

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



IDENTIFICACION DE *Listeria monocytogenes* EN CARNE DE RES CRUDA
COMERCIALIZADA EN LOS PRINCIPALES SUPERMERCADOS DEL AREA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
VERONICA SARAI GONZALEZ HERNANDEZ
FRANCISCO JOSE VASQUEZ DEL CID

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO DE 2008

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz.

ASESORA DE AREA DE CALIDAD AMBIENTAL

Licda. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

DOCENTE DIRECTORA

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos

AGRADECIMIENTOS

Los más profundos y sinceros agradecimientos a los asesores de este trabajo: Lic. Amy Elieth Moran Rodríguez y MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos. Por su valiosa asesoría en la coronación de este humilde trabajo.

Al laboratorio de control de calidad microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por habernos prestado sus instalaciones ya que sin estas no se hubiera podido realizar esta investigación así como también al Señor Juan José Rivas técnico de este laboratorio, que fue de ayuda incondicional en cada una de las etapas de nuestro trabajo.

A todas las personas que colaboraron con su apoyo en la realización de este trabajo de graduación sin esperar recompensa alguna más que la bendición del todopoderoso.

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios porque a lo largo de mi vida me ilumino y fortaleció en todo momento, para alcanzar las metas propuestas, permitiéndome así terminar mi carrera universitaria.

A mi padre amado, Carlos González Lemus, por el apoyo incondicional que siempre me ha brindado en el transcurso de mi vida.

A mis abuelos queridos, Isabel González y Tomas Lemus, por la comprensión y cuidados que me han brindan todos los días de mi vida.

Al resto de mi familia, tíos y primos que siempre estuvieron a mi lado apoyándome en todos los sentidos.

A mis amigas y compañeras Karen, Linda, Gardenia, Magdalena y Ana Silvia, porque creyeron en mi y me dieron su apoyo en todos los momentos.

A mis maestros por enseñarme sus conocimientos y ser parte de este triunfo.

A mi compañero de tesis por el apoyo que me brindo.

Verónica Saraí González Hernández

DEDICATORIA

Primeramente al Señor Jesús por iluminarme en cada una de las etapas de mi vida y en la coronación de esta carrera y a ayudarme a no desfallecer cuando los tiempos eran difíciles.

A mi madre, Rosa Alicia del Cid por creer en mi y en mi sueño que ahora es una realidad gracias a ella.

A mi abuelita querida, Herminia Ibarra del Cid, por todo su amor y cariño que me llenaron de fuerza para culminar esta hermosa carrera.

A todos mis familiares que me apoyaron para la conquista de esta meta.

A todos mis maestros que a lo largo de mi vida inculcaron buenos principios y conocimientos para lograr ser una persona de bien.

Finalmente a mi compañera de tesis, Verónica Sarai González Hernández que fue pilar fundamental; y el último escalafón pero el más importante para alcanzar el éxito.

Francisco José Vásquez del Cid

INDICE

	Pág.
Resumen	
Capitulo I	
1.0 Introducción	xix
Capitulo II	
2.0 Objetivos	
Capitulo III	24
3.0 Marco Teórico	25
3.1 Definición de Carne	25
3.2 Componentes de la carne	25
3.2.1 Agua	25
3.2.2 Proteínas	26
3.2.3 Grasa	27
3.2.4 Hidratos de Carbono	28
3.2.5 Sales minerales	28
3.3 Cualidades físicas de la carne	28
3.3.1 Terneza	29
3.3.2 Color	29
3.3.3 Aroma	29
3.3.4 Textura	30
3.3.5 Jugosidad	30
3.4 Generalidades de <i>Listeria monocytogenes</i> .	31
3.4.1 Patogénesis,	32
3.4.2 Ciclo infectivo de <i>Listeria monocytogenes</i> .	33
3.4.2.1 Entrada a las células del hospedero,	34

3.4.2.2 Escape del fagosoma y desarrollo intracelular.	34
3.4.2.3 Desplazamiento intracitoplasmático	35
3.4.2.4 Diseminación de célula a célula.	35
3.5 Epidemiología.	36
3.6 Control.	39
3.7 Síntomas.	41
3.8 Tratamiento.	43
Capítulo IV	45
4.0 Diseño Metodológico.	46
4.1 Tipo de estudio.	46
4.2 Investigación bibliográfica	46
4.3 Investigación de campo.	47
4.4 parte experimental.	53
4.4.1 Tratamiento de la muestra.	53
4.4.1.1 Enriquecimiento.	53
4.4.2 Aislamiento	53
4.4.3 Identificación	54
4.4.3.1 Catalasa.	54
4.4.3.2 Hemólisis.	54
4.4.3.3 Prueba de CAMP.	55
4.4.3.4 Motilidad.	55
4.4.4 Pruebas bioquímicas.	56
4.4.4.1 TSI	56
4.4.4.2 Reacción de Voges Proskauer.	56
4.4.4.3 Reacción de Indol.	56
4.4.4.4 Prueba de rojo de Metilo.	57
4.4.4.5 Fermentación de carbohidratos.	57
4.4.4.6 Enumeración de <i>Listeria monocytogenes</i>	58

Capitulo V	59
5.0 Resultados	60
5.1 Resultados del análisis microbiológico de las Muestras de carne recolectadas en los diferentes supermercados.	60
5.1.1 Interpretación de signos y abreviaturas	60
5.1.2 Primer muestreo.	62
5.1.2.2 Discusión de resultados del 1º muestreo	68
5.1.3 Segundo muestreo.	70
5.1.3.1 Discusión de resultados del 2º muestreo	76
5.1.4 Tercer muestreo.	78
5.1.4.1 Discusión de resultados del 3º muestreo	84
5.1.4.2 Discusión de resultados de los tres muestreos	86
Capitulo VI	88
6.0 Conclusiones	89
Capitulo VII	91
7.0 Recomendaciones	92
Bibliografía.	
Glosario.	
Anexos.	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Carta emitida por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.
- 2 Límites Microbiológicos según Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO 67.02.13:98).
- 3 Tipificación de colonias y pruebas bioquímicas.
- 4 Diferenciación de especies de *Listeria*
- 5 Prueba de CAMP
- 6 Ubicación de supermercados a muestrear.
- 7 Material y equipo de laboratorio.
- 8 Mapa de la zona metropolitana de San Salvador.
- 9 Esquema de la discusión del primer muestreo.
- 10 Esquema de la discusión del segundo muestreo
- 11 Esquema de la discusión del tercer muestreo
- 12 Esquema de la discusión de los tres muestreos.
- 13 Imágenes del aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes*.

INDICE

CUADRO N°	pág.
1. Agrupación de los supermercados en estratos	47
2. Cantidad de supermercados a muestrear por Cada estrato,	49
3. Cortes de carne cruda de res.	49
4. Cortes de carne de res comercializada en los principales supermercados.	50
5. Cortes de carne a muestrear.	51
6. Supermercados a muestrear.	51
7. Resultados obtenidos del análisis de la cepa pura de <i>Listeria monocytogenes</i> .	61
8. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1(primer muestreo).	62
9. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2(primer muestreo).	63
10. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3(primer muestreo).	64
11. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 4(primer muestreo).	65
12. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Dispensa de Don Juan (primer muestreo).	66

13. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Hiper Europa (primer muestreo).	67
14. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1(segundo muestreo).	70
15. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2(segundo muestreo).	71
16. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3(segundo muestreo).	72
17. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 4(segundo muestreo).	73
18. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Dispensa de Don Juan (segundo muestreo).	74
19. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Hiper Europa (segundo muestreo).	75
20. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1(tercer muestreo).	78
21. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2(tercer muestreo).	79
22. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3(tercer muestreo).	80
23. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 4(tercer muestreo).	81

24. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado	
Despensa de Don Juan (tercer muestreo).	82
25. Resultados obtenidos de las muestras del supermercado	
Hiper Europa (tercer muestreo).	83

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°:	pág.
1. Grafico de los resultados del muestreo N° 1.	68
2. Grafico de los resultados del muestreo N° 2.	76
3. Grafico de los resultados del muestreo N° 3.	84
4. Grafico de los resultados obtenidos de los tres Muestreos.	86

ABREVIATURAS

MSPA: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

BAM: Manual de Análisis Bacteriológico

CAMP: Christie-Atkins-Munch-Peterson.

LEB: Caldo de Enriquecimiento de *Listeria*.

TSBye: Caldo Tripticasa Soya + extracto de levadura.

TSAye: Agar Tripticasa Soya + extracto de levadura.

VP: Voges Proskauer.

RM: Rojo de Metilo

TSI: Agar tres azúcares y Hierro.

RESUMEN

La presente investigación comprende la identificación de *Listeria monocytogenes* en carnes de res cruda que se comercializa en los principales supermercados de la zona metropolitana de San Salvador. Para cumplir dicho objetivo se utilizó la metodología establecida en el Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) de la Asociación de alimentos y Drogas de los Estados Unidos. Los respectivos análisis microbiológicos se realizaron en los meses desde Julio a Diciembre del año 2007 en el laboratorio de control de calidad microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). En la investigación se encontró que de seis supermercados analizados cinco presentaron condiciones de almacenamiento y manipulación deficiente de los productos; ya que en los tres muestreos realizados se encontraron 57 muestras contaminadas con *Listeria monocytogenes*. Partiendo de los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos, se refleja que de 126 muestras de carne de res cruda pertenecientes a los diferentes supermercados, 57 muestras presentan contaminación con *Listeria monocytogenes*, equivalente a un 45% de las muestras totales analizadas, lo que indica que no se están cumpliendo los parámetros establecidos en la Normativa Obligatoria Salvadoreña N° 67.02.98 y se esta comercializando carne a granel contaminada con el microorganismo en estudio.

Los resultados obtenidos en la investigación, sobre la calidad microbiológica de la carne de res comercializada en los diferentes supermercados, se dieron a

conocer al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), como contribución a la información de este microorganismo patógeno.

Por lo tanto se recomienda a los establecimientos que comercializan productos cárnicos crudos, mejorar e implementar métodos de limpieza más eficientes, capaces de disminuir microorganismos patógenos en las áreas de almacenamiento y contaminación y de esta manera ofrecer productos de calidad al consumidor.

Capitulo I
INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

La mayoría de las sociedades humanas han preferido los alimentos de origen animal y han estado dispuestas a realizar el gran esfuerzo que generalmente se requiere para satisfacer su apetito cuando esto es posible.

Los alimentos procedentes de los productos animales representan fuentes ricas de muchos de los nutrientes requeridos por el ser humano.

