

Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana

TESIS para optar al Título Profesional de: QUÍMICO FARMACÉUTICO
AUTORES

MABEL SUSANA CENTURIÓN PUMA
MILAGROS ELIZABETH TAKAJARA SANTANDER
ASESORA Q. F. BENEDICTA CARMEN LÓPEZ FLORES
LIMA – PERÚ 2004

..	1
AGRADECIMIENTOS .	3
RESUMEN .	5
SUMMARY ..	7
I. INTRODUCCIÓN ..	9
1. OBJETIVOS .	10
2. ANTECEDENTES ..	11
II. GENERALIDADES .	13
1. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO LISTERIA .	13
1.1. Listeria monocytogenes .	14
2. LISTERIOSIS .	16
2.1. Poblaciones sensibles ..	17
2.2. Incidencia .	18
3. LISTERIA Y SU ASOCIACIÓN CON CARNE DE AVES ..	19
4. LISTERIA Y SU ASOCIACIÓN CON VERDURAS .	20
III. MATERIALES Y MÉTODO ..	23
1. EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO .	23
2. MÉTODO .	25
2.1. Recolección de muestras .	25
2.2. Procesamiento de las muestras .	25
2.3. Aislamiento de colonias sospechosas ..	25
2.4. Diferenciación bioquímica de las cepas aisladas .	26
IV. RESULTADOS .	29
V. DISCUSIÓN ..	31
VI. CONCLUSIONES ..	33
BIBLIOGRAFÍA .	35
ANEXOS .	39

*A mis padres, cuyo ejemplo, amor y confianza me impulsa a esforzarme cada día. Mabel A
mis padres, por su apoyo incondicional durante mis días de estudiante y por guiarme durante
toda mi vida. Milagros*

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Jurado Examinador y calificador:

Presidente:

Dr. Fernando Quevedo Ganoza

Miembros:

Dra. Augusta Cordova Rivera

Q.F. Teresa Gallardo Jugo

Q.F. Victoria Yrei Yamakawa

Por sus aportes y sugerencias en la revisión de este trabajo

Un agradecimiento muy especial a:

Nuestra ASESORA

Q.F. Benedicta Carmen López Flores

Por su orientación, apoyo y dedicación durante el desarrollo de esta Tesis

A nuestras profesoras

Q.F. Teresa Gallardo Jugo

Q.F. Victoria Yrei Yamakawa

Por su apoyo y ayuda constante en el transcurso del presente trabajo de investigación

Al Q.F. Walter Inope Castillo

Por su apoyo y sobre todo por su comprensión durante la elaboración de este trabajo

RESUMEN

A partir de los años ochenta, el aumento de casos de listeriosis humana y su posible relación con alimentos contaminados, ha venido preocupando a las autoridades sanitarias de todo el mundo. Aunque en el Perú no hay reportes de una asociación entre listeriosis y alimentos contaminados, se ha informado sobre estudios que han identificado esta bacteria en productos hidrobiológicos frescos y procesados, leche cruda y sus derivados. El Objetivo del presente trabajo fue determinar la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos y verduras obtenidos de diversos mercados y centros de abastecimiento de Lima. En total, se analizaron 100 muestras, de las cuales 50 fueron muestras de carne de pollo fresco y las otras 50 muestras fueron diversas verduras frescas (espárrago, col, apio, espinaca y lechuga). El análisis microbiológico se realizó de acuerdo a la metodología recomendada en el Bacteriological Analytical Manual de la FDA y la NF ISO 11290- 1. Se logró aislar *Listeria monocytogenes* de una muestra de pollo (2%) y de una muestra de verdura (2%), correspondiendo esta última a espárragos. Las cepas fueron aisladas empleando agar Oxford y agar Palcam como medios selectivos e identificadas mediante pruebas bioquímicas.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, pollos frescos, verduras frescas, mercados, Lima.

SUMMARY

From the 80's, the increase of cases of human listeriosis and their possible relationship with contaminated foods, has come worrying to the worldwide sanitary authorities. Although in our country there are not reports of an association between listeriosis and contaminated foods, but, studies have been reported that have identified this bacterium in fresh and processed marine products, raw milk and their derived. The objective of the present research was to determine the incidence of *Listeria monocytogenes* in chickens and vegetables, obtained of diverse centers of supply and markets of Metropolitan Lima. In total, it was analyzed 100 samples, of which 50 were of fresh chicken meat and the other 50 ones of fresh vegetables (asparagus, cabbage, celery, spinach and lettuce). The microbiological analysis was carried out according to the methodology recommended in the Bacteriological Analytical Manual of the FDA and NF ISO 11290- 1. It was achieved to isolate *Listeria monocytogenes* from a chicken sample (2%) and from a sample of vegetable (2%), corresponding this last one to asparaguses. The strains were isolated using Oxford agar and Palcam agar like selective mediums and identified by means of biochemical tests.

Key words: *Listeria monocytogenes*, fresh chicken, fresh vegetables, city of Lima, markets.

I. INTRODUCCIÓN

La amplia distribución en el medio ambiente, habilidad de sobrevivir en condiciones adversas, resistencia a diversos antibióticos y capacidad para multiplicarse a temperaturas de refrigeración, hace que *Listeria monocytogenes* sea una bacteria patógena importante de origen alimentario²⁹.

El género *Listeria* comprende seis especies, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* y *L. grayi*; la presencia de cualquier de estas especies es considerada como un indicador de higiene deficiente. Dentro de las diferentes especies, *Listeria monocytogenes* es la única implicada en patología humana, ya que origina una enfermedad conocida como listeriosis, la cual en infecciones severas produce septicemia, meningitis, encefalitis, infección del sistema nervioso central y posiblemente muerte; los cuales pueden ser precedidos por síntomas gastrointestinales tales como náuseas, vómito, diarrea, fiebre o dolor de cabeza; y, esto es más significativo aún en grupos comprometidos, tales como ancianos, mujeres embarazadas, pacientes inmunocomprometidos y pacientes VIH positivos; de ahí que existe el interés por excluir a este microorganismo de la cadena de producción de alimentos, mientras sea posible, y mantener las condiciones¹¹ necesarias que inhiban su multiplicación en los alimentos en que pueda multiplicarse¹¹. La listeriosis, a diferencia de otras infecciones transmitidas por alimentos, es una infección de baja morbilidad pero con una alta tasa de mortalidad de alrededor del 23%, siendo este uno de los motivos que concita su interés^{34, 39}.

Listeria monocytogenes ha sido aislada con distinta frecuencia en una amplia categoría de alimentos tanto de origen animal como también vegetales, sean crudos o

procesados ^{19, 37}.

Entre los años 80 al 90, la presencia de *Listeria monocytogenes* se comenzó a considerar como un problema de salud pública en los Estados Unidos, Canadá y algunos países de Europa, donde se reportaron brotes importantes de listeriosis ^{11, 29}.

En los últimos años, *Listeria monocytogenes* ha sido aislada a partir de coliflor, apio, perejil, lechuga, pepino, rábano y pimentón. También se ha encontrado en aguas de desecho, en el suelo, en carne de aves frescas y congeladas, pescados, moluscos, crustáceos, productos lácteos como leche, quesos y helados, en productos cárnicos y frutas ^{2, 4, 8, 11, 16, 29, 37, 45, 47}.

Dicha bacteria puede sobrevivir por largos períodos en los alimentos, en las plantas de procesamiento y en ambientes refrigerados por lo que puede ser transmitida al humano a través de la ingestión de alimentos que se contaminan durante cualquier paso de la cadena de consumo o de producción. Actualmente el desarrollo tecnológico que ha permitido extender la vida útil de los productos refrigerados, la intensificación de los intercambios de productos, las distintas prácticas de alimentación, y preparación de los productos alimenticios ha aumentado el riesgo asociado con *Listeria monocytogenes*, de allí el interés que existe por excluir este microorganismo de la cadena de producción de alimentos, mientras sea posible, y mantener las condiciones que inhiban su multiplicación en los alimentos.

Por otro lado, hay que tener en consideración el aumento en la demanda de carne de aves por parte de la población. El incremento en el consumo de pollo, ha marcado una modificación sustantiva en la estructura de consumo del grupo de carnes en el Perú, de una disponibilidad promedio de 6,4 kg/pc/año en el período de los años 71 al 75, se ha incrementado a 20,3 kg/pc/año en el año 1998, constituyéndose en la principal fuente de proteínas de origen animal en la dieta alimentaria de la población peruana ³³. El consumo per cápita de carne de aves, entre los años 1990 a 1999 varió de 11,5 a 22,5 k/hab/año, respectivamente ³⁴ (ver tabla 1). En lo referente a hortalizas se tiene que la disponibilidad neta per cápita varió entre los años 1980 a 1998, de 22,6 k/pc/año a 38,0 k/pc/año ³⁵.

Por lo expuesto anteriormente, aunado al carácter ubicuo de *L. monocytogenes* y su gran resistencia a las condiciones del medio, y más aun, teniendo en cuenta el consumo masivo de carne de pollo por parte de la población de Lima, ya que ésta forma parte de los menús diarios, así como también los vegetales, los cuales se consumen tanto cocidos como crudos en ensaladas, son razones por las cuales la determinación de la incidencia de *L. monocytogenes* en dichos alimentos, es necesaria para detectar el riesgo potencial de contaminación que existe de no llevarse a cabo una correcta manipulación de ellos. Asimismo, los datos obtenidos en el presente estudio, servirán para establecer las bases de la evaluación del riesgo asociado.

