	2	22,2			2	22,2	Planadas-Ataco
Queso	1	9,09			1	9,09	Rioblanco

Fuente: Autor-GEBIUT

De acuerdo con el total de alimentos analizados, se observó para *L. monocytogenes* una prevalencia de 0.8 %, para el género *Listeria* de 6,55%, para *L. innocua* de 2,4% y otras especies no identificadas correspondieron al 1,6%. En muestras ambientales se aisló *L. innocua*, que correspondió al 4,5 %, no se identificó *L. monocytogenes*; En alimentos preparados y LPC tampoco se detectó el patógeno, pero si en dos muestras de *Listeria* spp. provenientes de ensalada y queso.

El porcentaje de muestras positivas en los CDI fue de 3,87% y en las Instituciones Educativas fue de 8,1%. La prevalencia de *L. monocytogenes* fue de 2,70 % y de 5,4 para *Listeria* spp., en comedores escolares. En CDI no se aisló ninguna cepa de *L. monocytogenes*, el porcentaje antes mencionado correspondió a *L. innocua*.

4.4 DIAGNÓSTICO DEL CUMPLIMIENTO DE BPM EN RESTAURANTES ESCOLARES Y CDI

A continuación se presentan resultados obtenidos a partir de las encuestas evaluando el estado actual de las BPM, los cuales fueron relacionados con la presencia o ausencia de

L. monocytogenes y *Listeria* spp, además tenidos en cuenta como posibles factores de riesgo para la contaminación de los alimentos.

Categoría 1: Condiciones generales del área de preparación y Calidad de agua

Se logró observar que algunos establecimientos no estaban diseñados de manera adecuada, como lo contempla el decreto 3075/97, en el artículo 37, que hace referencia a las condiciones específicas para el área de preparación, ya que se observaron que algunos pisos eran oscuros o tenían grietas, techos y paredes se encontraban en mal estado y los espacios eran muy reducidos para la preparación y almacenamiento de los alimentos.

Figura 8. Áreas de preparación de restaurantes escolares y CDI de la zona sur del Tolima.



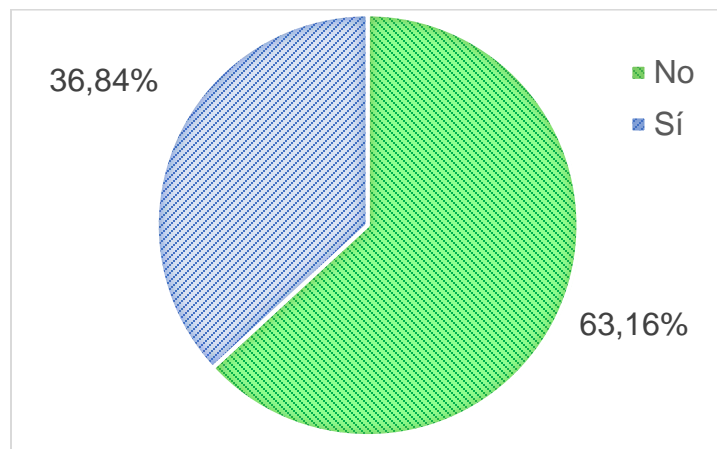
a. Áreas adecuadas de preparación (CDI) b. áreas inadecuadas (restaurante escolar y CDI).

Fuente: Autor-GEBIUT

Sin embargo, en su mayoría, principalmente en los CDI, las instalaciones cumplían la reglamentación al estar diseñadas con paredes cubiertas por cerámicas claras, pisos claros, no deslizantes y sin grietas, mesones de fácil lavado.

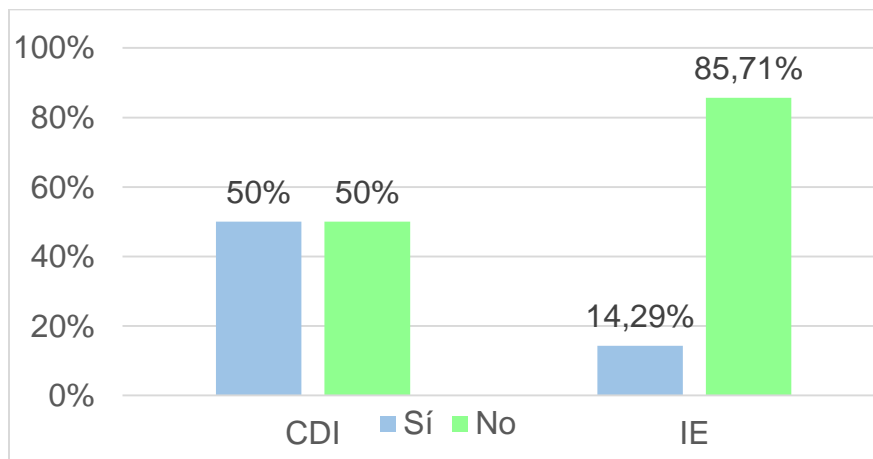
Por otro lado, en las respuestas obtenidas, más de la mitad de los lugares muestreados, no cuentan con agua de calidad potable, correspondiendo a los municipios de Planadas, Roncesvalles, Ataco, Coyaima y las instituciones rurales pertenecientes a San Antonio y Ortega, (Figura 10). Las Instituciones Educativas, presentaron un 85,7 % de agua no potable, mientras que en los CDI el 50% respondió no tener abastecimiento de agua potable (Figura 12).

Figura 9. Porcentaje general de agua potable en los lugares de muestreo.



Fuente: Autor-GEBIUT

Figura 10. Porcentaje de agua potable en CDI e IE.

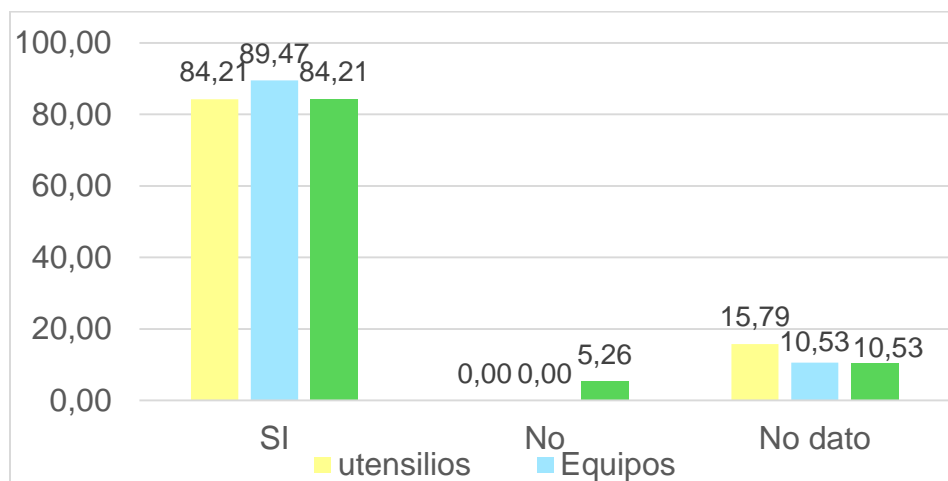


Fuente: Autor-GEBIUT

Categoría 2: Limpieza y desinfección de utensilios, superficies y equipos y cadena de frío.

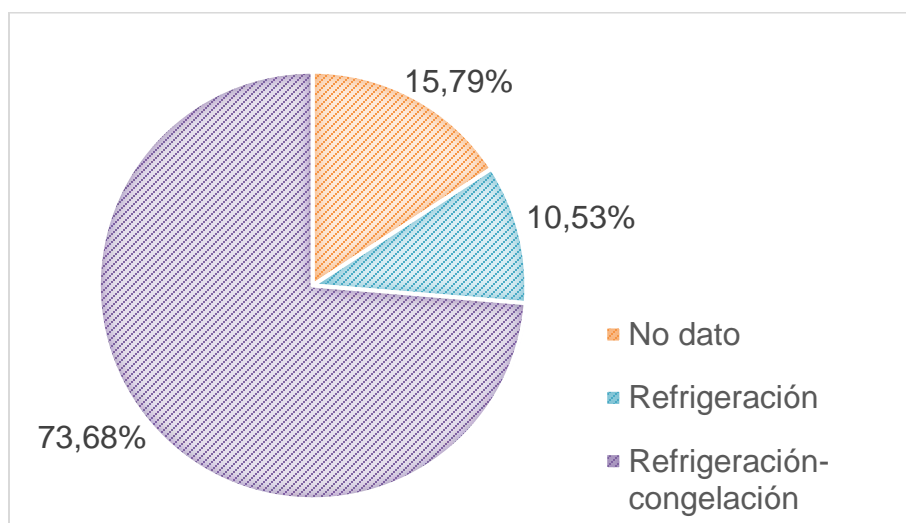
De acuerdo con los resultados de la encuesta, se encontró que el 88,47 % de los lugares de muestreo realizan desinfección de equipos y el 84,21 % de utensilios y superficies. El 5,26 % menciona que no hace este proceso en superficies, el porcentaje restante corresponde a datos no registrados, como se aprecia en la figura 13. El agente desinfectante utilizado es el hipoclorito de sodio en todos los casos en que se registró este ítem.