La alimentación es una necesidad humana básica, tal requisito implica una mayor complejidad por parte de los sistemas de producción de alimentos; es decir que los sistemas que controlan la calidad de los productos deben estar enfocados a garantizar la máxima calidad de los alimentos. La implementación de dichos sistemas ayudarán a que el consumidor pueda adquirir productos alimenticios inocuos. Ya que si el control de todas las etapas de la carne desde su selección, almacenamiento, transporte hasta su venta no se logra cumplir, ésta puede llegar a adquirir una serie de contaminantes entre los que se tiene a los microorganismos que si se encuentran en ciertas cantidades en el organismo humano pueden llegar a causar enfermedades que van desde severas a graves lo que representaría una preocupación fundamental para la salud pública debido a que los costos son inmensos en términos de salud humana y pérdidas económicas.

Es por ello que surge la necesidad de evaluar la calidad de la carne cruda de res comercializada en los principales supermercados del área metropolitana de

San Salvador, para verificar la ausencia o presencia de uno de los microorganismos patógenos poco comunes como ***Listeria monocytogenes***, que al ingerirse en alimentos contaminados puede causar Listeriosis provocando daños a nivel del sistema nervioso central y la población que se ve mas afectada al ingerir alimentos contaminados son: las mujeres embarazadas provocando aborto, ancianos y adultos con el sistema inmunológico débil.

Para la detección del microorganismo se utilizó la metodología obtenida del Manual de Análisis Bacteriológico (B.A.M) de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos, para su aislamiento e identificación convencional y se baso en la Norma Salvadoreña N° 67.02.98 para los límites de aceptación.

Capitulo II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar *Listeria monocytogenes* en carne de res cruda comercializada en los principales supermercados del área metropolitana de San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Aislar *Listeria monocytogenes* en carne roja de res cruda obtenida en los principales supermercados del municipio de San Salvador.

2.2.2 Identificar *Listeria monocytogenes* por medio del método convencional.

2.2.3 Cuantificar *Listeria monocytogenes* en diferentes cortes de carne de res cruda que se comercializan en los principales supermercados.

2.2.4 Establecer según resultados obtenidos de la presencia de *Listeria monocytogenes*, si la carne comercializada cumple con los estándares contemplados por la norma salvadoreña NSO 67.02:98.

2.2.5 Dar a conocer los resultados obtenidos al Ministerio de Salud Pública Y Asistencia Social (MSPAS) como contribución a la información de la calidad microbiológica de la carne comercializada en supermercados.

Capitulo III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Carne ⁽¹⁶⁾

El concepto carne no es la expresión definidora del músculo del animal, que es la acostumbrada, sino que se utiliza para designar el producto que comercialmente se expresa así, es decir, al conjunto de músculos grasas incluidas, aponeurosis, etc. Tal y como se presenta en trozos anatómicos diferenciados, en cortes o retales, cuando el componente predominante con claridad sea el músculo. En otras ocasiones puede usarse para referirse al músculo libre de grasa y otras porciones de la canal, sobre todo cuando se refiere a reacciones bioquímicas que tienen como base el músculo del animal.

3.2 Componentes de la carne ⁽⁵⁾

La composición de los cortes de la carne varía de acuerdo con su cantidad relativa de grasa y de carne magra, pero una pieza típica de vacuno contiene 60% de agua, 21% de grasa y 18% de proteína.

3.2.1 Agua

Esta se encuentra en el interior de la célula, separada por la membrana celular y sometida a intercambio iónico por su proceso de ósmosis y asociada a grupos protéicos. Una fracción despreciable del 12% al 15% se encuentra en los espacios extracelulares acompañando a las sales minerales, y desprovista de proteínas. Siendo la carne una especie de solución, no un verdadero sólido,

hace que su estructura desaparezca cuando se la somete a la destrucción de las uniones celulares. El picado y macerado de las carnes presupone que el agua sola y asociada a otros elementos fluya de la pasta. De esta propiedad como de otras asociadas a ella tal como la viscosidad, concentración de grasa, etc., se ha aprovechado la industria para trasladar y embutir productos cárnicos. El valor de pH condiciona la estabilidad de la carne, si el medio se vuelve ácido disminuye la capacidad de retención de agua; mientras que si el medio se torna alcalino, adquiere esta capacidad. Existe en la carne una relación constante entre agua y proteína, que sirve de base analítica para determinar la cantidad de agua agregada a una carne picada o embutido.

3.2.2 Proteína (5, 12,16)

Las proteínas son sustancias nitrogenadas formadas por asociación de aminoácidos, que constituyen un importante factor en la alimentación como proveedor de elementos plásticos, indispensables para la generación de tejidos orgánicos y otras funciones vitales. Las proteínas sin embargo, tienen un bajo valor energético frente a los hidratos de carbono y las grasas. Estas dos características unidas, hacen que la carne tenga un indiscutible valor dietético. La carne es considerada uno de los alimentos protéicos de primera calidad, superada solamente por la procedente de la leche y de los huevos.

Las proteínas musculares están representadas fundamentalmente por la miosina y la actina, cuya asociación provoca la rigidez muscular, por lo que tiene una gran importancia en la aparición de rigor mortis de una canal,

consecuente con las reacciones físico – químico - biológico después del sacrificio.

Otra proteína presente en la carne es la mioglobina, la cual juega un importante papel en la coloración del músculo antes y después del sacrificio. Las combinaciones de la mioglobina de la carne con el nitrógeno son la base de la nitrificación, fenómeno muy importante en la industrialización de productos cárnicos.

Otras proteínas proceden de la envoltura de las fibras musculares, existen además otras asociaciones de proteínas con ácido nucleicos que tiene gran importancia en la maduración de la carne.

El colágeno y la elastina son también compuestos protéicos, que se encuentran formando parte de los ligamentos de unión de los músculos, tejido conjuntivo, y en las cápsulas articulares. Estas son proteínas de menor valor biológico y de más bajo precio, que se usan corrientemente como componente de productos cárnicos de bajo valor comercial.

3.2.3 Grasa ⁽¹²⁾

Las grasas son compuestos químicos de glicerina y ácidos grasos. La composición química de las grasas depende, en primer lugar de la especie animal de la que proceden. De acuerdo con su localización, cabe considerar dos tipos principales de grasas animales:

- grasas de deposito
- grasas intercaladas entre las fibras musculares.

Ambas, bajo el punto de vista práctico, tienen una composición muy parecida, y cuyas diferencias radican en la composición de ácidos grasos que los condicionan para su utilización en la industria.

3.2.4 Hidratos de carbono ^(5,12)

La carne no es rica en azúcar, pero los contenidos en el organismo de las reses desempeñan un papel importante en la acidez. El glucógeno es el carbohidrato más interesante de los contenidos de la carne, ya que juega un papel importante en el proceso de maduración de la misma, colaborando con este en la caída del valor de pH.

Los músculos menos móviles poseen mayor cantidad de azúcares que aquellos que presentaron mayor funcionamiento, lo que resulta muy perjudicial para el proceso de maduración de la carne.

3.2.5 Sales minerales

En la carne se encuentra hasta en un 1% de su peso cierto número de sales minerales que juegan diferentes papeles en los procesos de maduración y transformación para su conservación en productos cárnicos, entre ellos, los más importantes son: el sodio, potasio, hierro, el grupo de los PO_4 y el cloro.

3.3 Cualidades físicas de la carne ^(12,16)

En la carne el aspecto físico es un factor indispensable para la preferencia y consumo de ésta. Entre estas cualidades se pueden mencionar:

3.3.1 Terneza, cualidad física de ésta de dejarse cortar fácilmente, trinchar, penetrar y masticar.

3.3.2 El color, la repartición espectral y la intensidad de la luz reflejada por la superficie de la carne son, en definitiva, los factores responsables de su color. Estos en función de la concentración de cromóforo y de la estructura de la superficie reflectante. El cromóforo del músculo es la mioglobina, cuya función fisiológica es almacenar oxígeno en el músculo del animal vivo. Tiene un color tirando al púrpura cuando no lleva oxígeno, pero cuando se expone a este gas, se convierte en oximioglobina, que tiene un color rojo cereza brillante. Por eso cuando la carne fresca esta recién cortada, su color es púrpura, pero la superficie adquiere rápidamente un color rojo brillante al exponerla al aire. La mioglobina está presente en concentraciones variables. La aparición del rigor, en su relación con la coloración, se traduce en una aclaración de la carne, a medida que el pH baja pues entonces existe un aumento de la reflexión. La carne oscura tiene un pH elevado y puede retener mayor cantidad de agua, la carne pálida resulta de una caída del pH después de muerto el animal.

3.3.3 El aroma, el aroma de las carnes puede ser considerado como función de cuatro elementos: las fracciones no volátiles y las fracciones volátiles de las carnes crudas y las fracciones no volátiles y las fracciones volátiles de las carnes cocidas.

Los productos particulares específicos de cada especie, van asociados a compuestos volátiles derivados de los lípidos.

3.3.4 La textura, depende del tamaño de los haces de fibras en que se encuentra longitudinalmente dividido el músculo. El tamaño de los haces depende del número y diámetro de las fibras que contiene. El tamaño aparente de los fascículos musculares se conoce como grano y la fineza y bastedad del grano tiene influencia sobre la aceptabilidad de la carne. La carne que posee grano fino es blanda, mientras que la de grano grueso es dura.

3.3.5 Jugosidad, ésta se presenta en la carne que está cocida. La jugosidad de la carne está asociada a la terneza o blandura, una carne blanda es más jugosa que una carne dura.

3.4 Generalidades de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, pertenece al género *Listeria* que son bacilos gram positivos, anaerobios facultativos, cortos, no esporulado ni ramificado. Es móvil a 25°C pero inmóvil a 37°C por inactivación del flagelo. Sus colonias son pequeñas, traslúcidas y grises, y la mayor parte de las cepas producen una zona estrecha de β -hemólisis alrededor de las colonias ⁽¹⁰⁾. Es de distribución universal en la naturaleza. El microorganismo ha sido detectado en la tierra, agua, plantas, vegetales, carne, leche y sus derivados, así como en las heces de animales o humanos. No obstante su principal habitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición en la cual sobrevive y crece como saprófito ⁽⁴⁾.

Debido a su amplia distribución este microorganismo tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos en distintas partes de la producción alimentaria siendo ésta la vía más frecuente por la que el ser humano adquiere la listeriosis. Esta enfermedad de transmisión alimentaria afecta principalmente a mujeres embarazadas, recién nacidos, adultos sometidos a un tratamiento de inmunosupresor. Dentro del género *Listeria* existen 7 especies pero sólo las especies *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* se consideran patógenas; sin embargo, sólo *Listeria monocytogenes* es de importancia a nivel de salud pública. También se han descrito diferencias en el potencial patógeno dependiendo de las características genéticas de los aislados de *Listeria monocytogenes*.