1. OBJETIVOS

General:

- Determinar la incidencia de *Listeria monocytogenes* en verduras frescas y carne fresca de pollo en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana.

Específicos:

- Aislar *Listeria monocytogenes* de muestras de verduras frescas y carne fresca de pollo mediante el empleo de medios selectivos según la técnica recomendada.
- Identificar *Listeria monocytogenes* mediante pruebas bioquímicas.

2. ANTECEDENTES

Murray (1926) aisló una bacteria corta, Gram-positiva, de forma bacilar, a la que denominó *Bacterium monocytogenes*, porque infectaba a los monocitos de la sangre. Pirie (1930) aisló un organismo parecido en hígado de gerbos (roedores) por lo que lo denominó *Listerella hepatolytica*; y en 1940, se cambió dicha definición por la de *Listeria monocytogenes* debido a que *Listerella* había sido adoptada anteriormente para un grupo de mohos productores de mucílago^{28, 46}.

Las listerias están ampliamente distribuidas en la naturaleza, en materia vegetal en descomposición, en la tierra, heces de animales, aguas residuales y en el agua³¹. *L. monocytogenes* ha sido encontrado en leche fresca, quesos blandos, carne tanto fresca como congelada, aves de corral, productos marinos, frutas y hortalizas^{4, 16, 8, 29, 45}. Se puede hallar en un elevado porcentaje de pollos crudos y en otros tipos de carne cruda, en las plantas de elaboración de alimentos, las superficies húmedas, en neveras y unidades de refrigeración debido a su capacidad de crecer a temperaturas bajas²⁹.

Listeria monocytogenes es una bacteria patógena oportunista que produce una enfermedad conocida como Listeriosis, la cual no es una enfermedad de elevada incidencia pero sí grave y a menudo fatal que afecta con mayor frecuencia y más severamente a personas pertenecientes a grupos de riesgo (ancianos, embarazadas, inmunodeprimidos, fetos, neonatos), con consecuencias principales tales como septicemia, meningitis y aborto¹⁴.

El primer caso de listeriosis fue descrito (1929), y desde entonces se han presentado casos esporádicos, tanto en humanos como en animales^{28, 46}. Fue en 1981 en Nueva Escocia (Canadá), que se evidenció por primera vez un brote de listeriosis provocado por alimentos, en donde el vehículo de transmisión fue una ensalada de col preparada localmente; y en 1985 (California), con un brote donde la cepa causante fue aislada de un queso de estilo mejicano, cuando se disiparon las dudas de implicancia en los alimentos como fuente de listeriosis^{6, 20, 28, 29}.

En 1988, se produjo un caso de listeriosis humana causada por una ensalada que llevaba como ingrediente carne de pollo cocida, en la cual se detectó *L. monocytogenes*

serotipo 4b en el pollo⁶.

En diciembre de 1988, en Oklahoma (EE.UU.), se dio a conocer un caso de septicemia y meningitis en un paciente con cáncer, causada por una cepa de *L. monocytogenes* serotipo 1/2a, encontrada en salchichas de pavo⁶.

En Inglaterra, en 1989, se detectó un caso de listeriosis, en una paciente inmunosuprimida que había consumido nuggets de pollo, la cepa encontrada fue *L. monocytogenes* serotipo 1/2a⁶.

En el invierno de 1998 al 99, se produjo una epidemia de listeriosis en 22 estados de Estados Unidos, que se caracterizó por una alta mortalidad, con más de 100 casos y 21 muertos y que estuvo ligada al consumo de embutidos²⁴.

Según datos proporcionados por el Centro Nacional de Referencia del Instituto Pasteur, durante el año 2000, ocurrieron un total de 216 casos de listeriosis, donde la mayor parte de ellos (168 casos) correspondieron a infecciones no maternas y no neonatales, mientras que 48 casos correspondieron a infecciones maternas y neonatales²⁴.

En lo que respecta al Perú, se tiene conocimiento que en el año 1957, en el Frigorífico Nacional del Callao, se aisló por primera vez *L. monocytogenes* de la médula oblonga de un ovino procedente de las alturas de Ica²².

En 1963 se registró el primer caso de listeriosis en un recién nacido, el agente etiológico fue identificado en el laboratorio de Anatomía Patológica de la Maternidad de Lima⁴⁰.

En la Maternidad de Lima (1977) se aisló *L. monocytogenes* del hígado y de los intestinos de 20 necropsias practicadas a fetos y neonatos muertos por listeriosis⁴¹.

En 1991, en un estudio de 32 muestras de "cebiche", el 75% de las muestras dieron resultado positivo para el género *Listeria* spp y el 12.5% fue positivo para *Listeria monocytogenes*²¹. En el mismo año se identificó *Listeria monocytogenes* en productos hidrobiológicos frescos y procesados del litoral peruano, en el cual las 50 muestras analizadas, 32 correspondieron a *Listeria* spp y 9 eran *L. monocytogenes*⁴².

En 1996, en los laboratorios de Certificaciones del Perú S.A. (CERPER) se analizaron 217 muestras congeladas y frescas de productos marinos, detectándose en 45 de ellas, *Listeria monocytogenes*^{2, 44}; y en la Universidad de Piura, ese mismo año, se evidenció *Listeria monocytogenes* en filetes de pescado²³.

En el mes de marzo del 2002, en el Hospital III (EsSalud), en Puno, se reportó por primera vez en ese departamento, un caso de meningitis neonatal por *Listeria monocytogenes*³.

En los años 2000 y 2001 se realizaron estudios en queso fresco y leche cruda, respectivamente, lográndose evidenciar la presencia de *Listeria monocytogenes* en dichos productos^{14, 45}.

II. GENERALIDADES

1. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO LISTERIA

El género *Listeria* pertenece a la subrama de *Clostridium* junto con *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Brochothrix*. Se compone de seis especies divididas en dos líneas de descendencia: i) *L. monocytogenes*, y las especies *L. innocua*, *L. ivanovii* (subespecies *ivanovii* y subespecies *londiniensis*), *L. welshimeri* y *L. seeligeri*; ii) *L. grayi* (*L. murrayi* fue incluida recientemente en esta especie)^{6, 28, 42}.

Listeria spp. es una bacteria anaerobia facultativa, catalasa positiva y oxidasa negativa, hidroliza la esculina en pocas horas, pero no la urea ni la gelatina; no produce indol ni sulfuro de hidrógeno. El contenido de guanina-citosina de su ADN es bajo, entre el 36% y 38%^{36, 37}.

De las seis especies, sólo tres de ellas producen beta hemólisis en agar sangre: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* y *L. ivanovii*; mientras que esta última especie produce una zona amplia de hemólisis, *L. monocytogenes* produce zonas estrechas que generalmente no exceden el borde de la colonia⁴.

L. monocytogenes y *L. seeligeri* son positivas frente al test de CAMP con *Staphylococcus aureus*, mientras que *L. Ivanovii* es positiva al test de CAMP con *Rhodococcus equi*³⁷.

En el género *Listeria*, sólo son consideradas virulentas las especies *L. monocytogenes* y *L. ivanovii*, siendo *Listeria monocytogenes* la que más preocupa para la salud pública, por lo que concierne a infecciones alimentarias en humanos ^{10,24,37}.

1.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es un bacilo corto, Gram positivo, no esporulado, que mide entre 0.4 µm a 0.5 µm de diámetro y de 0.5 µm a 2 µm de largo, pueden ser curvos, con tendencia a agruparse en cadenas cortas, de extremos redondeados, y en algunas ocasiones puede tomar la forma de cocobacilos ^{4, 11, 24}. En cultivos viejos suelen aparecer formando filamentos de 6 mm a 20 mm de longitud. En los preparados teñidos a menudo adoptan una disposición en empalizada ³⁷.

Es una bacteria aerobia y anaerobia facultativa, pero su proliferación mejora cuando los cultivos se incuban con reducción de dióxido de carbono del 5 al 10%. La temperatura mínima de desarrollo de este microorganismo psicrotrófico, es de 1,1 °C +/- 0,3 °C, la óptima de 30°C a 37°C, y la máxima de 45°C. *L. monocytogenes* es relativamente resistente al calor si se encuentra en concentraciones muy elevadas del orden de 10⁵ a 10⁶ UFC/mL, pero se ha demostrado que una temperatura de 70°C durante 2 minutos destruye las cepas de *L. monocytogenes* en alimentos cárnicos ^{28,31}.

Listeria monocytogenes puede crecer en un intervalo de pH amplio, desde 4,1 hasta alrededor de 9,6, sin embargo su pH óptimo fluctúa entre 7,2 y 7,6 ³¹.

Este microorganismo es la segunda especie patógena transmitida por alimentos, después de los estafilococos, que es capaz de crecer en valores de actividad de agua (aw) menores de 0,93 ^{13, 28, 31, 46}.

Listeria monocytogenes es resistente a concentraciones elevadas de NaCl (30%) ^{29, 45}. Desde el punto de vista nutricional no son exigentes, crecen bien en muchos medios de cultivo como por ejemplo agar triptosa, agar chocolate y agar sangre ⁴. Son necesarios por lo menos cuatro vitaminas del grupo B (biotina, riboflavina, tiamina, ácido teicoico) y también aminoácidos como la cisteína, glutamina, valina, isoleucina y leucina. Hidrolizan la esculina y crecen en presencia de 10% a 40% (p/v) de bilis ³⁷.