Figura 11. Porcentaje de desinfección de equipos, utensilios y superficies.



Fuente: Autor-GEBIUT

Figura 12. Porcentaje de establecimientos que utilizan refrigeración y congelación para conservar los alimentos.



Fuente: Autor-GEBIUT

En cuanto a la frecuencia con que se lleva a cabo este proceso en diferentes áreas, el mayor porcentaje expresó que se realiza diariamente, en el 58 % de los casos para utensilios, 47,37 % en equipos y 52,63 % en superficies.

Respecto al tipo de cadena de frío utilizada para el almacenamiento de los alimentos, en su mayoría (73,68 %) respondieron al uso tanto de refrigeración y congelación (Figura 14).

Categoría 3: Manipuladores de alimentos

En medidas de protección y buenas prácticas higiénicas, el 100% de ellos menciona el uso del uniforme de manera correcta, en algunos casos esto no se correspondió con lo observado, ya que en un 15% no cumplían completamente con todas las pautas como el uso de zapatos cerrados o portar uniformes completamente claros (figura 15 a). Sin embargo, en la mayoría de los casos el uso del uniforme era correcto como se evidencia en la figura 13 b.

Figura 13. Uso de uniforme en los restaurantes escolares y CDI de la zona sur del Tolima



a. Uso inadecuado del uniforme (restaurante escolar y CDI) b. Uso adecuado de uniforme (CDI).

Fuente: Autor-GEBIUT

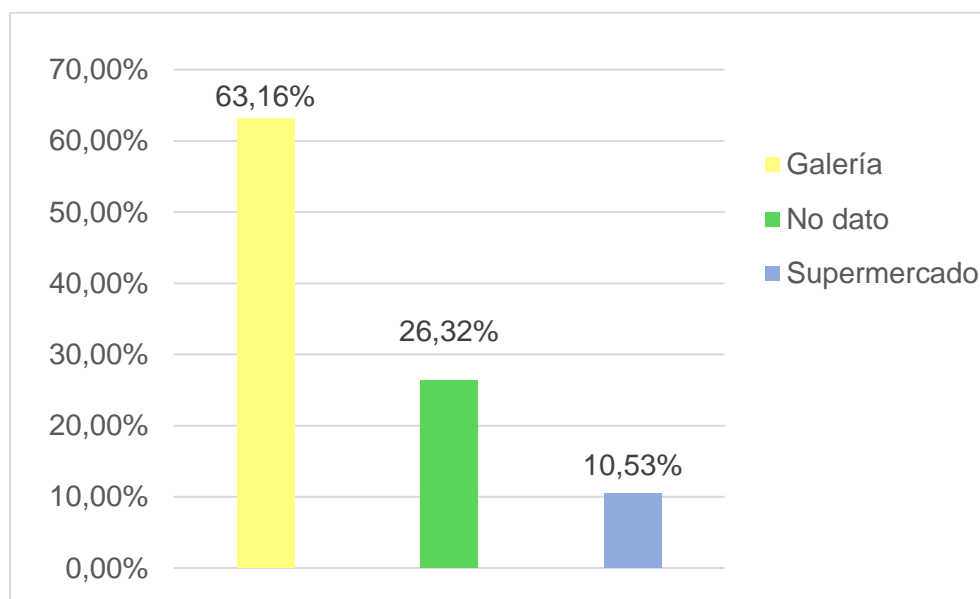
A la aplicación de las medidas necesarias para evitar o disminuir el riesgo de contaminación, la respuesta fue sí en todos los establecimientos y se evidenció en varios de estos el uso de avisos alusivos a la correcta aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura, durante los procesos de preparación de los alimentos.

En lo que se refiere a la capacitación, en el 78,94% de los casos menciona que tienen vigente la capacitación y que esta es realizada cada año (52,63%), seis meses (21,05) y 3 meses (5,26%). Es de mencionar, que en el PAE, se señala que los manipuladores deben de tener una capacitación vigente mínima de 6 meses, en dos de las IE mencionaron recibirla anualmente.

4.5 PROCEDENCIA DE LA MATERIA PRIMA

En la mayoría de los lugares encuestados responden que las carnes proceden de la galería o plaza de mercado del municipio. Como se muestra en la figura 14, el porcentaje de establecimientos que menciona que la procedencia de la carne es la galería es de 63,16%.

Figura 14. Porcentaje general de procedencia de carne



Fuente: Autor-GEBIUT

5. DISCUSIÓN

L. monocytogenes es considerado un microorganismo emergente, cuya presencia en alimentos representa un riesgo para la salud pública. A pesar que se ha demostrado su presencia en un amplio tipo de alimentos tanto frescos como procesados, así como en agua y lugares en donde se procesan alimentos de forma inadecuada, y que tal ubicuidad es debida a características de resistencia a diversas condiciones (AESAN, 2009), en el presente estudio se encontró solamente una cepa positiva, siendo muy baja la prevalencia de *L. monocytogenes* para el total de alimentos analizados (0,8%). Este resultado es similar a los reportados por Campos, Rodríguez, Sierra y Arias, (2003) al evaluar la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores escolares de Tenerife, ya que no hallaron muestras positivas para *L. monocytogenes*, pero encontraron un alto porcentaje de aerobios mesófilos y coliformes totales que podrían haber enmascarado la presencia de esta especie, de manera que la baja prevalencia hallada puede estar relacionada con una alta carga microbiana, como se constató en el presente estudio en el que en más del 50% de las muestras sembradas en medios de cultivo selectivo, se observó el crecimiento de otro tipo de microorganismos, a pesar del uso de antibióticos. Esta situación no es un caso aislado, otros estudios reportan problemas similares, así Pérez- Rubiano et al, (2008) al analizar la prevalencia de *Listeria* spp. en pollo congelado, evidencian un alto crecimiento de otras bacterias como *Pseudomona* spp. género que ha sido establecido como un competidor importante, el cual puede impedir la recuperación de *Listeria* en los medios de cultivo aunque esta se encuentre presente en los alimentos. Martino et al., (2008), mencionan también la dificultad para aislar *L. monocytogenes* mediante métodos tradicionales, debido al crecimiento de flora acompañante. Carrascal, et al., (2007), encontraron una baja prevalencia de *L. monocytogenes* en leche cruda con un número mayor de otras especies del género, sustentando este resultado también al hecho de que esta bacteria debe competir por nutrientes con otras especies, cuyo tiempo de duplicación es más corto como en el caso de los coliformes. Es de mencionar que paralelo al presente estudio también se realizaron pruebas para determinar la presencia de coliformes en

estos alimentos y en el agua, encontrándose una alta contaminación con microorganismos de este tipo (en publicación), de manera que estos pudieron enmascarar la presencia de *L. monocytogenes*.

Por otro lado, la baja prevalencia hallada contrasta con valores superiores obtenidos en otras investigaciones realizadas en restaurantes, como el caso del estudio hecho por Lahou, Jaxsens, Verbunt y Uytendaele (2015) en la cocina de un hospital de Bélgica, en el que la incidencia de *L. monocytogenes* en alimentos fue de 3,6 %, y el de Kotzekidou (2013), que hallaron una prevalencia de 6,8 %, en alimentos LPC de comedores universitarios de Grecia.