En el hombre *Listeria monocytogenes* se encuentra implicada principalmente como causante de bacteremia y meningoencefalitis. También se han descrito casos de infecciones gastrointestinales en individuos inmunocompetentes que han consumido alimentos contaminados con un alto inóculo de la bacteria ⁽⁴⁾.

El reservorio de la bacteria son los animales domésticos y los mamíferos salvajes. Tiene un amplio espectro de huéspedes animales: 37 especies de mamíferos y 17 de aves. Los más susceptibles son los ovinos, los caprinos y bovinos. Se encuentra en las heces de hombre y los mamíferos y las mujeres pueden ser portadoras asintomáticas de la bacteria en la vagina. El microorganismo puede vivir libremente en el agua. En varios países latinoamericanos se han descrito brotes en ovinos; en el Perú se comprobó la enfermedad en pollos y en Argentina y Uruguay en canarios ⁽⁴⁾.

3.4.1 Patogénesis

La listeriosis puede ocurrir en forma de brotes epidémicos o como casos esporádicos. En la actualidad existen diversas pruebas que implican el tracto digestivo como la fuente de entrada del microorganismo, siendo el vehículo el alimento contaminado. Los alimentos más implicados han sido los productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, también se le atribuye a los quesos, la leche, pescados, mariscos y vegetales ⁽¹³⁾.

Otra forma de adquirir la enfermedad es de una madre embarazada al bebé por medio de la vía transplacentaria conocida como la única vía de transmisión interhumana. También se han descrito formas locales que afectan a la piel y globo ocular en trabajadores de mataderos, en veterinarios y otras personas que tienen contacto directo con tejidos o animales contaminados ⁽¹⁴⁾.

Listeria monocytogenes es una bacteria que produce una toxina citolítica y hemolítica llamada listeriolisina O, que actúa como un importante factor de virulencia. La listeriolisina O es una proteína que se secreta a pH bajo y a bajas concentraciones de hierro, tales condiciones se presentan en el fagolisosoma. Cuando es fagocitado el microorganismo empieza a fabricar la listeriolisina, que se fija al colesterol y rompe la membrana del fagolisosoma. Este puede ser el principal factor que favorece su supervivencia intracelular, siendo una de las características más definitivas de ***Listeria monocytogenes*** ⁽¹⁵⁾.

3.4.2 Ciclo infeccioso de *Listeria monocytogenes* ⁽⁸⁾

Listeria monocytogenes arriba al tracto gastrointestinal previa ingestión de alimentos contaminados y una vez en el intestino, ésta crece eficazmente dentro de los enterocitos y mononucleares, lo cual permite que parte de su población alcance la circulación sanguínea. En concreto, los eventos implicados en el proceso infeccioso global son:

- Entrada a las células del hospedero
- Escape del fagosoma y desarrollo intracelular
- Desplazamiento intracitoplasmático
- Diseminación de célula a célula

3.4.2.1 Entrada a las células del hospedero

Listeria monocytogenes se adhiere a la mucosa intestinal, posteriormente el bacilo es englobado por macrófagos residentes dentro de los cuales puede sobrevivir y proliferará antes de diseminarse por la vía linfática o sanguínea.

3.4.2.2 Escape del fagosoma y desarrollo intracelular

Una vez que *Listeria monocytogenes* ha ingresado a la célula hospedera esta lleva a cabo la lisis de la membrana vascular debido a la acción de una potente toxina formadora de poros llamada listeriolisina O (LIO), la cual promueve el escape del microorganismo del fagosoma. Adicionalmente, *Listeria monocytogenes* produce catalasa y superóxido dismutasa, dos enzimas que la protegen de la oxidación fagolisosómica. Como consecuencia de la lisis del fagosoma el microorganismo se libera al citosol en donde se multiplica en un tiempo de generación de 50 minutos.

3.4.2.3 Desplazamiento intracitoplasmático

En términos prácticos se refiere a la forma de locomoción del microorganismo dentro de citoplasma de la célula hospedera. La movilidad del microorganismo se sustenta en el proceso de internalización a la célula hospedera ya que la superficie bacteriana adsorbe varios filamentos cortos de actina presentes en la célula del huésped, esto como consecuencia de la afinidad que esta tiene por la proteína listeriana act A. como resultado de esta interacción, se logra la polimerización de la actina la cual modifica la morfología del microorganismo presentando estructuras semejantes a la cola de un cometa que aporta la fuerza locomotora a la bacteria dentro del ambiente intracelular. Por lo tanto de la polimerización de la actina depende la fuerza y rapidez del desplazamiento bacteriano.

3.4.2.4 Diseminación de célula a célula

Este proceso es una consecuencia de la habilidad de adquirir movilidad de *Listeria monocytogenes* dentro del citoplasma del fagosoma asociada a la manipulación de filamentos actínicos; lo que hace posible invadir a otras células del hospedero. Dichos filamentos actínicos producen prolongaciones alargadas dentro de la célula que ejercen presión, las cuales salen de la célula y terminan siendo fagocitadas por la célula adyacente con la cual la bacteria repetirá los eventos antes mencionados.

3.5 Epidemiología

La *Listeria monocytogenes* esta bacteria se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza. Puede encontrarse en el suelo, los vegetales y haciendo parte de la flora fecal de muchos mamíferos, además se ha aislado de vegetales crudos, leches, pescado, pavo y carne ya sea fresca o procesada, pollo o res. El porcentaje de aislamientos oscila entre 15% a 70%, por lo que se considera que la exposición a alimentos contaminados es relativamente alta. El nivel de contaminación más alto se encontró en carnes y pollos precocidos y 32% de los casos en general pueden ser atribuidos a esta clase de comida (7).

Los primeros brotes alimenticios fueron descritos en Canadá en 1981, California 1983, Suiza 1983-1987, Venezuela a partir de 1985, Reino Unido 1989-1990, y Francia 1993-1995. Los alimentos de riesgo identificados fueron aquellos que vienen listos para comer y que son conservados en refrigeración durante un tiempo prolongado, entre ellos, los alimentos altamente contaminados fueron los que presentaron más de 100 UFC de *Listeria monocytogenes* por gramo (18).

En países como los Estados Unidos, aún cuando no se trata de una infección de informe obligatorio, los datos de una vigilancia activa mostraron unas tasas de infección anual entre 1982 y 1986 de 7.4 casos por millón de habitantes, correspondientes a 1,850 casos anuales con 425 muertes atribuibles por año.

La mayoría de los casos se concentran en la población menor de un mes y mayor de 60 años. Sin embargo, es preocupante la descripción de brotes alimenticios desde 1983 donde se afecta población general y los cuales se han asociado más frecuentemente con el consumo de quesos blancos y de leche. Desde 1994 en la Fundación Clínica Valle del Lili (FCVL) se ha observado con frecuencia el aislamiento de **Listeria monocytogenes** particularmente en pacientes inmunosuprimidos⁽⁴⁾. En el mismo año se encontraron un total de 19 casos de listeriosis: 10 en adultos inmunosuprimidos, 2 en mujeres embarazadas, 6 neonatos y una adolescente de 12 años. Del total de 19 pacientes se obtuvieron 37 aislados de **Listeria monocytogenes**: 33 (89.2%) en sangre, 2 (5.4%) en líquido cefalorraquídeo (LCR), 1 (2.7%) en líquido amniótico y 1 (2.7%) de biopsia cerebral. Además se informó la muerte de otro neonato, hijo de una madre infectada y en el cual no se pudo confirmar el diagnóstico por cultivo, pero donde la causa más probable fue **Listeria monocytogenes**⁽⁸⁾.

Los casos de listeriosis reportados a nivel mundial son mayoritariamente debido al consumo de productos lácteos y cárnicos sin embargo, **Listeria monocytogenes** también puede encontrarse en salmón ahumado en frío y en otros productos marinos⁽⁷⁾. El aumento mundial de los casos se puede deber a varios factores:

- Cambios demográficos, aumento de la población susceptible (entre ellos los pacientes con SIDA) y de la población de ancianos.
- Cambios en la producción de alimentos: aumento de alimentos procesados listos para usar y que se pueden almacenar por tiempo prolongado.
- Cambios en los hábitos alimenticios: en su manejo y preparación (alimentos que se consumen poco cocidos, crudos, etc.)⁽⁴⁾.

La descripción de casos y brotes es más frecuente en Europa y EE.UU., debido básicamente al aumento de individuos susceptibles, tales como los inmunosuprimidos. Sin embargo, en países en desarrollo es cada vez más frecuente esta infección lo que hace pensar en la necesidad de establecer medidas de diagnóstico y control al respecto⁽⁴⁾.

La literatura Europea y más recientemente la norteamericana ha consignado algunos casos de romboencefalitis por **Listeria monocytogenes** la cual ocurre solamente en adultos y tiene un pronóstico grave e incluso fatal⁽²⁾. El primer caso de romboencefalitis por **Listeria** fue publicado por Eks, en Alemania en 1957, y hasta el año 1964 no se había consignado ningún caso en la literatura Inglesa⁽⁷⁾.

La reglamentación sanitaria Chilena no incluye este patógeno entre las especificaciones, en USA en cambio existe tolerancia cero en alimentos listos

para el consumo, en tanto la Comunidad Europea acepta niveles de < 100 UFC /g en alimentos para poblaciones no sensibles ⁽¹⁸⁾.

3.6 Control ^(7,20)

Listeria monocytogenes ha venido representando un problema cada vez mayor en el campo de la elaboración de alimentos; por ello, resultan indispensables las buenas prácticas en las fases de la producción es decir desde su procesamiento, empaquetamiento y almacenamiento. Puesto que no hay vacuna antilisteriana, las medidas vigentes de prevención y control corresponden a precauciones simples aplicables contra cualquier enfermedad de origen alimentario para el caso la listeriosis enfermedad que como ya se ha mencionado anteriormente se produce por consumir alimentos que contiene el microorganismo en estudio, entre los que se puede hacer mención:

- Carne roja y de aves mal cocida.
- Vegetales crudos premezclados.
- Alimentos de origen marino tales como pescado, mariscos (ahumados)
- Leche sin pasteurizar y sus derivados.

Las personas que presentan mayor riesgo pueden prevenir la infección con la bacteria evitando el consumo de los alimentos antes mencionados ya que se consideran de alto riesgo para ellos, entre estas personas se tiene:

- Las mujeres embarazadas. - Ellas son aproximadamente 20 veces más vulnerables a adquirir Listeriosis que otros adultos saludables. Así uno de cada tres casos de Listeriosis ocurre durante el embarazo.
- Fetos.
- Los recién nacidos en lugar de las mujeres embarazadas sufren serios efectos de infección durante el embarazo.
- Las personas con sistemas inmunes debilitados.
- Las personas con: Cáncer, diabetes, enfermedades del riñón (hepatitis), úlceras, cirrosis, colitis ulcerativa, afición narcótica o alcoholismo y aquellas personas que llevan un largo plazo sufriendo Diálisis.
- Las personas con SIDA. Ellos probablemente son casi 300 veces más susceptibles a adquirir Listeriosis que las personas con sistemas inmunes normales.
- Personas que toman medicamentos como corticosteroides.
- Los ancianos.