A temperaturas entre 20°C y 25°C son móviles por medio de 4 flagelos peritricos, pero a temperatura de 37°C sólo forma un flagelo polar. Posee una motilidad característica tipo "tumbling" o "volteo", es decir, mediante un lanzamiento rápido combinado con saltos y rotación ¹⁴.

Tiene la capacidad de fermentar varios carbohidratos formando ácidos, es catalasa positivo, oxidasa negativo, Voges Proskauer positivo, rojo de metilo positivo e indol negativo, no produce ácido sulfhídrico, no reduce el nitrato y produce β-hemólisis en agar sangre, debido a su producción de listeriolisina O (exotoxina hemolítica y citolítica) ²⁸.

1.1.1. Serotipos

En base a sus antígenos somático y flagelar se ha identificado 13 serotipos que pueden provocar enfermedad, pero el 95% de los aislamientos humanos pertenecen a serotipos:

1/2a, 1/2b y 4b^{13, 31, 36}.

Desde 1981, las cepas del serotipo 4b han sido responsables del 33% al 50% de los casos esporádicos de listeriosis humana en todo el mundo y de los principales brotes producidos por alimentos. En contraposición, los aislamientos recuperados de alimentos en numerosos países pertenecen en su mayor parte al serotipo 1/2⁴².

Se ha identificado el antígeno somático O y el antígeno flagelar H, para *L. monocytogenes*, y se le ha subdividido en varias serovariedades¹⁸.

Entre las técnicas utilizadas para determinar las características fenotípicas se usan la serotipificación, la tipificación por fagos y la electroforesis enzimática⁴⁵.

Dentro de los serotipos de *Listeria monocytogenes*, tenemos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c; 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d y 4e¹⁸.

1.1.2. Patogenicidad y Factores de Virulencia

Hoy en día se sabe que no todas las cepas de *Listeria monocytogenes* son patógenas, se ha observado variabilidad en la virulencia (grado de patogenicidad de la bacteria) dentro de la especie *Listeria monocytogenes*. Se ha demostrado que hay *Listeria monocytogenes* avirulenta, hipovirulentas y virulentas³¹.

Esta bacteria ingresa al organismo a través del tracto gastrointestinal, una vez en el cuerpo, atraviesa la barrera mucosa del intestino por endocitosis activa de las células endoteliales, llega al torrente sanguíneo y se disemina a otros sitios, en especial al sistema nervioso central y la placenta^{10, 13}.

Listeria monocytogenes es una de las bacterias más invasoras conocidas, lo cual está relacionado con su capacidad de multiplicarse en el organismo debido a una serie de factores de virulencia. El principal sitio de infección es el hígado. Debido a su capacidad de propagación directa célula a célula, puede diseminarse en los tejidos del hospedador e inducir la formación de focos infecciosos^{28, 45}.

En *Listeria monocytogenes*, la patogenicidad obedece a una serie de factores de virulencia tales como la listeriolisina O, internalinas, fosfolipasas, proteína de superficie p104, metaloproteasas, proteína Act A, proteasas Clp, y proteína p60^{13, 31, 45}.

Cuando *Listeria monocytogenes* atraviesa la barrera intestinal en los animales e individuos infectados por vía oral, se adhiere a la mucosa intestinal, posiblemente son los residuos de α -D-galactosa de la superficie bacteriana los que se unen a sus receptores de las células intestinales, e invaden las células de la mucosa. Las bacterias se incorporan por fagocitosis inducida, al ser fagocitadas por los pseudópodos de las células epiteliales, formándose la correspondiente vesícula. *Listeria monocytogenes* es encerrada y rodeada de una membrana vesicular, la que rompe utilizando hemolisina O, en menos de 30 minutos. Las bacterias intracelulares quedan libres en el citoplasma de la célula hospedera y comienzan a multiplicarse rápidamente con un tiempo de duplicación de aproximadamente 1 hora^{20, 45}.

Las bacterias intracelulares, para invadir las células adyacentes, se recubren de filamentos de actina, polimerizándolas y formando así colas largas de actina^{13, 20}.

Permitiendo el desplazamiento de la bacteria mas rápidamente si tiene una cola de mayor longitud; este tipo de movilidad le permite desplazarse unos 1,5 $\mu\text{m}/\text{segundo}$ ²⁰. Después cuando la bacteria llega a la membrana plasmática, emite protuberancias de gran tamaño, siendo estas protuberancias interiorizadas por las células adyacentes, originando una membrana de vacuola doble, la cual después se lisa, permitiendo la penetración de la bacteria en su citoplasma y se repite el ciclo de escapar de la vacuola y multiplicarse⁴⁵.

La bacteria también produce catalasa y superóxido dismutasa que la protege de la "explosión" oxidativa del fagosoma. *Listeria monocytogenes* elabora asimismo dos fosfolipasas C, enzimas que rompen las membranas de las células hospederas al hidrolizar sus lípidos, como el fosfatidilinositol y fosfatidilcolina²⁸.

En un estudio realizados a las serovariedades del grupo se observó que las serovariedades 4b, 4ab y 1/2a fueron las mas virulentas en ratones y en cultivo de células Caco-2. La virulencia fue menor en las serovariedades 4a, 4c, 4d, y 4e esto estaría relacionado con menores niveles de producción del factor de virulencia proteína Act A, y con la menor formación del filamento de actina. También en algunas cepas se produjeron menores niveles de listeriolisina O y de internalina^{13, 27}.

2. LISTERIOSIS

La listeriosis es una enfermedad causada por *Listeria monocytogenes*, que no presenta una sucesión única de síntomas ya que el curso de la enfermedad depende del estado del hospedador²⁹. Su emergencia sucede a partir de 1981, con la puesta en evidencia de su transmisión alimentaria^{17, 43}.

La listeriosis es transmitida a través del contacto con animales; infección cruzada o contaminación cruzada, entre recién nacidos en el hospital; y por los alimentos⁵. Otra forma de contraer la infección, es a través de la placenta y por vía directa del canal vaginal¹⁶.

Una persona con listeriosis puede presentar síntomas parecidos a la gripe, tales como fiebre, dolor muscular, tensión de cuello, cansancio y escalofríos, algunas veces síntomas gastrointestinales como diarreas, náuseas y calambres abdominales⁴⁵.

En las personas adultas no embarazadas, *Listeria monocytogenes* tiene un tropismo específico hacia el sistema nervioso central. La listeriosis invasiva (infecciones por *L. monocytogenes* graves), en personas adultas, se manifiesta como bacteriemias o como meningoencefalitis secundaria a una bacteriemia, produciéndose síntomas tales como dolor de cabeza, confusión, pérdida de equilibrio o convulsiones²⁵.

Para algunos el desarrollo de la enfermedad puede ocurrir aproximadamente entre 3 a 70 días después de la exposición³¹.

La listeriosis³¹ es una enfermedad de baja morbilidad, pero alta letalidad (20 a 30% de los casos), y es la tercera causa más frecuente de meningitis bacteriana en recién

nacidos, tras la originada por estreptococos del grupo B y E. coli^{31, 37}.

La listeriosis evoluciona bajo la forma de casos esporádicos que a veces se incrementan en pequeños brotes y aún hasta en verdaderas epidemias. La mayoría de los casos de listeriosis humana son esporádicos y en este tipo de casos, la fuente y la vía de infección generalmente no se conocen, aunque se considera que los alimentos contaminados son la principal vía de transmisión⁴⁵. La listeriosis invasiva es una enfermedad relativamente rara pero a menudo grave, por lo general con tasa de incidencia de 4 a 8 casos por 1 000 000 personas⁶.

Dentro de las manifestaciones de listeriosis invasivas se encuentran las infecciones en el embarazo, que puede ocurrir en cualquier trimestre del embarazo pero con mayor frecuencia en el primer trimestre. La listeriosis materna puede precipitar el parto y esto provocar la muerte fetal o un parto de pretérmino de un feto infectado. La granulomatosis infantiséptica, es otra forma de invasión, que se produce por la transmisión transplacentaria del microorganismo, en donde el lactante presenta abscesos o granulomas diseminados en múltiples órganos^{24, 28}.

También pueden producirse infecciones focales tales como lesiones cutáneas. Se ha observado granulomatosis en veterinarios como resultado del contacto directo con animales infectados y en trabajadores de laboratorios, como resultado de una inoculación directa accidental^{24, 45}.

Otros síndromes clínicos descritos son la osteomielitis, peritonitis, endocarditis, artritis séptica²⁵.

Dentro de las manifestaciones no invasivas se encuentra la gastroenteritis que se da en huéspedes normales que consumen alimentos contaminados con L. monocytogenes²⁴.

2.1. Poblaciones sensibles

La listeriosis es considerada como una infección oportunista que con mayor frecuencia afecta a mujeres embarazadas, fetos, recién nacidos, personas de edad avanzada, y personas con enfermedades subyacentes graves como por ejemplo aquellos con terapia inmunosupresiva, pacientes con SIDA y con condiciones crónicas que deterioran el sistema inmunitario como por ejemplo la cirrosis, trasplante de órganos y hemodiálisis^{17, 25, 28}.