En cuanto a la prevalencia del género *Listeria* encontrada en el presente estudio esta fue de 6,55%, correspondiendo a 8 aislamientos, siete de los cuales eran cepas de especies diferentes a *L. monocytogenes*, como sucede con otros microorganismos, las diferentes tasas de crecimiento de las cepas de las especies de *Listeria* spp. es un aspecto que influye en la recuperación de la especie (Von Chong, García, Batista & Broce, 2012). Por ejemplo, *L. innocua* que en este caso se encontró en mayor proporción (2,4%) que el patógeno (0,8 %), es una especie que comparte el nicho ecológico con *L. monocytogenes* y se ha demostrado tiene ventaja competitiva frente a esta, por tener mayor velocidad específica de crecimiento (Gallegos et al., 2007). Según, Von Chong et al., (2012) las interacciones con el alimento en la fase de enriquecimiento y la producción de bacteriocinas, son aspectos que afectan la ecología de las especies de este género en la matriz alimentaria, beneficiando el crecimiento y recuperación de unas en detrimento de otras. Teniendo en cuenta la presencia en mayor proporción de otras especies del género *Listeria* en muestras de alimentos y ambientes, es posible que esta competencia haya influido en el resultado. Una mayor presencia de especies diferentes a *L. monocytogenes*, es de importancia debido a que la presencia de cualquier especie de *Listeria* puede ser un indicador de condiciones higiénicas inadecuadas que son un riesgo para la presencia de la especie patógena (Little et al., 2007 citado por Kovacevic, Burazin, Pavlović, Kopjar y Pilizota, (2013) así, estas especies pueden sugerir deficiencias en la higiene lo que incide de forma directa en la calidad del producto

(Martino et al, 2008; Godínez, 2014). También la importancia de estas especies es debida a que pueden servir como indicadores de la posible presencia de *L. monocytogenes* (Donnelly y Diez-González, 2013). Godínez (2014), concluye que encontrar cualquier especie de *Listeria* indica una potencial presencia de *L. monocytogenes*, pero esto depende del tipo de muestra. Otros autores Sauders et al; (2012), afirman que *L. innocua* puede ser un mejor indicador de la presencia de *L. monocytogenes*, que otras especies como *L. seeligeri* y *L. welshimeri*, las cuales ocupan nichos distintos a *L. monocytogenes*

Como se mencionó anteriormente *L. innocua* fue la especie encontrada con más frecuencia, según Jay et al., (2005) está ha sido aislada en productos lácteos, en carnes, productos de la pesca, queso semicurado, huevo entero y hortalizas, en este caso se aisló de cárnicos y quesillo. Diferentes estudios también han determinado la presencia de *L. innocua* con mayor frecuencia que *L. monocytogenes*, como el realizado por Sánchez, Mata, Espinoza & Villareal (2006) en productos cárnicos, quesos y equipos de una planta de producción de alimentos en México, y por Syne, Ramsubhag y Adesiyun (2011), en productos cárnicos listos para el consumo. En Colombia, Gallegos et al (2007), determinaron una prevalencia de 2.30% para *L. innocua* frente a un 0,0 % de *L. monocytogenes*, en un análisis de quesos distribuidos en plazas de mercado de los municipios de Montería y Cereté. En muestras de pescado del departamento de Santander, *L. innocua* fue hallada con una prevalencia de 17,6%, frente a una de 3,9 % para *L. monocytogenes* (Herrera y Suárez, 2012). Aunque otros estudios han determinado una mayor prevalencia de *L. monocytogenes* frente a *L. innocua* como es el caso del realizado por Muñoz et al, (2011), quienes determinaron la presencia de *L. monocytogenes* en un 11, 6% seguida de un 6% de prevalencia de *L. innocua*, esta es una especie frecuentemente encontrada en mayor proporción en estudios de prevalencia de *Listeria* spp. en alimentos.

Aunque tradicionalmente *L. innocua* no se ha considerado un patógeno, no se debe descartar su importancia, sobre todo en alimentos como quesillo que generalmente no son sometidos a ningún proceso de calentamiento momentos antes del consumo, ya que

existen reportes de que esta especie, ha sido asociada con enfermedades en humanos, como el caso ocurrido en Italia documentado por Favaro, Sarmati, Sancesario y Fontana, (2014) donde un adulto mayor con alto riesgo de listeriosis, presentó una meningitis causada por *L. innocua*. También el reportado por Perrín, Bemer y Delamare, (2003) en Francia, un caso fatal de bacteremia, en el que *L. innocua* fue la bacteria aislada.

En cuanto al tipo de alimento en el que se puede hallar *L. monocytogenes*, el pollo es considerado entre los de más alto riesgo, ya que sus características fisicoquímicas como un pH cercano a neutro, actividad de agua alta, y alto contenido de proteínas y grasas, permiten que la superficie de este se contamine con microorganismos, incluido *L. monocytogenes* (Mercado et al., 2012); probablemente esta es una razón por la que la cepa positiva fue aislada a partir de una muestra de pollo crudo y no en otro tipo de alimentos analizados; con una incidencia de 8,33 % en esta materia prima, relativamente alta al compararla con resultados de Centurión y Takahara, (2004), quienes determinaron una prevalencia de 2% en pollo crudo o los de Cantú et al., (2007), de 3%, en México o un estudio realizado en dos empresas de producción avícola de Colombia, en los que no se detectó la presencia de esta bacteria, en ninguna de las áreas de muestreo desde pollos de engorde hasta puntos de expendio (Realpe-Delgado et al., 2016). Sin embargo, la prevalencia hallada en este estudio contrasta con otras mucho más altas encontradas en Malasia de 20% (Goh et al., 2012), 29,3% en Turquía (Siriken, Ayaz y Erol, 2014) y en Colombia, donde según el INS (2015) existe un reporte realizado en el 2008, de una incidencia del 33, 3% de *L. monocytogenes* en pollo congelado a partir de muestras tomadas en la ciudad de Bogotá.

Otro grupo de alimentos a los que se les ha dado importancia son los LPC que tienen un riesgo considerable de contaminación debido a que al ser almacenados a temperaturas de refrigeración y el carácter psicrótrófico de *L. monocytogenes* incrementa el riesgo asociado a la bacteria (AESAN, 2009). Sin embargo, en este estudio no se detectó *L. monocytogenes* en estos alimentos y la prevalencia de *Listeria* spp fue de 4,8%, prevalencias que contrastan con los resultados encontrados por Muñoz et al., (2011), en alimentos LPC comercializados en la ciudad de Bogotá, la cual fue de 19,8% para *Listeria*

spp. y de 11,3% para *L. monocytogenes*. En el caso de los quesos, que se han asociado con varios brotes de listeriosis alrededor del mundo (INS, 2011; Parrilla, 2011); en este estudio, la incidencia de *L. monocytogenes* en quesos fue de 0,0 % y se encontró solo una muestra positiva para *L. innocua* en un quesillo. Estudios en este tipo de producto como el realizado en la provincia de Trujillo en Perú determinaron un 3,34% de aislados positivos en quesos frescos (Díaz, Chávez y Saucedo, 2012) En Colombia, según el INS, (2011), en la revisión realizada por la Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos (UERIA) encontraron que para el periodo de 2000 a 2009 de 3.700 muestras de queso analizadas, el 18,78% resultaron positivas para este patógeno. De estas muestras el 96% correspondió a queso fresco tipo campesino. Este queso es el que tiene mayor riesgo de contaminación por *L. monocytogenes*, razón por la cual es posible que no se haya encontrado el patógeno en los quesos analizados, ya que su mayoría no eran de este tipo. Otros estudios en quesos reportan incidencias de 0,0% en 217 muestras de queso costeño (Gallegos et al, 2007); 3,8 % en quesos frescos, 0,0% en quesos fundidos y 1 % en quesos madurados comercializados en Bogotá, a partir de 144, 3 y 15 muestras, respectivamente (Muñoz et al., 2011).

En cuanto a las harinas para coladas, que son frecuentemente suministradas a los niños y fueron los alimentos con un mayor número de muestras analizadas, no se aisló el patógeno y no se presentó crecimiento presuntivo en las primeras etapas de aislamiento. Muñoz, A.I., (2012) en la confirmación de *L. monocytogenes* en alimentos provenientes de distintos municipios de Colombia, solo aisló esta bacteria en una muestra de harina. Haciendo referencia, a las muestras ambientales, el hecho de que el género *Listeria*, es uno de los que tiene mayor tendencia a la formación de biopelículas (Villanueva, 2015), y que dentro de este la especie *L. monocytogenes* ha sido ampliamente distinguida por su habilidad para formar biopelículas en diferentes matrices, característica que puede protegerle de diversos factores como la desecación o procesos de desinfección (Pereira da Silva & Pereira da Martinis, 2013), se esperaba que tanto *L. monocytogenes* como otras especies de este género se encontraran con mayor frecuencia en superficies de mesones y utensilios, sin embargo no se detectó *L. monocytogenes* en ninguno de estos tipos de muestra y la prevalencia de *Listeria* spp., fue de 4,5%, aunque no siendo muy

diferente de otros estudios como el de Moreno, (2013), que encontró una prevalencia de 0,54 % para la especie patógena y de 4,24% para el género o el de Lahou et al., (2013), donde no se detectó *L. monocytogenes* en muestras de contacto directo con los alimentos. Probablemente, en el presente estudio, no encontrar *L. monocytogenes* así como la baja presencia de otras especies del género en muestras ambientales se deba al hecho de utilizar agua peptonada sin agregar algún antibiótico, para la realización del frotis y en la que se conservó hasta el análisis en el laboratorio; ya que esto pudo permitir el crecimiento de otros microorganismos que como se ha mencionado pueden enmascarar la presencia de *L. monocytogenes*.