3.7 Síntomas (14,21)

El riesgo de una persona de desarrollar listeriosis tras el consumo de productos contaminados es muy pequeño. Las personas con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad son mujeres embarazadas (tiene 20 veces más posibilidades) y neonatos, personas inmunodeprimidas, pacientes con cáncer (especialmente los de leucemia), ancianos y personas como diabéticos, cirróticos, asmáticos etc. La población sana también tiene riesgo si el alimento está muy contaminado con el microorganismo. Los síntomas son variables y dependen de la susceptibilidad de la persona afectada y puede ocurrir aproximadamente 3 a 70 días después de la exposición.

Síntomas más comunes:

- Fiebre,
- Gripe con dolores y molestias
- Dolor Muscular.
- Dolor de cabeza,
- Tensión de cuello.
- Cansancio

Síntomas menos comunes: Síntomas gastrointestinales.

- Diarrea.
- Náuseas.

-Calambres abdominales.

Síntomas severos: Si la infección abarca el sistema nervioso central.

- Meningitis.
- Confusión.
- Envenenamiento de la sangre.
- Pérdida del equilibrio
- Convulsiones

En el embarazo:

- Aborto espontáneo (2do/3 trimestre).
- Muerte del bebé al nacer.
- Nacimiento prematuro.
- Retraso mental del bebé.

La mujer embarazada pueden experimentar sólo una pequeña gripe, sin embargo, la infección durante el embarazo puede llevar a un parto prematuro o una infección del recién nacido.

No hay ninguna prueba rutinaria para medir la susceptibilidad de la Listeriosis durante el embarazo, como los hay para la rubéola y otras infecciones congénitas. La infección se registra con mayor frecuencia en el tercer trimestre. Se presenta como una enfermedad transitoria con síntomas inespecíficos, leves a moderados, que incluyen: fiebre, cefalea, vómitos, molestias gastrointestinales y dolor lumbar. Suelen aparecer días o semanas después de ingerido el alimento, lo que impide determinar la dosis infectiva.

Los síntomas y signos son frecuentemente autolimitados y la paciente generalmente no busca tratamiento. En otros casos la infección es más grave, con signos clásicos de sepsis y meningitis.

Existe el caso de mujeres sanas, abortadoras habituales y sin causa determinada. Esto puede indicar portación sintomática del microorganismo ⁽¹⁾.

3.8 Tratamiento

Listeria monocytogenes es susceptible a la acción de múltiples antimicrobianos y su resistencia es muy ocasional, excepto en lo tocante a las tetraciclinas. No obstante, se ha comprobado que el microorganismo puede adquirir genes de resistencia procedentes de **Enterococcus spp**, **Streptococcus** y otros, lo cual llega a aportarle tolerancia a gentamicina, estreptomicina, eritromicina y sulfametoxazol ⁽⁷⁾.

Por lo general, las penicilinas, glucopéptidos, aminoglucósidos, macrólidos, el trimetoprim-sulfametoxazol y algunas quinolonas son efectivas contra **Listeria monocytogenes**. Cabe señalar que algunas publicaciones subrayan la ineficacia de la penicilina, pero los reportes sólo están basados en fracasos terapéuticos; de hecho, los fármacos más utilizados para tratar la listeriosis son ésta y la ampicilina: la combinación penicilina–gentamicina logra efectos sinérgicos contra el microorganismo, tanto in vitro como in vivo, por lo cual representa el tratamiento estándar de la Listeriosis humana. Adicionalmente, diversos autores recomiendan la asociación Ampicilina-Cotrimoxazol,

subrayando que es aún superior a la anterior, ya que reduce la mortalidad y las secuelas cerebrales ⁽¹⁸⁾.

Durante el embarazo, antibióticos como Ampicilina y Gentamicina dados rápidamente, pueden prevenir a menudo infección del feto o recién nacido. Los bebés con listeriosis reciben los mismos antibióticos que el adulto ⁽¹⁾.

La duración apropiada del tratamiento no está clara. Tras dos semanas de terapia se han descrito recurrencias en pacientes inmunodeprimidos. Parece conveniente, por tanto, prolongar la terapia entre tres y seis meses en estos casos. En general dos semanas parecen ser suficientes en bacteremia mientras que en meningitis se deberían usar ciclos más largos ⁽¹⁵⁾.

Capitulo IV

DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio

El estudio es **transversal** ya que esta investigación se realizó en un tiempo determinado, estudiando lo que es de interés en el presente es decir en el momento que se va a realizar la investigación. Se considera también un estudio **experimental** debido a que se clasifica como un estudio de laboratorio ya que las muestras que se recolectaron se transportaron a un laboratorio para su posterior análisis de carácter microbiológico.

4.2 Investigación bibliografica

Se realizó a través de visitas y consultas a las siguientes instituciones:

- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS)
- Biblioteca de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA).
- Centro Nacional de Registro dirección del Instituto Geográfico del Catastro Nacional. Unidad atención al cliente y comercialización.
- Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES)

4.3 Investigación de campo

4.3.1 Universo: cortes de carne roja cruda de res que se comercializa en los principales supermercados del área metropolitana de San Salvador (Super Selectos, Despensa de Don Juan, Europa e Hiper Europa).

4.3.2 Determinación del Tamaño de la muestra

En la investigación se empleó el muestreo aleatorio estratificado para la agrupación y determinación del número de supermercados. Se seleccionaron los supermercados de los cuales se obtuvieron las muestras de carne, empleando el muestreo aleatorio simple.

Debido a que la población total de los principales supermercados es de 60, estos se agruparon de acuerdo a la línea de cadena. Por tanto se tuvieron los siguientes estratos.

Cuadro N° 1: Agrupación de los supermercados en estratos.

Nº de estrato	Nombre del supermercado	cantidad
1	Super selectos	40
2	Despensa de Don Juan	15
3	Europa e Hiper Europa	5
total		60

Se considero un 50% de probabilidad que las muestras estén contaminadas, con una confianza del 95% y un intervalo del 0.4, se empleó la siguiente fórmula para estimar el número de supermercados que se muestrearon (2).

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N-1) + Z^2pq}$$

Donde: N= población total

d = intervalo de error

Z= valor de confianza

pq= probabilidad de éxito y fracaso

Entonces se tiene:

$$n = \frac{(60)(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.4)^2(60-1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 5.54 \text{ supermercados para recolectar muestras}$$

Pero como no se puede muestrear 5.54 supermercados se aproxima a 6.0 supermercados.

Por tanto para calcular el número de los supermercados en cada estrato se empleo la siguiente formula:

$$n = n \left(\frac{N_i}{N} \right)$$

Cuadro N° 2: Cantidad de supermercados a muestrear por cada estrato.

N° estrato	Nombre de supermercado	n	cantidad
1	Super selectos	6(40/60)	4
2	Despensa de Don Juan	6(15/60)	1
3	Europa e Hiper Europa	6(5/60)	1
total			6

Considerando que en la teoría se menciona que los cortes de carne que se realizan en las reses son (ver cuadro):

Cuadro N° 3: Cortes de carne roja cruda de res

Lomo de aguja limpio	Posta grande
Lomo de aguja con hueso	Posta yugo
Lomo rollizo con solomo	Mano de cinta
Lomo pacho	Posta de gato
Angelina	cachito
Posta negra	Pecho sin hueso
Choquezuela	chuleta
puyazo	Carne de brazuelo
salón	Costilla deshuesada
Posta pacha	Recortes o carne corriente
Aleta	

Pero al revisar la cartelera de venta de carne que los supermercados exponen al público y que se presentaron en común entre las cadenas, se verificó que no

todos los cortes antes mencionados se comercializan. Ya que nada más se observaron:

Cuadro Nº 4: Cortes de carne de res comercializada en los principales supermercados

Super selectos	Dispensa de don Juan	Europa e Hiper Europa
Lomo pacho	Lomo pacho	Lomo pacho
Angelina	Angelina	Angelina
puyazo	puyazo	Puyazo
Posta negra	Posta negra	Posta negra
Choquezuela	Choquezuela	Choquezuela
gato	Gato para guisar	Gato
Lomo rollizo	Lomo rollizo ó salon	Lomo rollizo
Carne molida	Carne molida	Carne molida
Lomo de aguja limpio	Lomo de aguja	Lomo de aguja
Lomo de aguja con solomo	-	-
Aleta	-	-

(-): no hay existencia.

Considerando que los cortes donde hay mayor probabilidad de crecimiento de *Listeria monocytogenes*, son aquellos de mayor superficie de contacto; es decir los que presentan más carne que hueso y además se considera un corte representante por parte de la res, por lo que se tiene lo siguiente:

Cuadro N° 5: Cortes de carne a muestrear.

Cortes de carne	
Puyazo	Angelina
Lomo rollizo	Posta negra
Gato	Carne molida corriente
Choquezuela	

Estos cortes son los que se recolectaron de los supermercados seleccionados. Para la selección de los supermercados se hace de forma aleatoria por cada estrato obteniéndose:

Cuadro N° 6: supermercados a muestrear.

Numero	Supermercado	sucursal
1	Super selectos	Apopa II
2	Super selectos	San Miguelito
3	Super selectos	San Jacinto
4	Super selectos	San Jose
5	Despensa de don Juan	Las terrazas
6	Hiper Europa	Escalón

Los cortes de carne se obtuvieron de la sala de ventas de los supermercados de las respectivas cadenas, adquiriéndose tal y como se vende al consumidor. Las muestras de carne se compraron por seis semanas de forma alterna, es decir cada dos semanas, hasta completar tres muestreos, con el fin de que

pertenezcan a diferente lote de carne. Luego fueron transportadas de forma adecuada, es decir en una hielera a una temperatura de 4-6° C al laboratorio de microbiología de CENSALUD para someter las muestras de inmediato al respectivo análisis microbiológico. La porción de reserva para su posterior recuento, fueron almacenadas a -30° C. Al finalizar los muestreos se obtuvo un total de 126 muestras analizadas.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.

4.4.1.1 ENRIQUECIMIENTO ⁽⁶⁾

1. Tomar 25 g de la muestra en forma aséptica, asegurar que se represente tanto la superficie como el interior de la muestra.
2. Agregar 225 mL de Caldo de Enriquecimiento de *Listeria* (LEB), colocar en el Stomacher por 3 minutos a 260 rpm.
3. Incubar a 35° C por 24 horas.