Los recién nacidos pueden adquirir la infección a través de la madre de dos formas: Las madres embarazadas, que son colonizadas con la bacteria en el tracto digestivo tras la ingesta de alimentos contaminados, pueden desarrollar una infección asintomática o una enfermedad parecida a la gripe con fiebre, mialgia o dolor de cabeza¹⁴. Dicha bacteria es transmitida al feto a través de la placenta y las consecuencias para el feto son más graves, incluyendo aborto espontáneo, muerte del feto, nacimiento prematuro, septicemia neonatal grave y meningitis¹³. Alternativamente, las madres pueden ser portadoras, en su tracto digestivo y región perianal, de Listeria y pueden contaminar la piel y el tracto respiratorio de sus hijos durante el alumbramiento; estos niños pueden desarrollar 2 ó 3 semanas más tarde una meningitis bacteriana⁴⁰.

En pacientes enfermos que reciben terapia inmunosupresora, se debilita la resistencia a la infección y también puede alterarse los mecanismos de defensa intestinal, lo que favorece la invasión de las listerias⁴⁵.

Aunque las personas saludables pueden consumir alimentos contaminados sin llegar a enfermar, en ellos el riesgo de infección es mayor y pueden contraer listeriosis probablemente después de volver a comer alimentos contaminados con incluso una pequeña cantidad de bacteria⁴⁵.

2.2. Incidencia

Aunque la mayoría de los casos de listeriosis se dan de forma esporádica, en los últimos años ha despertado un mayor interés debido a las epidemias ocurridas en distintos países asociados al consumo de determinados alimentos.

Según Ellin Doyle, aproximadamente, 76 000 000 de casos de enfermedades alimentarias se estima que ocurren cada año en los Estados Unidos, y de ellos, aproximadamente 2 500 casos (<1%) son causados por *Listeria monocytogenes*, sin embargo la listeriosis es responsable de aproximadamente 27,6% del total de las muertes atribuidas a enfermedades alimentarias¹³. Aunque no se trata de una infección de informe obligatorio, los datos de una vigilancia activa, en Estados Unidos, muestran unas tasas de infección anual entre 1982 y 1986 de 7,4 casos por millón de habitantes, correspondientes a 1850 casos anuales con 425 muertes atribuibles. La mayoría de los casos se concentran en la población menor de un mes y mayor de 60 años¹⁰. Desde 1990, en los Estados Unidos, el número de casos ha disminuido a 44% y el número de muertes relacionadas con listeriosis a un 48%¹⁶.

La listeriosis es denunciada principalmente en países industrializados, los predomios en África, Asia y América del sur, se desconocen o son bajos, posiblemente debido a los modelos de consumo, diferentes hábitos dietéticos, diferencias en la sensibilidad del hospedero, tecnologías diferentes, diferencias en la elaboración y almacenaje de los alimentos⁴⁵.

Aunque la exposición a *L. monocytogenes* es frecuente, la listeriosis invasiva es rara. Se calcula que una significativa proporción de la población (3% a 10%) es portadora de *Listeria* en su tracto gastrointestinal pero no muestran signos de la enfermedad, desconociéndose el riesgo de enfermedad clínica en ellos^{13, 45}.

Desde 1981, las investigaciones epidemiológicas se han centrado en la transmisión de listeriosis por medio del alimento, sin embargo, se han descrito dos vías de transmisión insólitas: La listeriosis contraída en los hospitales, la cual se encuentra en forma esporádica, principalmente en niños compañeros de cuarto, por medio del uso de algún material contaminado, y las infecciones cutáneas primarias sin implicancia sistémica, observadas mayormente en granjeros y veterinarios, por la manipulación de fetos bovinos o de vacas presuntamente infectados⁴⁵.

3. LISTERIA Y SU ASOCIACIÓN CON CARNE DE AVES

Listeria monocytogenes, se le puede encontrar en aguas de desecho, fluviales, afluentes, en el suelo, en el ambiente, y en alimentos tanto de origen vegetal como animal, entre ellos se tiene: leche cruda, huevos, carnes de ave, res y pescado ya sean crudas o cocidas, vegetales tales como repollo o col, lechuga y jugo de lechuga, pepino, pimentón, cebollín, apio, entre otros. También se ha encontrado en alimentos procesados como por ejemplo leche pasteurizada, queso, embutidos, pescado ahumado, paté, mantequilla, o mínimamente procesados, es decir listos para el consumo, como por ejemplo vegetales crudos listos para servir^{11, 14, 16}.

Dentro de los alimentos cárnicos, la carne de ave ocupa un papel importante en la aparición de listeriosis humana, y si bien no se ha relacionado con ningún brote, se cree que es responsable de muchos casos de listeriosis esporádica²⁹.

Ten Broeck (1932) describió por primera vez un caso de listeriosis, al aislar *Listeria monocytogenes* de pollos enfermos⁶. A partir de entonces, se ha observado en al menos unas 22 especies de aves tales como faisanes, pavos, ocas, patos, entre otros. Y fue en 1951 (EE.UU.), que se evidenció a las aves como una fuente de listeriosis humana, cuando se diagnosticó una conjuntivitis por *Listeria* en dos operarios encargados de cocinar aves^{6, 28}.

El alto consumo de carne de ave, especialmente de pollo, y de sus derivados, en todos los países del mundo, en las últimas décadas (ver tabla 2), el carácter psicrotrofo y la gran resistencia a las condiciones del medio por parte de *L. monocytogenes*, ha llevado a la realización de una serie de estudios y de controles a lo largo de la cadena de obtención y procesamientos del mencionado alimento^{6, 26, 28}. En nuestro país, el consumo per cápita de carne de pollo, entre los años 1990 y 1999, varió de 10, 0 a 20,8 k/hab/año³⁴.

Las posibilidades de contaminación de la carne de pollo, por *L. monocytogenes*, se puede dar durante el sacrificio, donde se favorece el contacto con las canales, las heces y las superficies, lo que permite la diseminación de este microorganismo^{6, 45}.

Se ha encontrado que la contaminación de carne de pollo refrigerada o congelada es mayor en comparación con otros alimentos, lo que favorece el aumento de la contaminación cruzada entre alimentos crudos y cocidos sobre todo en el momento de la preparación, ya sea en los hogares o en plantas de procesamiento de productos derivados de ave⁷. Asimismo, numerosos trabajos enfatizan la importancia de *L. monocytogenes* cuando se encuentra contaminando alimentos mínimamente procesados o "listos para comer" como por ejemplo los quesos o los embutidos, ya que éstos no van a sufrir ningún tipo de tratamiento en el hogar antes de ser ingeridos, por lo tanto la dosis infectiva bacteriana no va a variar en absoluto su número al momento de su consumo⁹,
39

Es importante tener en cuenta que no solamente puede producirse contaminación en

las fábricas sino también en la etapa “vendedor final”, en la cual al momento del trozado del producto, no se tiene en cuenta la higiene general y la prevalencia de *L. monocytogenes* en ese ambiente^{9, 39}. Esto se ha podido confirmar mediante el estudio realizado por Curvelo Costa en Nitteroi (Brasil), en el que no se detectó el microorganismo en muestras de pavo enteras mientras que la incidencia de *L. monocytogenes*, en muestras de pavo trozadas, fue de 80% en la piel y 90% en la carne. Asimismo, en dicho estudio se encontraron cepas pertenecientes a los serotipos 4b, 1/2c, 1/2b y 1/2a¹².

Las industrias y los organismos gubernamentales tienen en cuenta la microflora de los productos derivados de carne de ave, como índices de buenas prácticas de fabricación, condiciones de almacenamiento, vida útil y riesgo potencial para la salud pública. En nuestro país, según la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), *Listeria monocytogenes* está considerada como un microorganismo de riesgo moderado, directo, y de diseminación limitada, a diferencia de otros países como Estados Unidos, en el que la presencia de *L. monocytogenes* no está permitida^{15, 26, 28}.

4. LISTERIA Y SU ASOCIACIÓN CON VERDURAS

Los brotes de enfermedad humana debidos a la transmisión de microorganismos patógenos a través de las verduras, son generalmente consecuencia de la contaminación por aguas residuales, aguas con sustancias fecales, agua contaminada para la refrigeración o para el lavado, o la consecuencia de una manipulación no higiénica²⁶.

Listeria monocytogenes está muy difundida en la tierra, donde puede persistir durante mucho tiempo, por lo que los vegetales crudos son vehículos potenciales de listeriosis humana. Uno de los primeros brotes relacionados con verduras, se dio en Canadá (1980), debido a una ensalada de coles, donde las coles habían sido conservadas en refrigeración por un período prolongado, factor que originó el crecimiento de *L. monocytogenes*. Dichas coles se habían cultivado en campos en los que habían pastado ovinos cuya materia fecal contaminó la tierra con *L. monocytogenes*^{26,31}.

Se ha detectado *L. monocytogenes* en hortalizas tales como tomates, lechugas, jugo de lechuga, pepinos, judías, coliflores, brócolis, rábanos, entre otros, en los cuales la contaminación es variable y se ve influenciada por el lugar de cultivo, la zona de recolección, los abonos, la temperatura, los procedimientos de lavado y el contacto con el suelo^{26, 28}.