Por otra parte, respecto al cumplimiento de la normatividad indicada en el decreto 3075/97, uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta es la calidad del agua, aunque en el artículo 36 se establece que el agua debe ser potable, los resultados de las encuestas muestran que en el 63,16 % de los establecimientos visitados no se cumple con el abastecimiento de agua potable. Siete de los ocho aislamientos de las especies de *Listeria* incluido el de *L. monocytogenes* fueron en esos lugares. Pérez-Rubiano et al., (2008) encontraron una alta prevalencia (43,95%) de *Listeria* spp. en pollo congelado proveniente de supermercado y mencionan la importancia del uso de agua potable en plantas de procesamiento y en todo el proceso de manipulación de alimentos. Adicionalmente, la mayor proporción de los aislamientos positivos en el presente estudio fueron de materias primas, en pollo crudo *L. monocytogenes* y una cepa de otra especie de *Listeria* que no se identificó, fueron colectadas en el mismo municipio y en otros municipios se encontró *L. innocua* en carne de res cruda; posiblemente estos resultados se relacionen con el lugar de procedencia de la carne, ya que según los encuestados el 63,16% de las carnes provienen de las galerías de los municipios y en todos los lugares en que se encontraron las muestras positivas, las encuestas ponen en evidencia las galerías como el lugar de procedencia de las carnes. Lo anterior coincide con Muñoz et al., (2011) quienes hallaron un mayor porcentaje de *L. monocytogenes* en alimentos listos para consumir provenientes en las plazas de mercado que en los procedentes de supermercados. En nuestro país, en la mayoría de estos expendios no se observa el cumplimiento de la aplicación de las BPM, en aspectos como el almacenamiento a

temperaturas adecuadas o la implementación de programas de saneamiento (Moreno, 2013), con el fin de evitar o disminuir el riesgo que pueden representar los alimentos. De manera que estas carnes pudieron haber sido contaminadas en etapas anteriores a la de preparación para el consumo, tales como la comercialización o en la producción. Estos alimentos, pueden ser un riesgo de contaminación por lo que se recomienda la correcta cocción de las carnes, observándose que temperaturas superiores de los 65°C eliminan esta bacteria (EFSA/ECDC, 2013).

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito se evidencia la importancia de la capacitación de los manipuladores, para este aspecto las respuestas de los encuestados reflejan que en la mayoría de lugares cumplen con el artículo 14, al mencionar que han recibido capacitación. Diferentes estudios en comedores escolares y restaurantes públicos de Colombia señalan que el personal manipulador cumple con un papel importante para garantizar la seguridad de los alimentos en todos los eslabones de la cadena incluyendo el momento de la preparación y que el conocimiento del riesgo de aplicar inadecuadas prácticas durante la manipulación de los alimentos reduce la posibilidad de contaminación (Flórez, Rincón, Garzón, Vargas y Enríquez, 2008; Sandoval y Vidal, 2010; Luna et al., 2011). Lo que hace evidente la importancia de que los manipuladores tengan claro y consideren necesario ejecutar de manera adecuada los diferentes procesos implicados en la preparación como lo es la desinfección y el almacenamiento, aspectos que en las encuestas indican que en un 84% de los lugares de muestreo se lleva a cabo la desinfección de utensilios y superficies y que en un 73,68 % de los establecimientos se utilizan refrigeración y congelación para el almacenamiento de los alimentos que así lo requieren, observándose que en la mayoría de los comedores las carnes se encontraban almacenadas a temperaturas de congelación, este factor es muy importante si se tienen en cuenta la capacidad de *L. monocytogenes* para crecer a bajas temperaturas, hasta en -1° C (INS, 2015). Todos estos elementos pudieron también haber incidido en la baja presencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp., en alimentos preparados y en utensilios o superficies que tienen contacto directo con los alimentos.

La capacitación es también importante para dar a conocer factores que frecuentemente son de riesgo para la salud humana como es la contaminación cruzada; Got et al., (2013), demostraron que utensilios como tablas de picar son potenciales vehículos de contaminación cruzada con *L. monocytogenes* a partir de carne cruda, también concluyeron que habitualmente esta bacteria puede ser llevada de la carne de pollo cruda contaminada a la carne de pollo cocida e incluso pueden contaminarse otros utensilios y superficies, lo que hace necesario que las manos y los utensilios con que se preparan los alimentos sean limpiados y lavados apropiadamente.

Finalmente, los resultados de las encuestas evidencian también que los establecimientos educativos presentan más falencias frente a los establecimientos pertenecientes al ICBF, en aspectos como el diseño de las instalaciones del área para preparación de alimentos, la aplicación de prácticas como el uso adecuado y completo del uniforme así como la calidad de agua que en el 85% de los lugares muestreados, estos mencionan no tener abastecimiento de agua, frente a un 50% en los CDI; de la misma manera en los resultados de análisis microbiológicos, se evidenció un mayor riesgo en alimentos ofrecidos en los comedores escolares, siendo la muestra positiva para *L. monocytogenes* proveniente de un establecimiento de este tipo, presentando una prevalencia 2,70 % y de 5,4 % para *Listeria* spp., mientras que los comedores del ICBF no presentaron muestras positivas para el patógeno y el porcentaje de *Listeria* spp. fue de 3,87%. Estos porcentajes mayores en los comedores del PAE, contrastan con el número de muestras el cual fue menor respecto a los CDI, ya que al momento de realizar los muestreos no se estaba ofreciendo el menú completo, es así como en algunas escuelas, especialmente en la zona rural, ofrecían solamente un complemento alimentario industrializado.

6. CONCLUSIONES

La prevalencia de *L. monocytogenes* fue muy baja (0,8 %) encontrándose en sólo una muestra de pollo crudo, sin embargo otras especies del género se encontraron en mayor proporción y se evidenció la presencia de contaminación por otros microorganismos no determinados, lo que puede representar un riesgo en algunos de los alimentos y evidenciar una inadecuada aplicación de BPM.

Las encuestas muestran un alto porcentaje de incumplimiento en el abastecimiento de agua potable, pero otros aspectos como la capacitación de los manipuladores se cumplen en la mayoría de los lugares.

En general, se hallan mayores falencias en cuanto a las BPM en comedores escolares, que se refleja en que la prevalencia de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* fue más alta. Independientemente de la contaminación por otros microorganismos no identificados, en general, se observó que las deficiencias en la aplicación de la normatividad, es un factor que puede generar un mayor riesgo para la presencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

La calidad de agua, la procedencia de las materias primas y la contaminación cruzada pueden ser los factores de riesgo más importantes para la contaminación de alimentos con microorganismo que afectan la salud infantil como *L. monocytogenes*.

RECOMENDACIONES

Se debe de buscar la manera que en todos los lugares se garantice el abastecimiento suficiente de agua potable para realizar todos los procesos de preparación de alimentos, es importante la frecuente capacitación de los manipuladores.

Este es un eslabón de la cadena de alimentos que debe seguir siendo objeto de estudio, para el caso del sur del Tolima, se recomienda realizar otros análisis teniendo un mayor número de muestras y evaluando la prevalencia de otros microorganismos como *Pseudomona* y *Campylobacter*, que no se abordaron dentro del macroproyecto en el que el presente estudio estaba incluido.

No se debe descartar la posibilidad de encontrar *L. monocytogenes* en otros puntos como la comercialización de carnes y lácteos o en las etapas de producción, en las que también sería conveniente realizar estudios de prevalencia en esta zona del departamento.

Realizar análisis moleculares a las muestras ya que estos pueden ser más confiables, teniendo en cuenta que el método convencional puede dar lugar a falsos positivos o falsos negativos.