4.4.2 AISLAMIENTO ⁽⁶⁾

1. Tomar una asada del medio de cultivo de enriquecimiento (LEB) y estriar en medio de cultivo Oxford (OXA) Y PALCAM por duplicado.
2. Incubar las placas de agar OXFORD Y PALCAM por 24-48 horas a 35° C, luego refrigerar a 4° C por 24 - 48 horas más para su óptimo crecimiento y caracterización de colonias.
3. Verificar características de colonias (anexo N° 3 y 13).
4. Transferir 5 colonias típicas del agar Palcam por duplicado a placas de agar tripticasa soya + 0.6% de extracto de levadura (TSAye).
5. Incubar placas a 35° C por 24 horas

4.4.3 IDENTIFICACION ⁽⁶⁾

Las pruebas de identificación a realizadas son las siguientes:

4.4.3.1 CATALASA.

1. Seleccionar una colonia típica de una placa de TSAye con asa en punta y colocar sobre un porta objeto.
2. Agregar una gota de peroxido de Hidrogeno al 3 % (H₂O₂). Un burbujeo en los primeros segundos indica reacción positiva.



4.4.3.2 HEMOLISIS.

- 1 Dibujar de 20-25 espacios en la base de la placa que contiene agar sangre de carnero al 5%.
- 2 Inocular con asa en punta colonias típicas de las placas de TSAye a placas de agar sangre de carnero al 5%, punzar una colonia por espacio dibujado en la placa.
- 3 Incubar por 24 – 48 horas. Observar la formación de un halo claro alrededor de la colonia (ver anexo N° 13).

4.4.3.3 PRUEBA DE CAMP (anexo N° 5)

1. En placas que contienen agar sangre de oveja desfibrinada estriar un cultivo de *Staphylococcus aureus*, β hemolítico y otro de *Rhodococcus equi* en paralelo y diametralmente opuesto el uno del otro en una placa de agar sangre de oveja. Luego estriar el inóculo de la muestra en forma paralela uno de otro pero en ángulo recto entre las estrías del *Staphylococcus aureus* y *Rhodococcus equi*.
2. Incubar a 35° C por 24-48 horas.
3. Examinar placas observar formación de flecha.

4.4.3.4 MOTILIDAD

1. De las placas de TSAye con un asa en punta tomar una colonia e inocular en un tubo que contenga medio motilidad.
2. Incubar por siete días a temperatura ambiente.
3. observar formación de sombrilla.

4.5 PRUEBAS BIOQUIMICAS

4.5.1 TSI

De las placas de TSAye con una asa en punta tomar una colonia típica e inocular en el tubo que contiene medio TSI .Incubar de 1-2 días a 35° C (ver anexo N° 3 y 13).

4.5.2 Reacción de Voges-Proskauer ⁽¹¹⁾

- 1 Realizar una suspensión del microorganismo en estudio utilizando un asa circular y un tubo que contiene 0.5 ml del medio Voges-Proskauer.
2. Incubar durante 24 horas a 35° C
3. Agregar 10 gotas de la solución de α - naftol.
4. Agregar 5 gotas de la solución de hidróxido de potasio; luego, agitar bien durante un minuto.
5. Una coloración rojiza (que puede aparecer con extrema lentitud) indica un resultado positivo (ver anexo N° 13).

4.5.3 Reacción de INDOL ⁽¹¹⁾

1. Inocular un tubo que contiene 1 ml de medio de triptona – peptona con el microorganismo en estudio e incubar durante 24 horas a 35° C
2. Agregar diez gotas del reactivo de kovac a cada tubo

3. La aparición de una coloración roja indica una prueba positiva.

4.5.4 Prueba del rojo de metilo ⁽¹¹⁾

1. Inocular un tubo que contenga medio de rojo de metilo con colonia de microorganismo en estudio e incubar durante 24 horas a 35° C.
2. Agregar 4 o 5 gotas del indicador al inóculo.
3. La aparición de una coloración roja denota un resultado positivo y una coloración amarilla demuestra un resultado negativo.

4.5.5 Fermentación de carbohidratos ⁽⁶⁾

1. Inocular colonias típicas en Caldo Tripticasa Soya + extracto de levadura (TSBye), incubar por 24 h a 37° C.
2. Preparar solución al 0.5% del siguiente carbohidrato: ramnosa
3. Inocular con colonias típicas del medio TSBye a la solución del carbohidrato.
4. Incubar a 35° C por 7 días.
5. Cambio de color violeta a color amarillo denota un resultado positivo.

4.6 Enumeración de *Listeria monocytogenes* ⁽⁶⁾.

1. Tomar 25 g de la muestra en forma aséptica y colocar en 90 mL de medio de cultivo de enriquecimiento (LEB), de las muestras que presenten contaminación presuntiva de *Listeria*.
2. Tomar 1ml del cultivo de enriquecimiento LEB y repartirlo en tres placas que contienen medio OXFORD y tres placas que contienen medio PALCAM (0.4 ml, 0.3 ml, y 0.3 ml.).
3. Incubar a 35° C por 48 horas
4. Tomar 10 colonias típicas y resembrar en Agar TSAye.
5. Incubar a 35° C por 24 horas.
6. A las 10 colonias realizar prueba de hemólisis, prueba CAMP y prueba de carbohidrato (ramnosa). Para la identificación de ***Listeria monocytogenes***.

Capitulo V
RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

5.1 Resultado del análisis microbiológico de las muestras de carne recolectadas en los diferentes supermercados.

5.1.1 Interpretación de signos y abreviaturas.

A continuación se presentan los diferentes signos y abreviaturas que son utilizadas en los cuadros de resultados, los cuales se interpretan de la siguiente manera.

Signos:

Aislamiento (+): presencia de colonias de color gris con halo negro en los medios selectivos (Oxford y Palcam).

Pruebas bioquímicas

Catalasa (+): producción de burbujeo al agregar H_2O_2 al 3 %

Hemólisis (+): presencia de α hemólisis.

CAMP (+): formación de flecha.

Fermentación de carbohidrato (+): viraje de color violeta a color amarillo por cambio de pH en el medio.

Movilidad (+): formación de una especie de sombrilla.

TSI (+): fermentación de azúcares (A/A) sin producción de H_2S .

Indol (-): no presenta formación de anillo de color.

(VP) Voges Proskauer (+): formación de anillo de color rojo.

(RM) rojo de Metilo (+): cambio a color rojo al agregar el reactivo.

Abreviaturas:

C: conforme a lo establecido con la Norma NSO 67.02:98.

NC: no confrome con lo establecido con la Norma NSO 67.02:98.

CUADRO N° 7: Resultados obtenidos del análisis de cepa pura de
Listeria monocytogenes

Cepa pura		<i>Listeria monocytogenes</i>	
Proceso			
AISLAMIENTO		+	
I D E N T I F I C A C I Ó N	P R U E B A S B I O Q U I M I C A S	Catalasa	+
		Hemólisis	+
		CAMP	+
		Fermentación de carbohidrato	+
		Movilidad	+
		TSI	+
		Rojo de Metilo	+
		VP	+
		Indol	-

5.1.2 Primer muestreo

CUADRO N° 8: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
AISLAMIENTO			+	+	-	-	+	-	+
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	+	+	-	-	+	-	+
		Hemólisis	+	+	-	-	+	-	+
		CAMP	+	+	-	-	+	-	+
		Fermentación de azúcares	+	+	-	-	+	-	+
		Movilidad	+	+	-	-	+	-	+
		TSI	+	+	-	-	+	-	+
		Rojo de Metilo	+	+	-	-	+	-	+
		VP	+	+	-	-	+	-	+
		Indol	+	+	-	-	+	-	+
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	141	26	ausente	ausente	152	ausente	421	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	20	30	ausente	ausente	70	ausente	60	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98			NC	NC	C	C	NC	C	NC

En el cuadro N° 8 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, lomo rollizo y puyazo, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que declara ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 9: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
Proceso								
AISLAMIENTO		-	+	-	+	-	-	-
I D E N T I F I C A C I O N	P R U E B A S	Catalasa	-	+	-	+	-	-
	Hemólisis	-	+	-	+	-	-	-
	CAMP	-	+	-	+	-	-	-
	Fermentación de carbohidrato	-	+	-	+	-	-	-
	Movilidad	-	+	-	+	-	-	-
	TSI	-	+	-	+	-	-	-
	Rojo de Metilo	-	+	-	+	-	-	-
	VP	-	+	-	+	-	-	-
	Indol	-	+	-	+	-	-	-
C U A N T I F I C A C I O N	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	3	ausente	233	ausente	ausente	ausente
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	60	ausente	30	ausente	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	C	NC	C	C	C

En el cuadro N° 9 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida y gato, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 10: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3

Muestra		Angelina	Carne molida	Choquezuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
Proceso									
AISLAMIENTO		+	+	+	-	-	+	+	
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	+	+	+	-	-	+	+
		Hemólisis	+	+	+	-	-	+	+
		CAMP	+	+	+	-	-	+	+
		Fermentación de carbohidrato	+	+	+	-	-	+	+
		Movilidad	+	+	+	-	-	+	+
		TSI	+	+	+	-	-	+	+
		Rojo de Metilo	+	+	+	-	-	+	+
		VP	+	+	+	-	-	+	+
		Indol	+	+	+	-	-	+	+
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	3574	170	1032	ausente	ausente	912	2328	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	50	20	40	ausente	ausente	10	60	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		NC	NC	NC	C	C	NC	NC	

En el cuadro N° 10 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, choquezuela, posta negra y puyazo, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 11: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 4.