La producción de hortalizas tanto para consumo nacional como para la exportación ha mostrado un importante crecimiento en muchos países tales como Venezuela, Méjico e inclusive el Perú. En particular, tienen un mercado muy apreciado, entre los países importadores, el brócoli y los espárragos, pero para poder ser aceptados, deben cumplir con todas las normas microbianas, por ejemplo, la ausencia de microorganismos patógenos tales como *L. monocytogenes* en cualquier porción de 25 g¹⁹. En nuestro país, el volumen de exportación de espárragos frescos varió de 22 342.1 toneladas

(2003) a 26 746.8 toneladas (2004), y el de hortalizas preparadas sin congelar varió de 8 890.7 toneladas (2003) a 16 204.7 toneladas (2004)³².

En la industria alimentaria uno de los rubros que ha mostrado mayor desarrollo es el de las verduras crudas empacadas en cortes, que se han hecho populares en los supermercados, en los autoservicios de ensaladas en los restaurantes, para la preparación de diversos tipos de sándwiches, sin embargo, las nuevas técnicas de procesamiento y envasado han aumentado el riesgo asociado con *L. monocytogenes*, debido a su carácter ubicuo y gran adaptación a las condiciones del medio^{14, 19}. Esto se ve demostrado en un estudio realizado en Venezuela, en el que se analizaron muestras de vegetales mínimamente procesados, detectándose un 25% de muestras contaminadas con el género *Listeria* y 9% con *L. monocytogenes*¹⁴.

Monge y Arias-Echandi realizaron un estudio en 50 ensaladas de vegetales frescos con el fin de detectar la presencia de *L. monocytogenes*, encontrando un 32% (16/50) de *Listeria* spp, de las cuales, 8% (10/16) eran *L. monocytogenes*. La presencia de este microorganismo podría representar un riesgo potencial para la salud pública ya que la dosis infectiva no ha sido bien establecida³⁶.

Por otra parte, al igual que en el caso de carne de aves, el riesgo de una posible contaminación cruzada, por parte de verduras contaminadas ya sea crudas, cocidas, refrigeradas o congeladas, siempre está presente, debido a la capacidad de *L. monocytogenes* de multiplicarse y sobrevivir a temperaturas muy bajas, y a una manipulación incorrecta o no higiénica, ya sea durante su procesamiento o en el hogar.

III. MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo se realizó en el laboratorio del Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, durante los meses de setiembre del 2003 a enero del 2004.

1. EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO

EQUIPOS:

- Autoclave eléctrico (KADAN).
- Balanza con sensibilidad mínima de 0.1g (OHAUS).
- Baño de agua para templar o mantener el medio fundido a 44°C o 46 °C.
- Equipo de filtración al vacío (SARTORIUS).
- Horno para esterilización 170 a 180 °C (MEMMERT).
- Incubadora bacteriológica a temperatura de 37 °C (MEMMERT).
- Incubadora bacteriológica a temperatura de 30 °C (MEMMERT).
- Microscopio (BAUSCH & LOMB).

- Refrigeradora (PUFFER-HUBBARD).
- Balanza de dos platillos (OHAUS).

MATERIALES DE VIDRIO:

- Frascos de vidrio con capacidad de 500 mL.
- Matraces de 100, 250, 500 y 1000 mL para la preparación de medios de cultivo.
- Matraces Kitazato para la filtración al vacío de los carbohidratos.
- Pipetas de 1 mL, 5 mL y de 10 mL con subdivisiones de 0,1 mL y de 1 mL con subdivisiones de 0,01 mL.
- Perlas de vidrio.
- Placas de Petri de vidrio 15 x 100 mm.
- Porta objetos.
- Probetas de 250 mL y 500 mL.

MEDIOS DE CULTIVO:

- Caldo de enriquecimiento selectivo para Listeria según Fraser (Merck)
- Bacto Oxford Medium (Difco)
- PALCAM - Agar selectivo para listeria (Merck)
- Agar sangre al 5% (Medio 1)
- CASOY - agar con 0,6 % de extracto de levadura (Merck)
- Caldo Nitrato (Medio 2)
- CASOY - Caldo (Merck)
- Extracto de levadura.
- SIM – Medio de cultivo (Merck)
- Bacto Purple Broth Base (Merck).
- Soluciones de carbohidratos al 5% (esculina, glucosa, manitol, maltosa, ramnosa y xilosa).

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Listeria monocytogenes ATCC 19118
- Listeria monocytogenes ATCC 15313
- Staphylococcus aureus ATCC 25923
- Rhodococcus equi ATCC 6939
- Escherichia coli ATCC 25922

REACTIVOS:

- Aceite de inmersión.

- Tinción de Gram: cristal violeta, lugol, safranina, alcohol acetona
- Prueba de catalasa: Peróxido de hidrógeno solución acuosa al 3 % (10 vol)
- Prueba de reducción de nitratos: reactivo de Gries, zinc pulverizado

2. MÉTODO

La técnica de enriquecimiento y aislamiento empleada fue la recomendada por la NF ISO 11290-1/AFNOR.

2.1. Recolección de muestras

Se recolectó 50 muestras de carne de pollo fresco y 50 muestras de verduras frescas, del mes de septiembre del 2003 hasta el mes de enero del 2004, de diversos mercados y centros de abasto de Lima Metropolitana.

Cada muestra de pollo consistió de una cuarta parte de un pollo entero crudo eviscerado, sea parte de pecho o pierna (incluida la piel).

Las muestras de verduras consistieron en muestras enteras de lechugas, coles, cabezas de apio, atados de espárragos y espinacas.

Las muestras se transportaron al laboratorio, se refrigeraron y se procesaron dentro de las 24 horas de ser recolectadas.

2.2. Procesamiento de las muestras

Se pesó 25 g de cada una de las muestras, tanto de carne de pollo como de verduras, cantidad que fue posteriormente analizada individualmente de la siguiente manera.

- Primer enriquecimiento

Se colocó 25 g de la muestra en un frasco que contenía 225 mL de caldo semiconcentrado Fraser y se llevó a incubación a 30°C por 22 a 26 horas.

- Segundo enriquecimiento

Transcurridas las 24 horas, se tomó 0.1 mL del caldo del primer enriquecimiento y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 10 mL de caldo concentrado Fraser y se llevó a incubación a 37°C por 46 a 50 horas.

2.3. Aislamiento de colonias sospechosas

Transcurridas las 24 horas de incubación del primer paso de enriquecimiento, se tomó una asada del caldo, de cada muestra, y se sembró por estrías en agar Oxford y en agar

Palcam. Se incubó a 35°C por 24 a 48 horas, luego de transcurrido este tiempo se seleccionó de 4 a 5 colonias sospechosas (tomando en cuenta las colonias características para cada tipo de medio), y se sembró en agar CASOY con 0.6% de extracto de levadura, incubándose a 30 °C por 24 a 48 horas.

De manera paralela a partir del paso del segundo enriquecimiento se tomó una asada del caldo de cada muestra y se sembró en estrías en agar Oxford y Palcam y se continuó conforme al procedimiento antes descrito.

Colonias características en:

Agar Oxford: Se observan colonias redondas, con una pequeña depresión en el centro, con un diámetro aproximado de 2 mm, de color gris azulado, rodeadas por un halo negro debido a la hidrólisis de la esculina. La mezcla de los diversos antibióticos (cicloheximida, colistina sulfato, acriflavina, cefotetán y fosfomicina) inhibe en gran medida la flora acompañante en el cultivo selectivo de *Listeria*.

Agar Palcam: Se observan colonias redondas, con una pequeña depresión en el centro, con aproximadamente 1 o 2 mm de diámetro, de coloración verde grisáceo a negro, rodeadas de un halo negro debido a la hidrólisis de la esculina. La mezcla de los 3 antibióticos: Polimixina B sulfato, Ceftazimida y Acriflavina, inhibe en gran medida la flora acompañante en el cultivo selectivo de *Listeria*.

2.4. Diferenciación bioquímica de las cepas aisladas

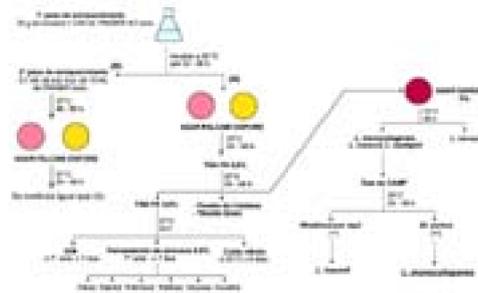
Se procedió a realizar las siguientes pruebas, según lo recomendado en el Manual de Bacteriología Analítica. Novena edición ¹⁸.

Pruebas bioquímicas

- **Morfología Microscópica:** Determinada a través de la tinción de Gram.
- **Prueba de Catalasa:** Para comprobar la presencia de la enzima catalasa mediante la adición de peróxido de hidrógeno.
- **Fermentación de Carbohidratos:** Se inoculó una asada tomada del CASOY con 0,6% de extracto de levadura, en tubos que contenían caldo púrpura de bromocresol con 0.5% de carbohidrato (esculina, maltosa, ramnosa, manitol, glucosa y xilosa) y se incubó a 35 °C por 7 días. La variación a una coloración amarilla indica una reacción positiva para *Listeria* spp.
- **Movilidad en Medio Semisólido:** Se Inoculó por puntura en medio semisólido SIM, se incubó por 7 días a temperatura ambiente, y se observó diariamente la movilidad de la bacteria.
- **Reducción de Nitratos:** Se inoculó una asada tomada del CASOY con 0,6% de extracto de levadura en caldo nitrato, se incubó a 35 °C por 5 días. Para la lectura se agregó el reactivo de Gries, luego de 30 segundos si no se observó desarrollo de color se adicionó zinc en polvo, se observó una coloración roja o rosada en el medio correspondiente a la reacción negativa para *Listeria monocytogenes*.