REFERENCIAS

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición –AESAN. (2009). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo asociado a la presencia de *Listeria monocytogenes* en pescado fresco y congelado. Recuperado de http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/LISTERIA_MONOCYTOGENES_PESCADO.pdf
- Andrés, M. A. (2009). Actualización en bromatología hospitalaria. Glosa. España. Recuperado de https://www.uco.es/veterinaria/principal/normas-documentos/documentos/cursos/salidas-profesionales/sesion-3/2.1.-pdf_libro.pdf
- Administración Nacional de Medicamentos y Tecnología Médica -ANMAT. (2011). Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología analítica oficial. Microorganismos patógenos. 1. Recuperado de http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_i.pdf
- Briñez, K.; Guarnizo, J.; y Arias, S. (2012). Calidad del agua para consumo humano en el departamento del Tolima. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 30 (2), 175-182.
- Campos, J., Rodríguez, C., Sierra, A & Arias, A. (2003). Estudio microbiológico de las comidas servidas en los comedores escolares de la isla de Tenerife. *Revista Española de Salud Pública*, 77(6), 749-760.
- Cantú, R., Ávila, S., Sierra, G., Cruz, W., Rivera, Gildardo A.U & Bocanegra, V. (2007). Detección de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo crudo y de cuerpos de agua de la región mediante PCR. *Bioquímica*, 32 (SuA).
- Castro, A.; Hernández, H. Uribe, C.; Guerra, A. & Urueña, P. (2013). Encefalitis del tallo cerebral y mielitis por *Listeria monocytogenes*. *Biomédica*, 33 (3), 343-349.
- Carrascal, A.K., Albarracín, Y. & Sarmiento, P. (2007). Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leche de vaca expendida en el municipio de Pamplona, Colombia. *Bistua*, 5(2):49-57.

- Carrillo, G., Redondo, M. & Arias, M. (2010). Capacidad de formación de biopelículas de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas a partir de queso tierno de origen costarricense. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60 (2), 175-178.
- Centurión M, Takahara M. (2004). Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidas en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana. Trabajo de grado. Facultad de farmacia y bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
Recuperado de
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1108/1/Centurion_pm.pdf
- Cisternas, A. Lagos N.; Galstuch J.; González, C.; García C. & Díaz T. J. (2002). Infección por *Listeria monocytogenes* y embarazo con buen resultado perinatal. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 67(3), 237-241.
- Colón, A.V. (2015). Determinación de *Listeria monocytogenes* en lomo relleno expandido en supermercados de la ciudad capital de Guatemala. Trabajo de grado. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado de
<http://www.repositorio.usac.edu.gt/867/1/TESIS%20VIRGINIA.pdf>
- Cowan, M.K. (2015). *Microbiology: a systems approach*. 4a ed. Mc Graw-Hill Education.
- Crespo, M.; Vélez, J.D.; Castañeda, C.; Hoyos, F.; López, L. & Salazar, J.C. (1999). Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel. *Colombia Médica*, 30 (2), 89-98.
- Díaz, M.; Chávez, M., Saucedo, E. (2012). *Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú. *Ciencia y tecnología*, 9(2), 23-38.
- Documento Conpes social 109 (2007). Política pública nacional de primera infancia “Colombia por la primera infancia”. Recuperado de
http://www.mineducacion.gov.co/primerainfancia/1739/articles-177832_archivo_pdf_Conpes_109.pdf
- Domínguez, D.C. (2014). Efecto de la refrigeración y la aplicación de ácido láctico sobre la presencia de *Listeria monocytogenes* en canales bovinas en un centro de beneficio de Lima - Perú. Trabajo de grado. Facultad de medicina veterinaria.

- Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. Recuperado de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3936>
- Donnelly, C. W. & Diez-Gonzalez, F. (2013). *Listeria monocytogenes*. En Labbé, G.; García, S. & Labbe, R. *Guide to Foodborne Pathogenes* (pp.45-74). Wiley-Blackwell.
- Duque, D. & Varón, C. (2006). Estudio preliminar de la obtención y evaluación de los componentes de inmunoensayo en identificación de *Listeria monocytogenes* en ganado bovino. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.
- European Food Safety Authority -EFSA & European Centers Disease Prevention and Control -ECDC. (2012). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal*, 10 (3), 1-442.
- European Food Safety Authority -EFSA & European Centers Disease Prevention and Control -ECDC. (2013). Scientific report of EFSA and ECDC. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. *EFSA Journal*, 11(4):3129
- European Food Safety Authority -EFSA & European Centers Disease Prevention and Control -ECDC. (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA Journal*, 13 (1), 1-162.
- Farber, J.M. & Peterkin, P. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological reviews*, 55 (3), 476-511.
- Favaro, M., Sarmati, L., Sancesario, G. & Fontana. C. (2014). First case of *Listeria innocua* meningitis in a patient on steroids and etanercept. *JMM Case Reports*. Recuperado de <http://www.microbiologyresearch.org/>
- Flórez, A.; Rincón, C.; Garzón, P.; Vargas, N. & Enríquez, C. (2008). Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12(4), 255-265.

- Food and Agriculture Organization- FAO & Organización Mundial de la Salud-OMS. (2004). Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Resumen interpretativo. Recuperado de ftp://ftp.fao.org/es/esn/jemra/mra4_es.pdf
- Food and Agriculture Organization –FAO. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>
- Food and Drug Administration –FDA. (2015). FDA Investigated Listeria monocytogenes Illnesses Linked to Caramel Apples. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm427573.htm>
- Food and Drug Administration –FDA. (2016). FDA Investigates presence of Listeria in some Hispanic-style Cheeses. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm386726.htm>
- Food Safety Authority of Ireland -FSAI. (2005). The Control and Management of *Listeria monocytogenes* Contamination of Food. Abbey Court Lower Abbey Street Dublin.
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria – ELIKA. (2013). *Listeria monocytogenes*. Recuperado de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento85/Copia%20de%204.Listeria.pdf
- Galindo, E. (2011). Diagnóstico de *Listeria* en quesillos y superficies de expendios en las plazas de mercado de la ciudad de Ibagué. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Ibagué.
- Gallegos, J.; Arrieta, G.; Máttar, S.; Poutou, R.; Trespacios, A. & Carrascal, A. (2007). Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos costeños. *Revista MVZ Córdoba*, 12 (2), 996-1012.
- Gamboa-Marín, A.; Buitrago M, S.; Pérez-Pérez, K.; Mercado, R. M.; Poutou-Piñales, R. & Carrascal-Camacho, A. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in

- pork-meat and other processed products from the Colombian swine industry. *Revista MVZ Córdoba*, 17(1), 2827-2833.
- Got, S., Leili, A.H., Kuan, C., Loo, Y., Lye, Y., Chan, W... & Son, R. (2013). Transmission of *Listeria monocytogenes* from raw chicken meat to cooked meat through cutting boards. *Food Control*, 37(2014): 51-55.
- Goh, S., Kuan, C., Loo, Y., Chang, W.S., Lye, Y.L., Soopna, P., Tang, J.Y., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M., Afsah-Hejri L. & Son R. (2012) *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Malaysia. *Poult Sci*, 91(10):2686-90.
- Godínez, A. (2014). Incidencia y distribución de *Listeria monocytogenes* en una planta procesadora de hortalizas congeladas: Impacto de las características del patógeno en su capacidad para prevalecer en el ambiente. Trabajo de grado. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Querétaro.
- Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A, Mechaï F, Mamzer-Bruneel MF, Bielecka MK, Scotti M, Disson O, Berche P, Vazquez-Boland J, Lortholar O, Lecuit M. (2010). Human Listeriosis Caused by *Listeria ivanovii*. *Emerging Infectious Diseases*, 16 (1), 136-138.
- Henk, C., Bakker, D., Warchocki, S., Wright, E., Allred, A., Ahlstrom, C... J. Stasiewicz., Burrell, A., Roof, S., Strawn, L., Fortes, E., Nightingale, K., Kephart, D. & Wiedmann, M. (2016). *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 1882-1889.
- Herrera, A. & Suarez, Q. (2012). Aislamiento e identificación de *Listeria* spp. a partir de muestras de pescado fresco expandido en pamplona (Norte de Santander). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15 (2), 257 - 265.
- Herrera, M. T. (2004). El papel del biofilm en el proceso infeccioso y la resistencia. *Nova*, 2(2), 71-80.
- Instituto Colombiano de Desarrollo Rural - INCODER. (2012). Caracterización socio demográfica del área de desarrollo rural Del sur del Tolima. Recuperado de <http://www.incoder.gov.co/documentos/Estrategia%20de%20Desarrollo%20Rural/>

Pertiles%20Territoriales/ADR_SURDEL TOLIMA/Perfil%20Territorial/CARACTERIZACION%20SOCIO-DEMOGRAFICA%20SUR%20DEL%20TOLIMA.pdf

Instituto de Salud Carlos III. (2012). Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual. Año 2012. Recuperado de <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=21/01/2015-3962d0c4cd>