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
AISLAMIENTO			-	+	-	-	+	-	-
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	-	+	-	-	+	-	-
		Hemólisis	-	+	-	-	+	-	-
		CAMP	-	+	-	-	+	-	-
		Fermentación de carbohidrato	-	+	-	-	+	-	-
		Movilidad	-	+	-	-	+	-	-
		TSI	-	+	-	-	+	-	-
		Rojo de Metilo	-	+	-	-	+	-	-
		VP	-	+	-	-	+	-	-
		Indol	-	+	-	-	+	-	-
CUANTIFICACIÓN		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	36	ausente	ausente	34	ausente	ausente
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	30	ausente	ausente	50	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98			C	NC	C	C	NC	C	C

En el cuadro N° 11 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida, y lomo rollizo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 12: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Despensa de Don Juan

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
		AISLAMIENTO		-	-	-	-	-	-
I D E N T I F I C A C I Ó N	P R U E B A S	Catalasa	-	-	-	-	-	-	-
	B I O Q U I M I C A S	Hemólisis	-	-	-	-	-	-	-
		CAMP	-	-	-	-	-	-	-
		Fermentación de carbohidrato	-	-	-	-	-	-	-
		Movilidad	-	-	-	-	-	-	-
		TSI	-	-	-	-	-	-	-
		Rojo de Metilo	-	-	-	-	-	-	-
		VP	-	-	-	-	-	-	-
		Indol	-	-	-	-	-	-	-
C U A N T I F I C A C I Ó N	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	C	C	C	C	C	C	C

En el cuadro N° 12 de las 7 muestras de carne analizadas; ninguna presenta reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para ***Listeria Monocytogenes*** por lo cual cumple con lo exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 13: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Hiper Europa.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
Proceso									
AISLAMIENTO		+	+	-	+	+	-	-	
I D E N T I F I C A C I Ó N	P R U E B A S B I O Q U I M I C A S	Catalasa	+	+	-	+	+	-	-
		Hemólisis	+	+	-	+	+	-	-
		CAMP	+	+	-	+	+	-	-
		Fermentación de carbohidrato	+	+	-	+	+	-	-
		Movilidad	+	+	-	+	+	-	-
		TSI	+	+	-	+	+	-	-
		Rojo de Metilo	+	+	-	+	+	-	-
		VP	+	+	-	+	+	-	-
		Indol	+	+	-	+	+	-	-
CUANTIFI- CACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	56	96	ausente	5	16	ausente	ausente	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	80	20	ausente	60	50	ausente	ausente	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		NC	NC	C	NC	NC	C	C	

En el cuadro N° 13 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, gato y lomo rollizo, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

5.1.2.1 Discusión de resultados del primer muestreo

A continuación se presenta el gráfico en el cual se exponen en términos de porcentaje los resultados obtenidos del análisis de las muestras del primer muestreo recolectadas en los principales supermercados.

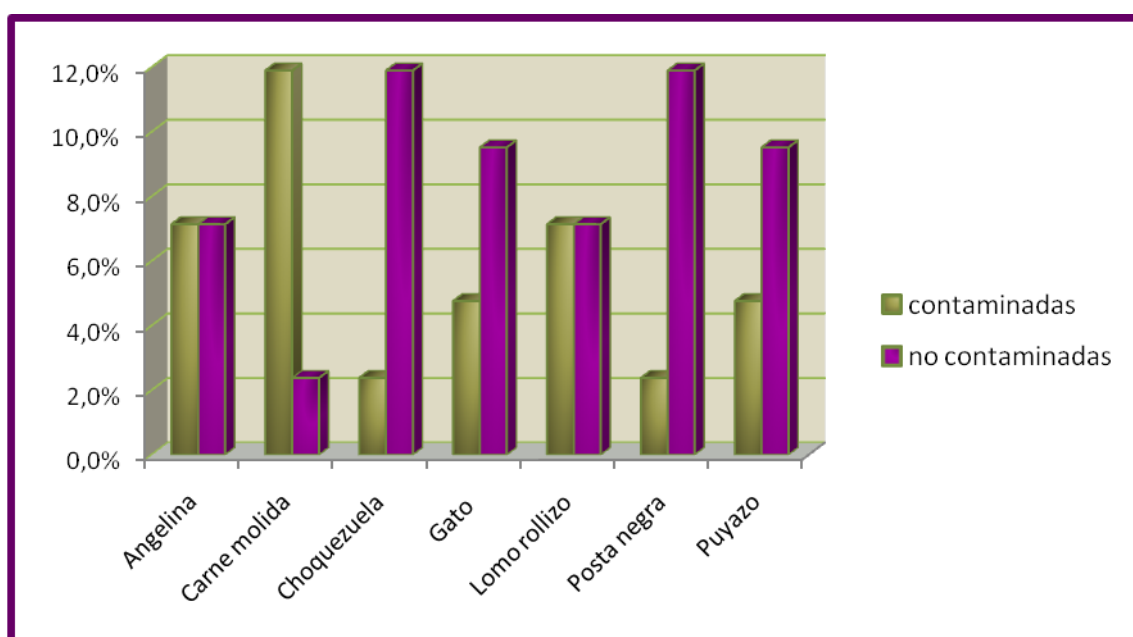


FIGURA N° 1: GRAFICO DE LOS RESULTADOS DEL MUESTREO N° 1.

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados al primer muestreo se detallan en los cuadros N° 8 hasta el N°13.

Se analizaron un total de 42 muestras, de las cuales se obtuvieron un total de 17 muestras no conformes a lo exigido por la norma salvadoreña NSO 67.02:98, que exige ausencia de *Listeria monocytogenes* en carnes, por el contrario 35 muestras presentaron un resultado conforme a lo exigido por la

norma ya mencionada. Las 17 muestras contaminadas equivalen a un 40% en el primer muestreo, dentro de las cuales 3 son de Angelina, 5 de carne molida, 1 de choquezuela, 2 de gato, 3 de lomo rollizo, 1 de posta negra, y 2 son de puyazo (ver anexo N° 9). En la figura N° 1 se puede observar que los siete cortes de carne de res analizados presentaron contaminación con ***Listeria monocytogenes***. En términos de porcentaje se tiene: 11.9% para la carne molida, siendo así la muestra de mayor incidencia de contaminación, mientras que las muestras que representan el porcentaje mas bajo de incidencia de contaminación son las de posta negra y choquezuela con un 2.38%.

5.1.3 Segundo muestreo

CUADRO N° 14: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
Proceso									
AISLAMIENTO		+	+	+	+	+	+	+	
I D E N T I F I C A C I O N	P R U E B A S B I O Q U I M I C A S	Catalasa	+	+	+	+	+	+	
		Hemólisis	+	+	+	+	+	+	
		CAMP	+	+	+	+	+	+	
		Fermentación de carbohidrato	-	+	+	+	+	+	
		Movilidad	+	+	+	+	+	+	
		TSI	+	+	+	+	+	+	
		Rojo de Metilo	+	+	+	+	+	+	
		VP	+	+	+	+	+	+	
		Indol	+	+	+	+	+	+	
CUANTIFI- CACIÓN		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	87	538	1091	511	222	231	401
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	80	100	20	60	70	20
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	

En el cuadro N° 14 de las 7 muestras de carne analizadas; todos los cortes de carne de res a excepción del corte de angelina, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 15: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2.

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choquezuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
		AISLAMIENTO			+	+	+	+	+
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	+	+	+	+	+	+	+
		Hemólisis	+	+	+	+	+	+	+
		CAMP	+	+	+	+	+	+	+
		Fermentación de carbohidrato	+	+	+	+	+	-	-
		Movilidad	+	+	+	+	+	+	+
		TSI	+	+	+	+	+	+	+
		Rojo de Metilo	+	+	+	+	+	+	+
		VP	+	+	+	+	+	+	+
		Indol	+	+	+	+	+	+	+
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL		1968	389	1055	892	1405	1714	239
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)		10	20	80	70	90	Ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98			NC	NC	NC	NC	NC	C	C

En el cuadro N° 15 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, choquezuela, gato y lomo rollizo, presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 16: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
		Proceso							
AISLAMIENTO		-	+	-	+	-	+	-	
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	-	+	-	+	-	+	-
		Hemólisis	-	+	-	+	-	+	-
		CAMP	-	+	-	+	-	+	-
		Fermentación de carbohidrato	-	+	-	+	-	+	-
		Movilidad	-	+	-	+	-	+	-
		TSI	-	+	-	+	-	+	-
		Rojo de Metilo	-	+	-	+	-	+	-
		VP	-	+	-	+	-	+	-
		Indol	-	+	-	+	-	+	-
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	715	ausente	381	ausente	189	ausente	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	90	ausente	60	ausente	20	ausente	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	C	NC	C	NC	C	

En el cuadro N° 16 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida, gato y posta negra presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 17: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 4.

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choque-zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
		AISLAMIENTO			-	+	-	-	-
I D E N T I F I C A C I Ó N	P R U E B A S B I O Q U I M I C A S	Catalasa	-	+	-	-	-	-	+
		Hemólisis	-	+	-	-	-	-	+
		CAMP	-	+	-	-	-	-	+
		Fermentación de carbohidrato	-	+	-	-	-	-	+
		Movilidad	-	+	-	-	-	-	+
		TSI	-	+	-	-	-	-	+
		Rojo de Metilo	-	+	-	-	-	-	+
		VP	-	+	-	-	-	-	+
		Indol	-	+	-	-	-	-	+
CUANTIFI- CACIÓN		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	510	ausente	ausente	ausente	ausente	478
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	80	ausente	ausente	ausente	ausente	100
Norma salvadoreña NSO 67.02:98			C	NC	C	C	C	C	NC

En el cuadro N° 17 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida y puyazo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 18: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Despensa de Don Juan.

Proceso		Muestra	Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo Rollizo	Posta negra	Puyazo
AISLAMIENTO			-	-	-	-	-	-	-
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	-	-	-	-	-	-	-
		Hemólisis	-	-	-	-	-	-	-
		CAMP	-	-	-	-	-	-	-
		Fermentación de carbohidrato	-	-	-	-	-	-	-
		Movilidad	-	-	-	-	-	-	-
		TSI	-	-	-	-	-	-	-
		Rojo de Metilo	-	-	-	-	-	-	-
		VP	-	-	-	-	-	-	-
		Indol	-	-	-	-	-	-	
CUANTIFICACIÓN		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	ausente	ausente	ausente	Ausente	ausente	ausente
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	ausente	ausente	ausente	Ausente	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98			C	C	C	C	C	C	C

En el cuadro N° 18 de las 7 muestras de carne analizadas; ninguna presenta reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para ***Listeria Monocytogenes*** por lo cual cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 19: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Hiper Europa.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo Rollizo	Posta negra	Puyazo	
		Proceso							
AISLAMIENTO		+	+	-	+	+	-	+	
IDENTIFICACIÓN	P	Catalasa	+	+	-	+	+	-	+
	R	Hemólisis	+	+	-	+	+	-	+
	U	CAMP	+	+	-	+	+	-	+
	B	Fermentación de carbohidrato	+	+	-	+	+	-	+
	A	Movilidad	+	+	-	+	+	-	+
	S	TSI	+	+	-	+	+	-	+
	B	Rojo de Metilo	+	+	-	+	+	-	+
	I	VP	+	+	-	+	+	-	+
	O	Indol	+	+	-	+	+	-	+
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL		200	594	ausente	310	181	ausente	64
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)		40	70	ausente	90	80	ausente	50
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		NC	NC	C	NC	NC	C	NC	

En el cuadro N° 19 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, gato, lomo rollizo y puyazo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

5.1.3.1 Discusión de resultados del segundo muestreo

A continuación se presenta el gráfico en el cual se exponen en términos de porcentaje los resultados obtenidos del análisis de las muestras del segundo muestreo recolectadas en los principales supermercados.