- **Prueba de Hemólisis:** A partir del agar CASOY con 0.6% de extracto de levadura se sembró en placas de agar sangre de carnero al 5%, se incubó por 24 a 48 horas, y se observó el tipo de hemólisis.
- **Prueba de CAMP:** En una placa de agar sangre de carnero se sembró una estría de la cepa *Staphylococcus aureus* y paralelamente una de *Rhodococcus equi*, separadas lo suficiente para que entre éstas, se pueda estriar transversalmente las cepas sospechosas, sin que lleguen a tocarse (aproximadamente 1 ó 2 mm de separación). Incubar a 35°C por 24 a 48 horas.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Listeria monocytogenes*



IV. RESULTADOS

De las muestras analizadas, repartidas en 50 muestras de pollo y 50 muestras de verduras, se logró aislar *Listeria monocytogenes* de una muestra de pollo (2%) y de una muestra de de verduras (2%). (Tabla N° 8)

De las 50 muestras de verduras, 7 correspondieron a espinacas, 13 a espárragos, 5 a lechuga, 11 a coles y 14 a apio. De las 13 muestras de espárragos, el 7,7% (una muestra) presentó *L. monocytogenes*. Se detectó *Listeria innocua*, en espárragos (7,7%), lechuga (20%), coles (9,1%) y apio (7,1%). (Tabla N° 9)

En las Tablas N° 6 y N° 7, se aprecia las características bioquímicas de las cepas de *Listeria* aisladas de muestras de pollo y verduras, respectivamente, en donde se tiene que *L. monocytogenes* es Gram (+), catalasa (+), presenta motilidad en forma de paraguas en medio SIM, no reduce nitratos, no utiliza la xilosa ni el manitol, y presenta reacción β -hemolítica en la prueba de CAMP, a diferencia de la *L. innocua*, que no produce hemólisis.

En la Tabla N° 10, se muestra el aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo, teniendo en cuenta el lugar de procedencia, donde, de un total de 5 muestras obtenidas en el mercado Mayorista Minka, se aisló *L. monocytogenes* en una de ellas (20%). Se identificó *L. innocua* en 20% de muestras del mercado Central; en 46,7% de muestras del mercado Modelo de Surquillo; y en 20% de muestras obtenidas del mercado N°1 de La Victoria.

En la Tabla N° 11, se muestra el aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras

Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana

de verduras, teniendo en cuenta el lugar de procedencia, donde, en 6,7% de muestras obtenidas del mercado Modelo de Surquillo, se detectó *L. monocytogenes*. *Listeria innocua* fue detectada en un 20% de muestras obtenidas del mercado Modelo de Surquillo y en 10% de muestras obtenidas del mercado N°1 de La Victoria.

V. DISCUSIÓN

La alta demanda de carne de pollo y de los vegetales, ya sea por razones económicas, por su rápido cocinado, su valor nutritivo, bajo valor calórico, además, de la existencia de una gran variedad de productos derivados listos para comer (salchichas, hot dogs, jamonadas, etc), hacen que estos productos formen parte de la dieta diaria de la población.

Si bien el proceso de cocinado del pollo y de ciertos vegetales antes de su consumo, disminuyen los riesgos de contaminación, el problema surge en un cocinado insuficiente o si los productos crudos se someten a un proceso de refrigeración o congelamiento, debido al carácter psicrotrófico de la *Listeria monocytogenes*, que no sólo es capaz de sobrevivir a temperaturas menores de 4°C sino que también es capaz de multiplicarse a estas bajas temperaturas.

La incidencia de *Listeria monocytogenes* encontrada en este estudio fue de 2% en carne de pollo cruda y 2% en verduras, específicamente en espárragos. Lo cual es similar a lo señalado por Pelisser, que indica que el rango de aislamiento de *L. monocytogenes* de pollos es de 2% a 94%, siendo este rango variable, dependiendo del país de origen y del método empleado³⁸. Asimismo, en el estudio para determinar la incidencia de dicha bacteria en pavos, realizado por Polaina Curvelo, en Niteroi (Brasil), no se detectó *L. monocytogenes* en muestras de carne de pavo enteras¹².

En el estudio realizado en ensaladas de vegetales frescos se encontró que de 50 muestras de ensalada, del 32% de las muestras se aisló *Listeria* spp., *L. monocytogenes* del 8%, *L. welshimeri* del 8% y *L. murray* del 4%³⁶; y en otro estudio realizado en la

región del Bajío (Méjico), en brócoli y en la tierra de cultivo del mismo, se detectó *L. monocytogenes* en un 7% en la tierra y 3% en el brócoli recién cosechado ¹⁹.

Debido al carácter ubicuo de la *L. monocytogenes*, la contaminación de las muestras puede haberse dado en la granja, al momento del transporte, en el hacinamiento en las jaulas por el contacto de las heces, al momento de manipular el alimento en el expendio, o en cualquier parte de la cadena alimenticia. En el caso de los vegetales puede haberse dado por el agua de regadío, en la cosecha o por contaminación cruzada con otros alimentos contaminados. Así se tiene que un estudio realizado en una planta procesadora de productos derivados de carne de pollo, se encontraron especies de *Listerias*, tanto en el ambiente como en las superficies de equipos destinados al procesamiento, pisos, manijas de puertas, guantes del personal, fajas, entre otros; teniendo que en ambientes de procesamiento de pollo crudo y cocido se determinó 46% y 29% de *Listeria* spp. y 26% y 15% de *L. monocytogenes*, respectivamente ³⁰.

En otros estudios realizados en pollos, se ha encontrado que hay una alta incidencia en muestras obtenidas de carne de ave fileteada, congelada o refrigerada, o mínimamente procesada, es decir lista para el consumo, y en muestras de verdura mínimamente procesada. Por ejemplo, en Brasil, se detectó *L. monocytogenes* en carne de pavo fileteada (50% en muestras de piel de pavo fileteado y 90% en jamonada) ¹². En Florianópolis (Brasil), en un estudio realizado en carcasas de pollo refrigeradas, se encontró 29,2% de especies de *Listeria* 14,6% de *L. monocytogenes*, 12,5% de *L. innocua* y 2,1% de *L. seeligeri*. Y, en un estudio, realizado en Venezuela, en vegetales mínimamente procesados, se detectó que el 30% de las colonias características obtenidas de agar Palcam, correspondían a *L. monocytogenes*, el 36,5% a *L. innocua*, el 13,3% a *L. ivanovii*, el 10% a *L. welshimeri*, el 6,67% a *L. seeligeri* y el 3,33% a *L. grayi*.

De lo anteriormente expuesto se puede ver que si bien la baja incidencia de *L. monocytogenes* en las muestras de carne de pollo cruda y verduras, encontradas en este estudio, no significa un alto riesgo para la población, ya que éstos son obtenidos, lavados y preparados el mismo día, no da mucho tiempo para que la bacteria pueda proliferar, pero en el caso de que dichos productos, no se sometan a una correcta manipulación higiénica o a un correcto cocimiento o se destinen a un periodo de congelamiento o refrigeración, el riesgo potencial aumenta. Mas aún, existe un mayor riesgo de contaminación en productos ya procesados, listos para el consumo, carnes de pollo fileteadas, verduras mínimamente procesadas, por lo que se debería prestar atención en la detección de la presencia de *L. monocytogenes* en éstos.

VI. CONCLUSIONES

1. La incidencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de carne fresca de pollo y muestras de verduras frescas obtenidas de diversos mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana fue de 2%, en ambos casos.

2. Se aisló *Listeria monocytogenes* de muestras de carne fresca de pollo y verduras frescas mediante los medios selectivos Oxford y Palcam.

3. Se identificó *Listeria monocytogenes* mediante pruebas bioquímicas, resultando una muestra de pollo positiva proveniente del mercado Mayorista Minka y una muestra positiva de verduras, de espárragos, proveniente del mercado Modelo de Surquillo.

BIBLIOGRAFÍA

- AFNOR (Association Française de Normalisation). 1996. NF ISO 11290- 1: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: detection method.
- Almeida C, Schuch D, Gelli D, Cuellar J, Diez A, Escamilla J. 1996. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública. Organización Panamericana de la Salud. 52
- Alvaro M, Maguiña C, Figueroa E, Calderón V, Cabala P, Cabrera K. 2003. Meningitis neonatal por *Listeria monocytogenes*: reporte de un caso en el Hospital III Puno EsSalud. Abstractos Nacionales. 26.
<http://www.upch.edu.pe/tropicales/investiga/contenido/ABSTRACTOSNACIONALES.htm>
(día de acceso: 01/07/04).
- Astudillo M, Payán A. 1994. Listeriosis neonatal: ¿enfermedad poco frecuente o no diagnosticada? Enfoque microbiológico. Colombia Médica. 25, Nº 2 :69 - 72.
<http://colombiamedica.univalle.edu.co/Vol25No2/listeriosis.html> (Día de acceso: 24/02/04).
- Bell C, Kyriakides A. 2000. Listeria. Una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza.
- Capita R, Alonso-Calleja C, García-Linares M, Moreno B, García-Fernandez C. 2000. *Listeria monocytogenes* y carne de pollo. ALIMENTACIÓN. Equipos y Tecnología. Año XIX. Nº3. Abril, 73 – 80.