Instituto Nacional de Salud –INS. (2010). Protocolo de vigilancia y control de enfermedades transmitidas por alimentos. Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/comunicadosPrensa/Documents/ETA.pdf>

Instituto Nacional de Salud –INS. (2011). Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco en Colombia. Bogotá. Subdirección de investigación. Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>

Instituto Nacional de Salud -INS. (2014). Protocolo de Vigilancia en salud pública Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Grupo de enfermedades transmisibles. Recuperado de http://www.ipsunipamplona.com/es/images/sampled/data/sivigila_2015/protocolos_epidemiologicos/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf

Instituto Nacional de Salud –INS. (2015). Evaluación de riesgo de *Listeria monocytogenes* en salchicha, jamón, mortadela y salchichón en Colombia. Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos. Bogotá, D. C., Colombia. Recuperado de http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20LISTERIA%20EN%20CARNICOS.pdf?Mobile=1&Source=%2Flineas-de-accion%2Finvestigacion%2Fueria%2F_layouts%2Fmobile%2Fview.aspx%3FList%3Dfac7484e-cd21-44af-a7cd-99ca83c6771b%26View%3D4ab893b6-0fac-43df-a8cb-3f066d1656f9%26CurrentPage%3D1

Instituto Nacional de Salud -INS (2016a). Protocolo de vigilancia en salud pública. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Enfermedades Transmitidas por alimentos y agua. Recuperado de <http://www.ins.gov.co/lineas-de->

accion/Subdireccion-

Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf

- Instituto Nacional de Salud -INS. (2016b). Boletín Epidemiológico Semanal. Semana epidemiológica número 39 de 2016. Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. Recuperado de <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiologico/2016%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2039.pdf>
- Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries - IRTA. (2014). Condiciones que determinan el crecimiento y la supervivencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Recuperado de <http://www.innocua.net/web/download-1978/informe-listeria-irta-2014-es.pdf>
- Jay, J.; Loessner, M. & Golden. (2005). Microbiología moderna de los alimentos. Acribia. Zaragoza.
- Kotsekidou, P. (2013). Microbiological examination of ready –to- eat foods and ready- to - bake frozen pastries from university canteens. *Food Microbiology*, 34 (2013), 337-343.
- Kovacevic, M., Burazin, J., Pavlovic, H., Kopjar, M., & Pilizota, V. (2013). Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other listeria sp. in ready-to-eat minimally processed and refrigerated vegetables. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29 (4), 707-12.
- Lahou, E.; Jacxsens, E.; Verbunt, M.(2015). Evaluation of the food safety management system in a hospital food service operation toward *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 49, 75-84.
- Larraín, D. & Carvajal, J. (2008). Los aspectos fisiopatológicos y moleculares involucrados en el traspaso de *Listeria monocytogenes* a través de la barrera placentaria, (una revisión bibliográfica). *Boletín Escuela de Medicina U.C., Pontificia Universidad Católica de Chile*, 33(1): 20-30.
- López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navas, J., & Martínez-Suárez, J. V. (2006). *Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de

- virulentos?. *Revista argentina de microbiología*, 38 (4), 224-234. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-
- Luna J. Lozada, H., Rodríguez, L., y Orozco, S. (2011). Necesidades de capacitación en buenas prácticas de manufactura en comedores de actores solidarios inscritos en el plan maestro de abastecimiento y seguridad alimentaria de Bogotá, Colombia. *Revista alimentos hoy*, 22(22).28-40.
- Maertens de Noordhout, C., Devleeschauwer, B., Angulo, F.J., Verbeke, G., Haagsma, J., Kirk, M., Havelaar, A. & Speybroeck, N. (2014). The global burden of listeriosis: a systematic review and metaanalysis. *Lancet Infectious Diseases*, 14 (11), 1073–1082.
- Mandell, G., Bennett, J. & Dolin, R. (2012). *Enfermedades infecciosas principios y práctica*. (7ª ed.). España.
- Márquez, V & Rivera, C. (2011). Aislamiento, identificación y determinación de la resistencia antimicrobiana de *Listeria monocytogenes* proveniente de derivados cárnicos porcinos en el departamento del Tolima. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad del Tolima. Ibagué.
- Marco, N. (2012). *Listeria monocytogenes en productos cárnicos LPC. Resistencia a los antibióticos*. Tesis de maestría. Universidad Zaragoza. España. Recuperado de <http://invenio2.unizar.es/record/8543/files/TAZ-TFM-2012-579.pdf>
- Martino, T., Lemus, D., Leyva, V., Tejedor, R., De los Reyes, M., Soto, P. (2008). Incidencia de *Listeria* spp. en hortalizas frescas. *Rev Cubana Salud Pública*. 34 (4), pag 1-11.
- Medin, S., Medin, R., Rosssotti, D. & Siskin, D. (2013). Alimentos seguros: manipulación. 2a ed. Buenos Aires. Ediciones turísticas.
- Mercado, M; Ávila, J; Rey, M; Montoya, M; Gamboa, A; Carrascal, A. K. & Correa, D. (2012). Brotes por *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomédica*, 32(3): 375-385.
- Ministerio de Educación nacional- MEN. (2012). Desarrollo integral en la primera infancia modalidades de educación inicial centros de desarrollo infantil. Bogotá, D.C. Comisión intersectorial para la atención de la primera infancia “de cero a siempre”. Recuperado de

- http://www.colombiaaprende.edu.co/html/familia/1597/articles-305302_recurso_Calidad.pdf
- Ministerio de Educación Nacional –MEN. (2015). *Lineamientos técnico administrativos del Programa de Alimentación Escolar – PAE*. Bogotá, D.C.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (1997). Decreto 3075. Colombia. Recuperado de https://www.invima.gov.co/images/stories/aliementos/decreto_3075_1997.pdf
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). *Estrategia para la Atención Integral a la Primera Infancia. Fundamentos políticos, técnicos y de gestión*. Bogotá.
- Comisión Intersectorial para la Atención a la Primera Infancia. Recuperado de <http://www.deceroasiempre.gov.co/QuienesSomos/Documents/Fundamentos-politicos-tecnicos-gestion-de-cero-a-siempre.pdf>
- Moreno, P. (2013). Serotipificación molecular y perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria monocytogenes*, aislada de carne y derivados de origen porcino, en el departamento del Tolima. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
- Moreno, G. B. (2015). Higiene e inspección de carnes. Volumen II: bases científicas y legales de los dictámenes de matadero. Madrid, España: Díaz de Santos. Recuperado de <http://www.ebrary.com>
- Müller, A. A., Schmid, M. W., Meyer, O., & Meussdoerffer, F. G. (2010). *Listeria seeligeri* Isolates from Food Processing Environments Form Two Phylogenetic Lineages. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(9), 3044–3047. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863432/>
- Muñoz, A.; Vargas, M.; Otero; L., Díaz;, G. y Guzmán, V. (2011). Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008. *Biomédica*, 31 (3), 428-439.
- Muñoz, A. I. (2012). Distribución de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos, Colombia, 2000-2009. *Biomédica*, 32:408-417.
- Muñoz, Á., Chaves, J., Rodríguez, E., & Realpe, M. (2013). *Listeria monocytogenes* en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria. *Biomédica*, 33(2), 283-91.

- Muriel, M.E. (2008). Estimación de la incidencia de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Colombia en la década de 1996-2006. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis134.pdf>
- Navia, D. P., Villada, H, S. & Mosquera, S. (2010). Las biopelículas en la industria de alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(2):118-128.
- Organización de Estados Iberoamericanos -OEI. (2004). *Listeria monocytogenes. Manual de la OIE sobre animales terrestres*. 1222-1237. Recuperado de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.10.14_Listeria_monocytogenes.pdf
- Orsi, R.H. & Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl Microbiol Biotechnol* 100 (12), 5273-5278.
- Ortiz, M. (2016). Diversidad genética y persistencia ambiental de *Listeria Monocytogenes* en dos plantas de procesamiento de carne de cerdo ibérico: influencia de la resistencia a desinfectantes de amonio cuaternario. Tesis doctoral. Facultad de veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. Recuperado de <http://eprints.ucm.es/38371/1/T37495.pdf>
- Parrilla, F. (2011). Estudio de incidencia de la listeriosis en España. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/84002/fpv1de1.pdf?sequence=1>
- Pérez-Rubiano, C.; Mercado-Reyes, M. & Carrascal- Camacho, A. K. (2008). Incidencia de *Listeria* spp. en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogotá. *Publicación científica en ciencias biomédicas*, 6 (10), 141-146.
- Pereira da Silva, E & Pereida da Martinis, E. (2013). Current knowledge and perspectives on biofilm formation: the case of *Listeria monocytogenes*. *Microbiol Biotechnol*, 97(3):957-68.