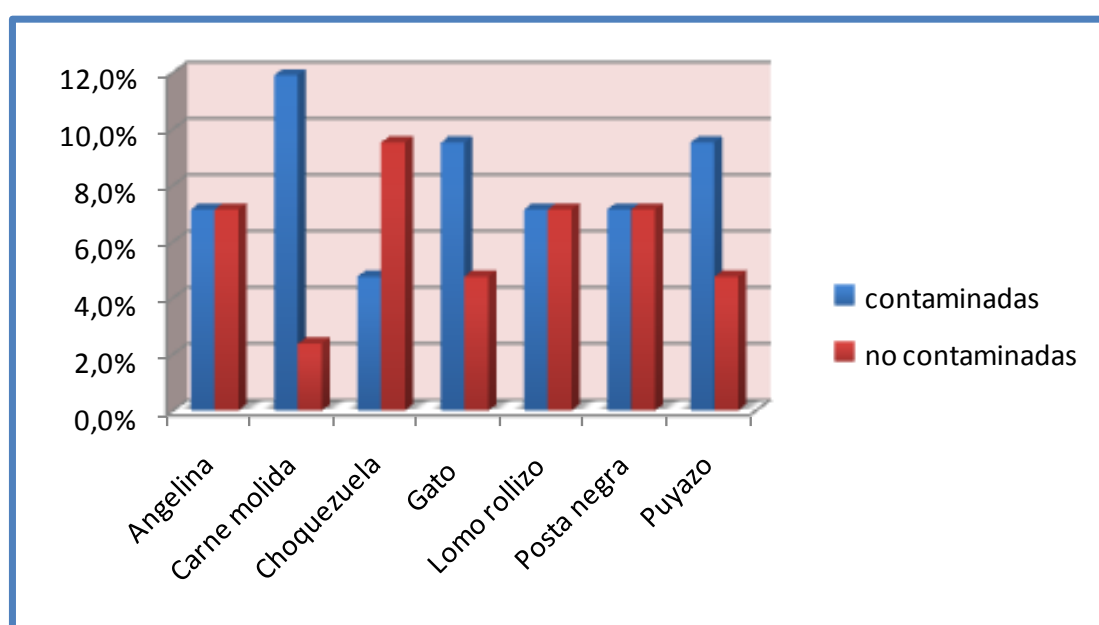


FIGURA Nº 2: GRAFICO DE LOS RESULTADOS DEL MUESTREO Nº 2.

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados al segundo muestreo se detallan en los cuadros Nº14 hasta el Nº 19.

De las 42 muestras analizadas, en el segundo muestreo, 21 cortes de carne de res equivalente a un 50% se encuentran con un resultado no conforme a la norma NSO62.02.98. y el otro 50% de muestras si cumple con la norma antes mencionada. En las 21 muestras no conformes con la norma se encuentra que 5 cortes pertenecen a la carne molida, 3 de angelina ,3 de lomo rollizo, 3 de

posta negra, 4 cortes de puyazo, 4 de gato, finalmente 2 cortes de choquezuela (ver anexo N°10). En la figura N° 2 se pueden observar que los siete tipos de carne de res analizados presentan contaminación con ***Listeria monocytogenes*** en los cuales los cortes que presentaron mayor frecuencia de contaminación son la de carne molida con un 11.9%, los cortes de puyazo y gato con un 9.52% respectivamente, por el contrario las muestras que presentan frecuencia de contaminación es el corte de choquezuela con un 4.76%.

5.1.4 Tercer muestreo.

CUADRO N° 20: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 1.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
Proceso									
AISLAMIENTO		-	+	+	+	+	+	+	
I D E N T I F I C A C I O N	P R U E B A S	Catalasa	-	+	+	+	+	+	
		Hemólisis	-	+	+	+	+	+	
		CAMP	-	+	+	+	+	+	
		Fermentación de carbohidrato	-	+	+	+	+	+	
	B I O Q U I M I C A S	Movilidad	-	+	+	+	+	+	
		TSI	-	+	+	+	+	+	
		Rojo de Metilo	-	+	+	+	+	+	
		VP	-	+	+	+	+	+	
		Indol	-	+	+	+	+	+	
C U A N T I F I C A C I O N		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	4748	3	203	136	816	728
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	50	66.7	100	40	70	80
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	

En el cuadro N° 20 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida, choquezuela, lomo rollizo, gato, posta negra y puyazo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 21: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 2.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
		Proceso							
AISLAMIENTO		+	+	+	-	+	+	+	
I D E N T I F I C A C I O N	P R U E B A S	Catalasa	+	+	+	-	+	+	+
		Hemólisis	+	+	+	-	+	+	+
		CAMP	+	+	+	-	+	+	+
		Fermentación de carbohidrato	+	+	+	-	+	+	+
		Movilidad	+	+	+	-	+	+	+
		TSI	+	+	+	-	+	+	+
		Rojo de Metilo	+	+	+	-	+	+	+
		VP	+	+	+	-	+	+	+
		Indol	+	+	+	-	+	+	+
C U A N T I F I C A C I O N	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	641	201	1817	ausente	3764	608	128	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	100	80	80	ausente	90	100	100	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		NC	NC	NC	C	NC	NC	NC	

En el cuadro N° 21 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de angelina, carne molida, choquezuela, lomo rollizo, posta negra y puyazo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumplen con lo exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 22: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super Selectos N° 3.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
Proceso								
AISLAMIENTO		-	+	-	-	+	-	-
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS							
	Catalasa	-	+	-	-	+	-	-
	Hemólisis	-	+	-	-	+	-	-
	CAMP	-	+	-	-	+	-	-
	Fermentación de carbohidrato	-	+	-	-	+	-	-
	Movilidad	-	+	-	-	+	-	-
	TSI	-	+	-	-	+	-	-
	Rojo de Metilo	-	+	-	-	+	-	-
	VP	-	+	-	-	+	-	-
INDOL	-	+	-	-	+	-	-	
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	692	ausente	ausente	2	ausente	ausente
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	90	ausente	ausente	50	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	C	C	NC	C	C

En el cuadro N° 22 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida y lomo rollizo presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para **Listeria Monocytogenes** por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 23: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Super selectos N° 4.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
Proceso								
AISLAMIENTO		-	+	+	-	-	-	-
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS							
	Catalasa	-	+	+	-	-	-	-
	Hemólisis	-	+	+	-	-	-	-
	CAMP	-	+	+	-	-	-	-
	Fermentación de carbohidrato	-	+	+	-	-	-	-
	Movilidad	-	+	+	-	-	-	-
	TSI	-	+	+	-	-	-	-
	Rojo de Metilo	-	+	+	-	-	-	-
QUÍMICAS								
VP	-	+	+	-	-	-	-	
Indol	-	+	+	-	-	-	-	
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	71	183	ausente	Ausente	ausente	ausente
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	50	90	ausente	Ausente	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	NC	C	C	C	C

En el cuadro N° 23 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida y choquezuela presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO N° 24: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado de la Despensa de Don Juan.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo
		Proceso						
AISLAMIENTO		-	-	-	-	-	-	-
I D E N T I F I C A C I Ó N	P R U E B A S	Catalasa	-	-	-	-	-	-
		Hemólisis	-	-	-	-	-	-
		CAMP	-	-	-	-	-	-
		Fermentación de carbohidrato	-	-	-	-	-	-
	B I O Q U I M I C A S	Movilidad	-	-	-	-	-	-
		TSI	-	-	-	-	-	-
		Rojo de Metilo	-	-	-	-	-	-
		VP	-	-	-	-	-	-
		Indol	-	-	-	-	-	-
C U A N T I F I C A C I Ó N		<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
		<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	C	C	C	C	C	C

En el cuadro N° 24 de las 7 muestras de carne analizadas; ninguna presenta reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para ***Listeria Monocytogenes*** por lo cual cumple con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

CUADRO Nº 25: Resultados obtenidos de las muestras del supermercado Hiper Europa.

Muestra		Angelina	Carne molida	Choque zuela	Gato	Lomo rollizo	Posta negra	Puyazo	
Proceso									
AISLAMIENTO		-	+	-	-	+	+	-	
IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	Catalasa	-	+	-	-	+	+	-
		Hemólisis	-	+	-	-	+	+	-
		CAMP	-	+	-	-	+	+	-
		Fermentación de carbohidrato	-	+	-	-	+	+	-
		Movilidad	-	+	-	-	+	+	-
		TSI	-	+	-	-	+	+	-
		Rojo de Metilo	-	+	-	-	+	+	-
		VP	-	+	-	-	+	+	-
		Indol	-	+	-	-	+	+	-
CUANTIFICACIÓN	<i>Listeria ssp.</i> UFC/mL	ausente	87	ausente	ausente	1136	36	ausente	
	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	ausente	40	ausente	ausente	60	70	ausente	
Norma salvadoreña NSO 67.02:98		C	NC	C	C	NC	NC	C	

En el cuadro Nº 25 de las 7 muestras de carne analizadas; los cortes de carne molida, lomo rollizo y posta negra presentan reacción positiva a las pruebas de identificación y cuantificación para *Listeria Monocytogenes* por lo cual no cumplen con la exigido en la NSO 67.02.98 que establece ausencia del microorganismo en estudio.

5.1.4.1 Discusión de resultados del tercer muestreo

A continuación se presenta el gráfico en el cual se exponen en términos de porcentaje los resultados obtenidos del análisis de las muestras del tercer muestreo recolectadas en los principales supermercados.