- Capita R, Alonso C, García MT, Moreno B y García Fernandez C. 1999. El pollo como alimento. ALIMENTACIÓN. Equipos y Tecnología. Año XVIII. Nº7. Setiembre, 101 - 108.
- Comi G, Frigerio R. 1992. *Listeria monocytogenes* serotypes in Italian meat products. Letters in Applied Microbiology. 15, 168-171.
- Copes J, Pellicer K, Echevarria HG, Stanchi NO, Martinez C, Leardini N. 1999. Investigación de *Listeria monocytogenes* en queso de pasta blanda. Revista Argentina de Microbiología. 32, 49-52.
- Crespo MP, Vélez JD. 1999. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel. Colombia Médica. 30(2): 89-98.
- Curtis GDW, Lee WH. 1995. Culture media and methods for the isolation of *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology. 26:1-13
- Curvelo P. 2002. Ocurrence of *Listeria monocytogenes* in turkey's meat products commercialized in Nitteroi Country-RJ-Brazil. Acta scientae Veterinariae, 30(1):19-25.
- Doyle ME. 2001. Virulence characteristics of *Listeria monocytogenes*. Food Research Institute Briefings. <http://www.wisc.edu/fri/briefs/virulencelmono.pdf>. (Día de acceso: 25/03/04)
- De Curtis ML, Franceschi O, De Castro N. 2002. *Listeria monocytogenes* en vegetales mínimamente procesados. Archivos Latinoamericanos de Nutrición.52(3). <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sciarttex&pid=S000406222002000300009&Ing=es&nr> (Día de acceso: 24/02/04)
- El Peruano. 2003. Normas Legales. Resolución Ministerial Nº 615-2003-SA/DM. Norma sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.
- Estrada O. 2004. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en Leche cruda obtenida en establos del departamento de Lima. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- FAO/OMS. 2000. Consulta Mixta FAO/OMS de Expertos sobre la Evaluación de Riesgos Asociados a los Peligros Microbiológicos en los Alimentos. Sede de la FAO, Roma. 27-55.
- FDA-CFSAN. 2002. *Listeria monocytogenes*. En: Bacteriological Analytical Manual. Novena edición. Capítulo 10.
- Fernández EE. 1999. Riesgos a la salud asociados a la contaminación, supervivencia y desarrollo de *Listeria monocytogenes* en el procesamiento de brócoli precocido y congelado en plantas del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Méjico.
- Forsythe SJ. 2000. Alimentos Seguros. Microbiología. Editorial Acribia S.A. 93.
- Fuchs RS y Sirvas S. 1991. Incidence of *Listeria monocytogenes* in an acidified fish product, ceviche. Letters in Applied Microbiology 12: 88-90.
- Geldres AC. 1957. *Listeria monocytogenes* en ovinos. Tesis para optar el grado de Bachiller. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Guerra E, Morales V, Vera L. 1996. Investigación preliminar de la presencia de *Listeria*

- monocytogenes en pescado fresco en el mercado de abastos en Piura-Perú. Libro de resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos. Lima.
- Harris LJ. 2001. *Listeria monocytogenes* CLASS NOTES PHR 150. Department of Food Science and Technology. University of California-Davis.
<http://www.vetmed.ucdavis.edu/PHR/PHR150/2001/L.monocytogenes42001.pdf> (Día de acceso: 02/07/04)
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1996. Microbiología de los alimentos. Características de los patógenos microbianos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza. 165-209.
- ICMSF. 2001. Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia. Zaragoza. 69-111, 201-229
- Jaradat ZW, Bhunia A. 2003. Adhesion, Invasion, and Translocation Characteristics of *Listeria monocytogenes* Serotypes in Caco-2 Cell and mouse Models. Applied and Environmental Microbiology. 69(6): 3640-3645.
- Jay JM. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. Cuarta Edición. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza. 457-480.
- Laciar AL, Vaca L, De Centorbi ONP. 1999. *Listeria* spp., en alimentos de origen animal. Revista Argentina de Microbiología. Vol 31: 25-30.
- Lawrence LM, Gilmour A. 1994. Incidence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in a Poultry Processing Environment and in Poultry Products and Their Rapid Confirmation by Multiplex PCR. Applied and Environmental Microbiology. 60(12):4600-4604.
- Michanie S. Universidad de Belgrano. Argentina. *Listeria monocytogenes*. La bacteria emergente de los 80. 2004. FAO. Departamento Agrícola. Dirección de Producción y Sanidad Animal. <http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/es/health/diseases-cards/cards/listeria.html> (día de acceso: 13/07/04).
- Ministerio de Agricultura. Dirección general de Información Agraria. 2004. Estadística Agraria Mensual. Lima. 133-134.
- Ministerio de Agricultura. Oficina de Información Agraria. 1999. Industria Avícola. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima. 5-40.
- Ministerio de Agricultura. Oficina de Información Agraria. 1999. Producción Pecuaria e Industria Avícola. Lima. 54.
- Ministerio de Agricultura. Oficina de Información Agraria. 1998. Hoja de balance de alimentos (HOLABI). Lima. 29.
- Monge R, Arias-Echandi ML. 1999. Presence of *Listeria monocytogenes* in fresh salad vegetables. Revista Biomédica. 10: 29-31.
- Oteo J, Alós J. *Listeria* y Listeriosis. Control de Calidad SEIMC.
<http://www.seimc.org/control/reviBacte/listeria.htm> (Día de acceso: 24/02/04).
- Pelisser MR, Mendes SDC, Sutherland AD, Batista CRV. 2001. Detection of listeria species in refrigerated chicken carcasses using clearviewTM and a modified conventional culture method. Brazilian journal of Microbiology. 32(2):113-116.
- Pellicer K, Copes J, Malvestiti L, Lanfranchi M, Stanchi N, Echevarria G, Nosetto E.

2002. Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. En embutidos secos obtenidos en mercados de la ciudad de La Plata. Revista Argentina de Microbiología. 34, 219-221.
- Pereda J, Orbegoso C, Larch M. 1963. Listeriosis en el recién nacido. Reporte de un caso. Revista Medica Peruana. 32(334):135-140.
- Pereda J. 1977. Estudio de las lesiones histológicas de la listeriosis del feto y el recién nacido. Tesis doctoral. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima.
- Ramos I. 1991. Aislamiento e Identificación de *Listeria* spp. en productos hidrobiológicos frescos y procesados en nuestro litoral. Informe de prácticas Pre-profesionales para optar el Título profesional de Biólogo con mención en Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- Remacha MA, Herrera JA, Esteban A, Roiz V, Quiroga L, Parra I. 2002. Bacteriemia por *Listeria monocytogenes*. Revista de Diagnóstico Biológico. 51(3).
- Rivadeneira C, Apesteguía R. 1996. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en productos hidrobiológicos. Libro de Resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos. Lima.
- Rocourt J, Cossart P. *Listeria monocytogenes*. En Doyle MP, Beuchat LR, Monteville TJ. 2001. Microbiología de los Alimentos, Fundamentos y fronteras. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza. 355-369.
- Trepati M. 2002. Incidencia y comportamiento de Salmonella y Listeria en pechugas de pavo curadas. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Villanueva E. 2000. *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de 5 mercados de expendio en Lima. Tesis pregrado. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

ANEXOS

Medio 1: AGAR SANGRE AL 5%

Composición del Medio Base (g/L):

Extracto de carne	10,0 g
Peptona	10,0g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	15,0 g

Poner en suspensión los ingredientes en 1 litro de agua destilada, mezclar bien y calentar hasta disolución completa y si fuera necesario ajustar el pH $7,2 \pm 0,2$. Distribuir en volúmenes de 95 mL y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar el medio a 45°C - 50°C y añadir 5 mL de sangre desfibrinada de carnero estéril a cada 95 mL de medio base, verter en placas y dejar solidificar.

Medio 2: CALDO NITRATO

Composición (g/L):

Extracto de carne	3,0 g
Peptona	5,0 g
Nitrato potásico	1,0 g
pH final 7.0 +/- 0.2	

Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana

Los ingredientes se disuelven totalmente en 1 litro de agua destilada, se distribuye en tubos y se esteriliza en autoclave a 121 °C por 15 minutos y 15 libras de presión.

Tabla Nº 1. PERÚ: Consumo Per cápita de carne de aves según año, 1990 – 99 (k/hab/año)

Año	Pob. Habit.	Total	Ave 1/	Pollo
1990	21 569,3	35,5	11,5	10,0
1991	21 966,4	32,7	13,4	12,0
1992	22 354,4	34,5	14,4	13,0
1993	22 740,2	33,6	13,4	12,1
1994	23 130,3	36,6	15,4	14,1
1995	23 531,7	39,9	17,6	16,0
1996	23 946,8	38,6	17,3	15,8
1997	24 371,0	39,9	18,5	16,8
1998	24 800,8	41,2	20,3	18,3
1999	25 232, 2	44,7	22,5	20,8

Fuente: Ministerio de Agricultura – Oficina de Información Agraria (MINAG-OIA)

1/ Incluye: carne pollo (Nacional e Importada), gallina, pato y pavo.