- Perrin, M., Bemer, M., & Delamare, C. (2003). Fatal Case of *Listeria innocua* Bacteremia. *Journal of clinical microbiology*, 41 (11) 5308–5309.
- Puig, Y.; Leyva, V.; Robert, B. & Pérez, Y. (2013). Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en La Habana, 2006-2010. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51(1), 74-83.
- Puentes, C. (2014). Determinación de *Listeria monocytogenes* en ensaladas listas para el consumo en los restaurantes satélites y aledaños de la universidad del Tolima. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad del Tolima. Ibagué.
- Rahimi, E.; Momtaz, H.; Behzadnia, A. & Baghbadorani Z. T. (2014). Incidence of *Listeria* species in bovine, ovine, caprine, camel and water buffalo milk using cultural method and the PCR assay. *Asian Pac J Trop Dis*; 4(1): 50-53.
- Realpe-Delgado, M.; Muñoz-Delgado, A.; Donado-Godoy², P.; Rey-Ramírez, L., Díaz-Guevara, P.; Arévalo- Mayorga, S. (2016). Epidemiología de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* spp., en la cadena productiva avícola. *IATREIA*, 29 (4): 397-406.
- Rodríguez, H., Barreto, A., Cabrera, C., B., Martínez, S. & Vergara, G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET*, 16 (8): 1-27.
- Rodríguez, J. (2015). Prevalencia y factores de riesgo asociados a la presencia de *Salmonella* spp., en canales avícolas comercializadas en Ibagué, Tolima. Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad del Tolima. Ibagué.
- Ruíz-Bolívar, Z.; Poutou-Piñales, R.A. & Carrascal-Camacho, A. (2008). Resistencia antimicrobiana y a desinfectantes de *Listeria* spp. *Ciencia Biomédicas*, 6 (10): 101-236.
- Ryser, E. & Marth E. (2007). *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. Recuperado de https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=NZsS6tbSAFYC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+listeria+monocytogenes+taxonomia&ots=3tMF9jUbY8&sig=eN8i4QlpfZGYp98hMTmKjAH_4jk#v=onepage&q&f=false

- Sánchez, F., Mata, V., Espinoza, A. & Villareal L. (2006). Incidencia de especies de *Listeria* en una planta productora de alimentos congelados. *Ciencia UNAL*, 9(001). 51-56.
- Sánchez, B. & Palencia, E. (2010). Infecciones por *Listeria*. *Medicine*, 10 (50), 3368-3372.
- Sandoval, C. & Vidal D. (2010). Evaluación de las condiciones reales sanitarias de Funcionamiento de restaurantes escolares ubicados en el municipio de Zipaquirá. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- Sauders, B.; Overdevest, J.; Forters, E.; Windham, K., Shukken, Y., Lembo, A. & wiedmann, M. (2012). Diversity of *Listeria* species in urban and natural environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (12), 4420-4433.
- Scallan, E.; Hoekstra, R.M.; Angulo, F.J.; Tauxe R.V.; Widdowson, M.A.; Roy, S.L... Griffin, P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerg Infect* 17(1):7-15.
- Schmidt R. H., Goodrich, R. M., Archer, D. L. & Schneider, K. R. (2003). General Overview of the Causative Agents of Foodborne Illness. This document is FSHN033, one of a series of the Food Science and Human Nutrition Department, Florida Cooperative Extension Service, IFAS, University of Florida. Publication: February 2003. Recuperado de <http://edis.ifas.ufl.edu/fs099>
- Schöbitz, R., Ciampi, L. y Nahuelquin, Y. (2009). *Listeria monocytogenes* un peligro latente para la industria alimentaria. *Agro sur*, 37 (1), 1-8.
- Siriken, B., Ayaz, N., Erol, I. (2014). *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Turkey. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 127 (1-2), 43-9.
- Soto, Z.; Pérez, L. & Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Salud Uninorte*, 32 (1), 105-122.
- Syne, S. M., Ramsubhag, A., & Adesiyun, A. A. (2011). Occurrence and genetic relatedness of *Listeria* spp. in two brands of locally processed ready-to-eat meats in trinidad. *Epidemiology and Infection*, 139(5), 718-27.

- Torres, K., Sierra, S., Poutou R., Carrascal, A. & Mercado, M. (2005). Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. *MVZ-Córdoba*, 10 (1), 511-543.
- Tresse, O.; Shannon, K.; Pinon, A.; Malle, P.; Vialette, M. & Midelet-Bourdin, G. (2007). Variable Adhesion of *Listeria monocytogenes* Isolates from Food-Processing Facilities and Clinical Cases to Inert Surfaces. *Journal of Food Protection*, 70 (7), 1569-1578.
- United States Department of Agriculture –USDA. (2013). Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos: lo que necesitan saber los consumidores. Información sobre Inocuidad de Alimentos. Recuperado de https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/f1be6bc5-129a-4956-b57e-1ecd8a467d60/What_Consumers_Need_to_Know_SP.pdf?MOD=AJPERES
- United States Department of Agriculture –USDA. (2014). Chicken from Farm to Table. Recuperado de https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ad74bb8d-1dab-49c1-b05e-390a74ba7471/Chicken_from_Farm_to_Table.pdf?MOD=AJPERES
- Vázquez-Boland, J.; Kuhn, M.; Berche, P.; Chakraborty, T.; Dominguez-Bernal, G.; Goebel, W.; González-Zorn, B.; Wehland, J.; Kreft, J. (2001). *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology*, 14 (3), 584-640.
- Vera, A.; González, G.; Domínguez, M. & Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Rev. Chilena Infectol*, 30 (4), 407-416.
- Villanueva, (2015). Capacidad de formación de biopelículas de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas de quesos frescos procedentes de mercados del Cercado de Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Recuperado de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4431>
- Von Chong, M., García, R., Batista, G., Broce, D. (2012). Evaluación de *Listeria* spp. en muestras ambientales en una Empresa de Producción Artesanal de Quesos Frescos en La Provincia de Los Santos. *CENTROS, Revista científica universitaria*, 1(2): 251-268.

- Willey, J.; Woolverton, C. & Sherwood, L. (2008). Microbiología de Prescott, Harley y Klein. (7ª ed.) Mc Graw-Hill.
- Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Procop, G.; Schreckenberger, P. & Woods. G. (2008). *Koneman Diagnóstico microbiológico*. Recuperado de https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- World Health Organization –WHO (2008). Manual de Procedimientos. Aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. Recuperado de http://bvs.panalimentos.org/local/file/Manual_Listeria_monocytogenes_2008.pdf
- World Health Organization.-WHO (2015). *Estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015*. Recuperado de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf
- Yde, M., Naranjo M, Mattheus W, Stragier P, Pochet B, Beulens K, De Schrijver K., Van den Branden D, Laisnez V, Flipse W, Leclercq A, Lecuit M, Dierick K, & Bertrand S. (2011). Usefulness of the European Epidemic Intelligence Information System in the management of an outbreak of listeriosis, Belgium, 2011. *Euro Surveill*, 17(38), 1-5. Recuperado de <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20279>

ANEXOS

Anexo A. Formato de la encuesta aplicada.

	DIAGNÓSTICO HIGIENICO SANITARIO DE LOS RESTAURANTES ESCOLARES Y CENTROS DE DESARROLLO INFANTIL DEL ICBF DEL SUR DEL TOLIMA LMM- GEBIUT	<i>Página 1 de 8</i>
		Código: DHSR
		Versión: 01
	<i>Prevalencia de los agentes causales de EDA; Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus C+, Salmonella spp. y Escherichia coli O157: H7, en comedores escolares en la provincia sur del Tolima.</i>	

Objetivo: Evaluar el estado de las condiciones higiénico sanitarias de las BPM en los comedores escolares y CDI del Instituto de Bienestar Familiar de la zona sur del Tolima. Escribir y/o rellenar cada casilla de acuerdo a la situación del punto de muestreo visitado, con letra legible, en caso de no existir datos, plasmar lo faltante en observaciones. Favor no dejar ningún ítem sin responder.

A. DATOS GENERALES DE LA VISITA Nº		
Municipio:	Muestreo:	
Hora y Fecha:	Entidad:	
Teléfono:	Dirección:	
Población beneficiada	0-2()	2-5() 5-10()
Persona que recibe visita:		
Cargo:		

B. LOCALIZACIÓN		
1. Zona:		Observaciones:
Urbano ()	Rural ()	
2. Impacto ambiental:		
Mal olor ()	Animales ()	
Contaminación ()		

C. PRODUCTO ALIMENTARIO				
1. Proveedor		Industrial()		Servicio local ()
2. Tipo de minuta				
Desayuno ()		Refrigerio ()		Almuerzo ()
Cárnicos				
1. Carne (Kg)/ semana que ingresa al RE o CDI				
2. Procedencia				
Finca ()	Galería ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Tipo de carne				
Bovina ()	Porcina ()	Pollo ()	Pescado ()	Otro ¿Cuál? ()
4. Los productos cárnicos procesados son:				
		Observaciones		
Lácteos				
1. Leche (L)/ semana que ingresa al RE o CDI			Queso (Kg)/ semana	
2. Procedencia				
Finca ()	Galería ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Tipo de leche				
Cruda ()	Polvo ()	Pasteurizada ()	Saborizada ()	Marca
4. Tipo de queso				
Campesino ()	Pasteurizado ()	Quesillo (fundido) ()	Marca	
5. Tipo de derivado lácteo		Yogurt ()	Avena ()	Kumis ()
6. Otros derivados lácteos		Observaciones		
Bebidas: Refrescos y velas				

1. Bolis unidad (s)/ que ingresa al RE o CDI (s)		Agua envasada unidad		
2. Procedencia				
Casa ()	Fábrica ()	Ambulante ()	Tienda ()	Supermercado ()
3. Agua envasada				
Bolsa ()	Botella ()	Filtro ()	Dispensador ()	Marca
4. Otras bebidas			Observaciones	

D. SERVICIOS			
1. Electricidad	Sí ()	No ()	Observaciones:
2. Gas	Sí ()	No ()	
3. Agua	Sí ()	No ()	

B. CALIDAD DE AGUA			
1. Agua potable			Observaciones :
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2. ¿Realiza análisis microbiológicos del agua?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3. ¿Con qué periodicidad realiza estos análisis?			
Una vez por mes ()	Una vez por semestre ()	Una vez por año ()	
Otro ¿Cuál?			
4. ¿Tiene tanques de almacenamiento?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿Realiza lavados periódicos de los tanques?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

Otro ¿Cada cuánto?			
6. ¿El agua es potable?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
7. ¿El origen del agua es?			
Acueducto municipal ()	Acueducto Propio ()	No sabe ()	
Otro ¿Cuál?			

E. INSTALACIONES			
1. ¿Qué tipo de cadena de frío utiliza?			Observaciones:
No tiene ()	Congelación ()		
Refrigeración ()	No sabe ()		
Congelación y refrigeración ()			
2. Registre monitoreo temperatura:			
Congelación			
Refrigeración			
3. ¿Realiza análisis en busca de plagas?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿Las instalaciones, los equipos y utensilios son de fácil limpieza y desinfección?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿El piso, paredes y techo del lugar de trabajo es de material lavable, con bordes redondos?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
6. ¿Cuenta con suficientes drenajes?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
7. ¿Las fuentes de luz (ventanas, lámparas) se encuentran protegidas?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

8. ¿Realiza periódicamente procesos de limpieza y desinfección?			
No	No ()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			
9. ¿Tienen un programa de mantenimiento de equipos e instalaciones?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
10. ¿Contrata servicios de laboratorio para monitoreo de inocuidad del producto?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
11. ¿Realiza Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES)?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

C. UTENSILIOS, EQUIPOS Y SUPERFICIES

Realizan desinfección periódica de :			
Utensilios			Observaciones
1.Cuchillos y cucharas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2.Tablas de picar			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3.Recipientes y canastillas plásticas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4.Bandejas			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5.Guantes			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			

Equipos			Observaciones
1.Neveras			
Sí ()	No()	No sabe ()	
2.Licadoras			
Sí ()	No()	No sabe ()	
3.Balanzas			
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			
Superficies			Observaciones
1.Paredes			
Sí ()	No()	No sabe ()	
2.Pisos			
Sí ()	No()	No sabe ()	
3.Mesones			
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
¿Con qué?			

D. PERSONAL			
1. ¿Está vigente la capacitación de los manipuladores?			Observaciones:
Sí ()	No()	No sabe ()	
¿Cada cuánto?			
Trimestre ()	Semestre ()		
Anual ()	Nunca ()		
2. Se controla adecuadamente el estado de salud o personal del empleado cada:			
Trimestre ()	Semestre ()		
Anual ()	Nunca ()		

3. Se lleva a cabo análisis de microorganismos al personal. (FN, Baciloscopía, FG, coprocultivo)			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿El personal usa el uniforme adecuadamente según la actividad?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
5. ¿Se aplican buenas prácticas higiénicas y medidas de protección necesarias para evitar la contaminación?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
6. ¿Se supervisan las prácticas higiénicas y medidas de protección necesarias para evitar la contaminación?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

E. MANEJO DE RESIDUOS			
1. ¿Tiene plan de manejo de residuos sólidos?			Observaciones:
Sí ()	No ()	No sabe ()	
2. ¿El punto de basuras es distante de las zonas de trabajo?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
3. ¿Tienen punto de disposición final de residuos sólidos?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	
4. ¿Realizan clasificación de basuras?			
Sí ()	No ()	No sabe ()	

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 1 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

Los suscritos:

LIZETH KATHERINE BASTO PARRA con C.C N° 1110545837

Manifiesto (an) la voluntad de:

Autorizar

No Autorizar Motivo: _____

La consulta en físico y la virtualización de mi OBRA, con el fin de incluirlo en el repositorio institucional de la Universidad del Tolima. Esta autorización se hace sin ánimo de lucro, con fines académicos y no implica una cesión de derechos patrimoniales de autor.

Manifestamos que se trata de una OBRA original y como de la autoría de LA OBRA y en relación a la misma, declara que la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA, se encuentra, en todo caso, libre de todo tipo de responsabilidad, sea civil, administrativa o penal (incluido el reclamo por plagio).

Por su parte la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA se compromete a imponer las medidas necesarias que garanticen la conservación y custodia de la obra tanto en espacios físico como virtual, ajustándose para dicho fin a las normas fijadas en el Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad, en la Ley 23 de 1982 y demás normas concordantes.

La publicación de:

Trabajo de grado	<input checked="" type="checkbox"/>	Artículo	<input type="checkbox"/>	Proyecto de Investigación	<input type="checkbox"/>
Libro	<input type="checkbox"/>	Parte de libro	<input type="checkbox"/>	Documento de conferencia	<input type="checkbox"/>
Patente	<input type="checkbox"/>	Informe técnico	<input type="checkbox"/>		
Otro: (fotografía, mapa, radiografía, película, video, entre otros)					<input type="checkbox"/>

Producto de la actividad académica/científica/cultural en la Universidad del Tolima, para que con fines académicos e investigativos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad del Tolima. Con todo, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la Ley 23 de 1982. En concordancia suscribo este documento

Fecha Versión 02: 04-11-2016

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 2 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

en el momento mismo que hago entrega del trabajo final a la Biblioteca Rafael Parga Cortes de la Universidad del Tolima.

De conformidad con lo establecido en la Ley 23 de 1982 en los artículos 30 “...*Derechos Morales. El autor tendrá sobre su obra un derecho perpetuo, inalienable e irrenunciable*” y 37 “...*Es lícita la reproducción por cualquier medio, de una obra literaria o científica, ordenada u obtenida por el interesado en un solo ejemplar para su uso privado y sin fines de lucro*”. El artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “*los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores*” y en su artículo 61 de la Constitución Política de Colombia.

- Identificación del documento:

Título completo: Identificación de *Listeria monocytogenes* en alimentos suministrados a niños en el sur del departamento del Tolima.

Trabajo de grado presentado para optar al título de:

Biólogo

- Proyecto de Investigación correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Informe Técnico correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Artículo publicado en revista:

- Capítulo publicado en libro:

- Conferencia a la que se presentó:

Fecha Versión 02: 04-11-2016

	SISTEMA DE GESTION DE LA CALIDAD FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 3 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 02

Quienes a continuación autentican con su firma la autorización para la digitalización e inclusión en el repositorio digital de la Universidad del Tolima, el:

Día: 19 Mes: Abril Año: 2017

Autores:

Firma

Nombre: Lizeth Katherine Basto Parra Lizeth Basto C.C. 1110545837

El autor y/o autores certifican que conocen las derivadas jurídicas que se generan en aplicación de los principios del derecho de autor.

Fecha Versión 02: 04-11-2016