Tabla Nº 2. Consumo Per cápita de Carne de Ave en el Perú y otros Países del Mundo según año, 1990 y 97 (k/pc/año)

País	1990	1997
China	3,2	8,6
Chile	9,0	20,4
Ecuador	6,8	15,0
Bolivia	6,5	12,1
México	10,0	18,5
Tailandia	9,2	15,5
Brasil	14,3	23,9
Venezuela	12,7	20,7
Perú	6,8	10,9
Argentina	11,4	18,1
Reini Unido	18,6	25,7
Colombia	8,5	11,5
Francia	20,9	24,3
Canadá	27,7	31,9
Estados Unidos	39,5	45,3
Japón	13,5	14,8
España	23,1	23,9
Italia	19,5	18,5

Fuente: Ministerio de Agricultura – Oficina de Información Agraria (MINAG-OIA)

Especie	Aminoácidos	Lipídios	Carbohidratos	Ácidos nucleicos	Elementos de cenizas	Elementos de cenizas y otros					
						Calcio	Fósforo	Magnesio	Sodio	Potasio	Cloro
L. monocytogenes	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10
L. innocua	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10
L. seeligeri	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10
L. ivanovi	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10
L. grayi	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10
L. welshii	15	20	18	12	10	15	10	12	10	15	10

Tabla N° 3. Caracterización bioquímica de las especies del género Listeria.

Tabla N° 4. Relación de muestras de pollo y verduras según fecha de muestreo y lugares de procedencia

Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana

tipo de Muestra		Fecha de muestreo	Mercado o centro de abastecimiento
Pollo	Verduras		
1	1 (e)	05/11/2003	Mercado Central
2	2 (e)		
3	3 (e)		
4	4 (e)		
5	5 (es)		
6	6 (es)	12/11/2003	Mercado Mayorista Minka
7	7 (es)		
8	8 (es)		
9	9 (es)		
10	10 (es)		
11	11 (es)	19/11/2003	Mercado Modelo de Surquillo
12	12 (es)		
13	13 (es)		
14	14 (es)		
15	15 (es)		
16	16 (e)	28/11/2003	Mercado la Aurora
17	17 (e)		
18	18 (e)		
19	19 (es)		
20	20 (es)		
21	21 (l)	05/12/2003	Mercado Modelo de Surquillo
22	22 (l)		
23	23 (a)		
24	24 (a)		
25	25 (c)		
26	26 (a)	12/12/2003	Mercado N°1 La Victoria
27	27 (a)		
28	28 (a)		
29	29 (a)		
30	30 (a)		
31	31 (a)	02/01/2004	Mercado Central
32	32 (l)		
33	33 (l)		
34	34 (l)		
35	35 (a)		
36	36 (a)	09/01/2004	Mercado Palermo
37	37 (a)		
38	38 (a)		
39	39 (a)		
40	40 (a)		
41	41 (c)	21/01/2004	Mercado Modelo de Surquillo
42	42 (c)		

Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimiento de Lima Metropolitana

Tabla N° 7. Relación de muestras de verduras de las que se aisló Listeria según procedencia, agares selectivos e identificación bioquímica

Muestra 14: espárrago.

Muestra 15: espárrago.

Muestra 22: lechuga.

Muestra 25: col.

Muestra 30: apio.

Tabla N° 8. Porcentaje de *Listeria monocytogenes* aislada de muestras de pollo y verduras

ESPECIE DE LISTERIA	Pollo		Verduras	
	N° de muestras	%	N° de muestras	%
L.monocytogenes	1	2	1	2
L.innocua	11	22	4	8
ninguna	38	76	45	90
total	50	100	50	100

Tabla N° 9. Porcentaje de *Listeria monocytogenes* aislado según el tipo de verdura

Especie de Listeria	TIPO DE VERDURA MUESTREADA									
	Espinaca		Espárrago		Lechuga		Apio		Col	
	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%
L. monocytogenes	0	0	1	7.7	0	0	0	0	0	0
L. innocua.	0	0	1	7.7	1	20	1	7.1	1	9.1
ninguna	7	100	11	84.6	4	80	13	92.8	10	90.9
TOTAL	7	100	13	100	5	100	14	100	11	100

Tabla N° 10. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo según el lugar de procedencia

Mercado o Centro de Abastecimiento de Procedencia												
Especie de Listeria	Mercado Central		Mercado Mayorista Minka		Mercado Modelo de Surquillo		Mercado la Aurora		Mercado N°1 de la Victoria		Mercado Palermo	
	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	1	20	0	0	0	0	0	0	0	0
Listeria innocua	2	20	0	0	7	46.7	0	0	2	20	0	0
ninguna	8	80	4	80	8	53.3	5	100	8	80	5	100
TOTAL	10	100	5	100	15	100	5	100	10	100	5	100

Tabla N° 11. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras de verduras según el lugar de procedencia

Mercado o Centro de Abastecimiento de Procedencia												
Especie de Listeria	Mercado Central		Mercado Mayorista Minka		Mercado Modelo de Surquillo		Mercado la Aurora		Mercado N°1 de la Victoria		Mercado Palermo	
	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%	N° de muestras	%
L. monocytogenes	0	0	0	0	1	6.7	0	0	0	0	0	0
Listeria innocua	0	0	0	0	3	20	0	0	1	10	0	0
ninguna	10	100	5	100	11	73.3	5	100	9	90	5	100
TOTAL	10	100	5	100	15	100	5	100	10	100	5	100



Fotografía N° 1. Crecimiento de colonias de *Listeria monocytogenes* en Agar Oxford



Fotografía N° 2. Crecimiento de colonias de *Listeria monocytogenes* en Agar Palcam.



Fotografía N° 3. Vista microscópica de *Listeria monocytogenes* en una tinción Gram

Fuente: www.genomenewsnetwok.org/articles/07_01/list/07_00/listeria_bac.shtml

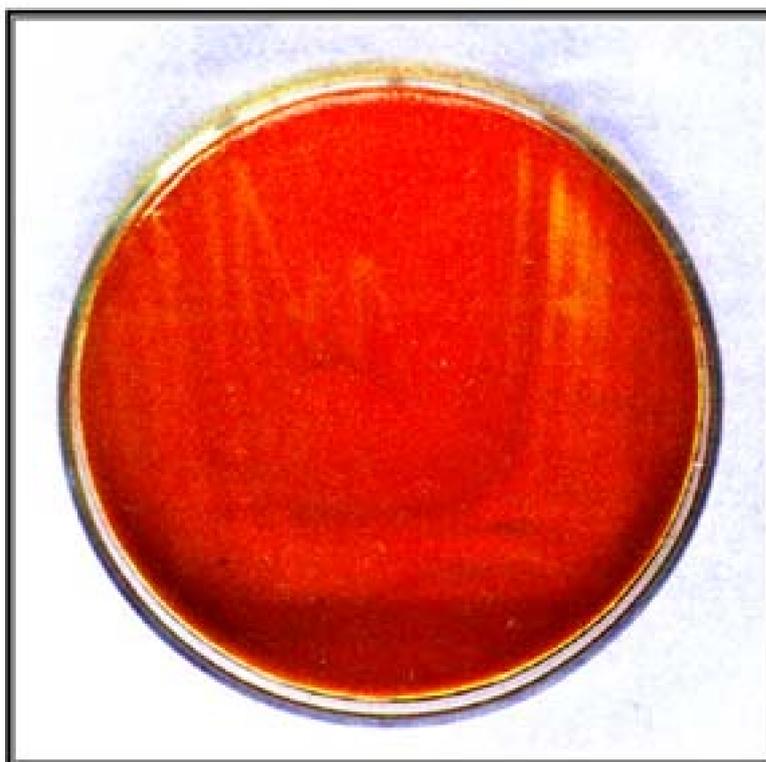


Fotografía N° 4. Fermentación de Carbohidratos por Listeria monocytogenes en medio púrpura de bromocresol con carbohidratos al 0.5 %.

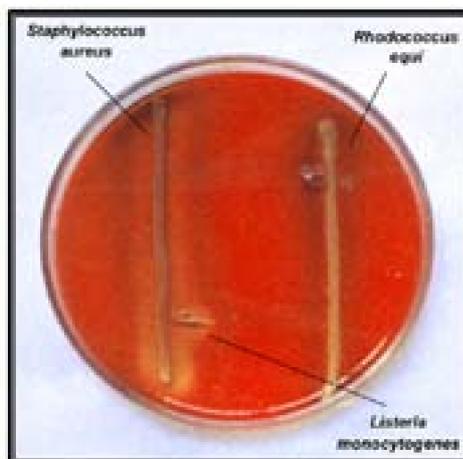
Es: esculina; Xi: xilosa; Mol: manitol; Ma: maltosa; Ra: ramnosa; Gl: glucosa; B: blanco.



Fotografía N° 5. Movilidad en forma de paraguas de Listeria monocytogenes en medio SIM



Fotografía N° 6. β -hemólisis de *Listeria monocytogenes* en agar sangre al 5%



Fotografía N° 7. PRUEBA DE CAMP (CRHISTIE-ATKINS-MUNCH-PETERSON)

Se observa la hemólisis pronunciada producida por *Listeria monocytogenes* cerca de la zona de la hemólisis producida por *Staphylococcus aureus*.