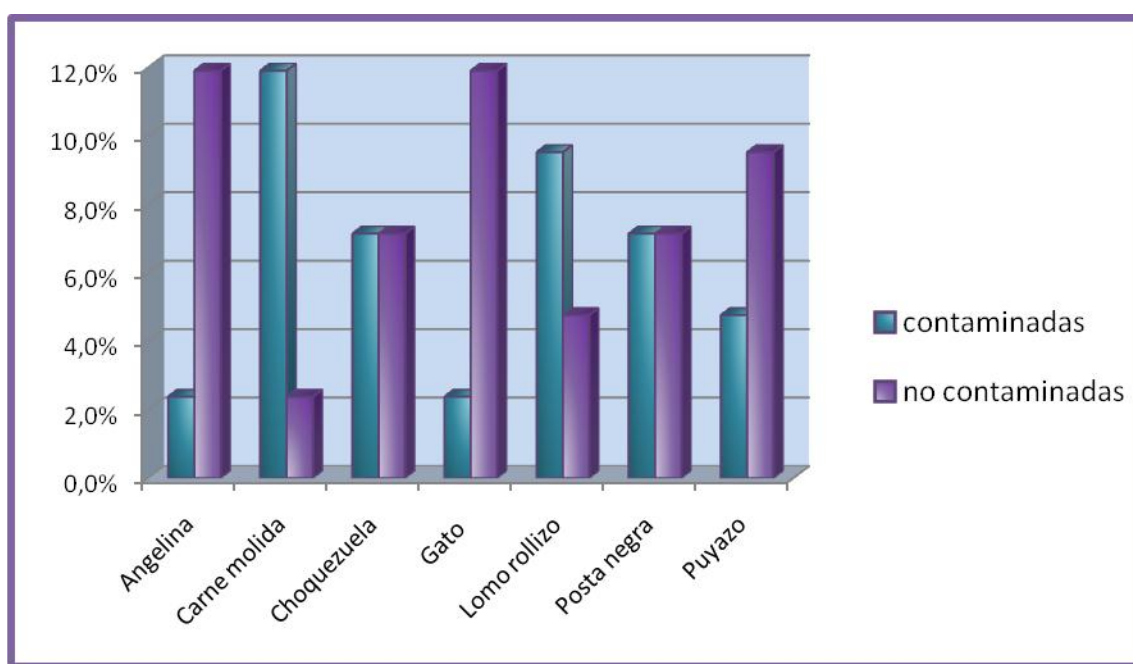


FIGURA N° 3: GRAFICO DE LOS RESULTADOS DEL MUESTREO N° 3.

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados al tercer muestreo se detallan en los cuadros N° 20 hasta el N° 25

Para el tercer muestreo se utilizaron 42 muestras de siete tipos de cortes de carne de res de los cuales 19 muestras se encuentran contaminadas con *Listeria monocytogenes* equivalente a un 45 % que no cumple con la exigencia de la norma NSO 62.02.98; por el contrario el 55% de las muestras

analizadas con dicha norma. De las 19 muestras no conformes con las norma se tiene que 5 muestras corresponden a carne molida, 4 son de lomo rolliza, 3 de posta negra, 3 de choquezuela, 2 de puyazo, 1 corte de gato y uno de angelina (ver anexo 11). En la figura N° 3 se puede observar que las muestras con mayor incidencia de contaminación son la de carne molida con un 11.9% seguido por el corte de lomo rollizo con un 9.5%, mientras que los cortes con menor incidencia de contaminación son los cortes de angelina y gato representados por el 2.38%.

5.1.4.2 Discusión de resultados de los tres muestreos

A continuación se presenta el gráfico en el cual se exponen en términos de porcentaje los resultados obtenidos del análisis de las muestras de los tres muestreos recolectadas en los principales supermercados.

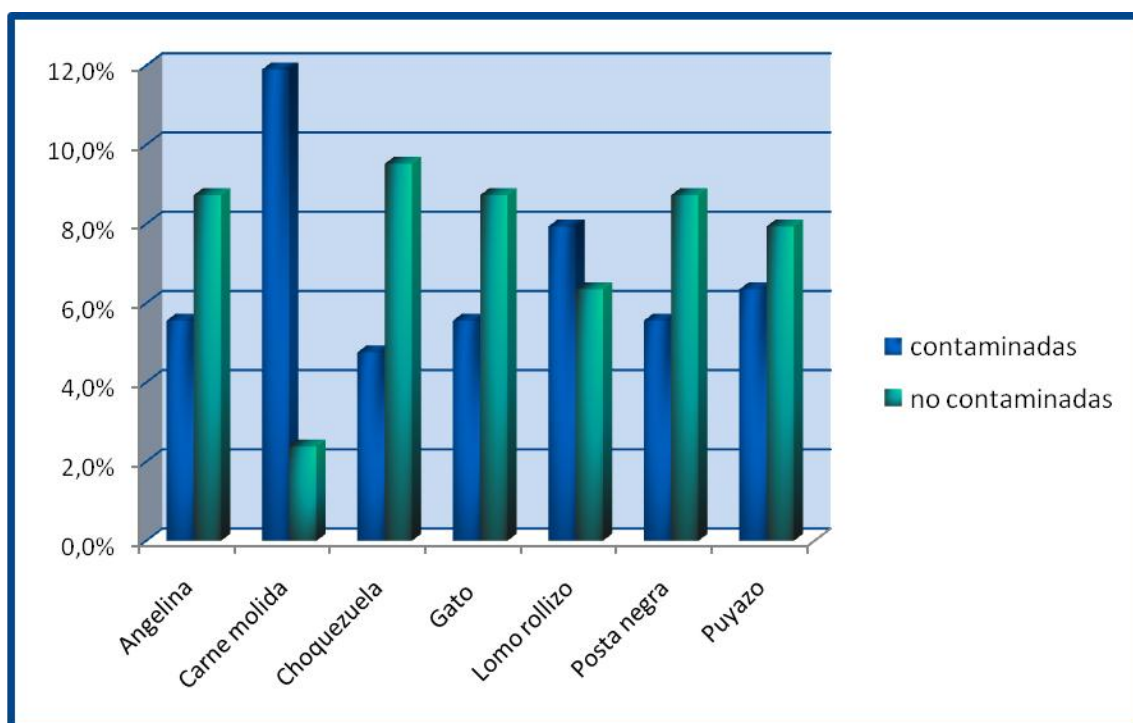


FIGURA N° 4: GRAFICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LOS 3 MUESTREOS.

1. En la presente investigación se observa que de un total de 126 muestras (cantidad total de los tres muestreos) de carne de diferentes cortes, un 45% que corresponde a 57 muestras recibidas tal y como se les proporciona al consumidor se encontraron contaminadas con **Listeria**

monocytogenes. Las cuales se desglosan así: 6 son de angelina, 15 de carne molida, 6 de choquezuela, 7 de gato, 10 son de lomo rollizo, 6 son de posta negra y 7 son de puyazo (ver anexo N° 12), en la figura N°4 se comprueba que en la investigación las muestras de carne molida son las que se presentaron en mayor porcentaje de contaminación con aproximadamente el 12 %, seguida del 8% correspondientes a las muestras contaminadas de lomo rollizo, mientras que las muestras que presentaron menor porcentaje de contaminación fueron las de choquezuela con un porcentaje aproximadamente de un 5%.

2. De las muestras que se analizaron en los tres muestreos se reporta un total de 57 muestras a las que se les cuantificó ***Listeria monocytogenes*** equivalente a un 45% de la muestras totales y la Norma Salvadoreña obligatoria establece ausencia del microorganismo.

3. Dando cumplimiento al objetivo N° 5 de esta investigación se presenta una carta emitida por el Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social (MSPAS) , que declara que recibieron los resultados de los análisis microbiológicos obtenidos en la presente investigación en el periodo Julio-Agosto 2007 (ver anexo N° 1).

Capitulo VI

CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Las carnes presentan condiciones adecuadas como la temperatura, el pH entre otros nutrientes que permiten el crecimiento óptimo y multiplicación de microorganismos como ***Listeria monocytogenes***.
2. Las carnes recolectadas en los diferentes establecimientos como: carne molida, choquezuela, angelina, gato, lomo rollizo, posta negra y puyazo, no cumplen con lo establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria para carnes y productos cárnicos NSO. 67.02.98 la cual declara que ***Listeria monocytogenes*** debe estar ausente del producto, para el caso la carne de res.
3. La carne molida es la muestra más susceptible a sufrir contaminación con ***Listeria monocytogenes***, ya que esta se presenta contaminada en un porcentaje del 15 % de las muestras totales, esto puede ser debido a la manipulación y procesos que sufre, hasta llegar a manos del consumidor final, además la superficie de contacto que la carne molida presenta favorece la contaminación cruzada con utensilios, recipientes y maquinaria que se utilizan para su elaboración, almacenamiento y comercialización.

4. La presencia de ***Listeria monocytogenes*** en las muestras de carne analizadas reflejan que los establecimientos que comercializan estos productos no están realizando eficazmente las medidas sanitarias básicas para el control de microorganismos patógenos, por lo cual este producto podría considerarse como riesgo potencial para la salud del consumidor.

5. De los seis establecimientos que fueron muestreados se observaron que cinco de ellos no cumplen con las condiciones de manipulación y almacenamiento necesarios para comercializar carne de res cruda; ya que en los tres muestreos se presentaron mas de una muestra contaminada con ***Listeria monocytogenes*** lo que podría indicar una posible contaminación cruzada. .

Capitulo VII
RECOMENDACIONES

7. RECOMENDACIONES

1. A los establecimientos que presentaron muestras contaminadas con ***Listeria monocytogenes*** que mejoren sus procedimientos de limpieza y sanitización aumentando el tiempo de actividad del sanitizante, así como también un cambio periódico del mismo, con el objetivo de evitar resistencia microbiana y de esta forma disminuir posible contaminación.
2. Que los establecimientos que comercializan las carnes rojas de res cruda deben de exigir a los proveedores la certificación del análisis microbiológico que respalde la calidad del producto.
3. Que Los establecimientos que comercializan carne de res cruda deben evitar mezclar lotes de carne reciente con carnes de un lote anterior, con la finalidad de reducir una posible contaminación cruzada.
4. A las personas con sistema inmunológico debilitado, mujeres embarazadas y ancianos, que consuman carnes que se encuentren en condiciones adecuadas de cocción; es decir bien cocidas para reducir el riesgo de contaminación con ***Listeria monocytogenes***, y evitar adquirir Listeriosis.

5. Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social que implemente un sistema de monitoreo para realizar análisis microbiológico a las carnes importadas con la finalidad de verificar si cumple con la ausencia de microorganismos patógenos incluyendo ***Listeria monocytogenes***.
6. Que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social se encargue de elaborar un procedimiento adecuado de limpieza y sanitización que garantice la erradicación, de la mayoría de microorganismos patógenos tal es el caso de ***Listeria monocytogenes***. Luego proporcionarlo a los establecimientos que comercializan carne como una alternativa para mejorar y mantener los estándares de calidad microbiológica de la carne.
7. Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y entidades involucradas en la elaboración de normas sanitarias; que se encarguen de realizar nuevas normas que involucre importación, transporte, almacenamiento, procedimientos de limpieza y sanitización, así como la comercialización de carne cruda de res a granel, ya que en la norma salvadoreña NSO 67.02:98 nada más hace mención de embutidos y productos que han sido procesados.

BIBLIOGRAFIA.

1. Arriola, G., "**Listeria** y embarazo", <http://www.iaca.com.ar/listeria.pdf>
2. Bonilla, G., 1992, "Métodos prácticos de inferencia estadística", 2º ed., El salvador, editorial UCA, p.11- 14.
3. CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 1998. Norma salvadoreña para carne y productos cárnicos, embutidos crudos y cocidos NSO 67.02.13:98, p. 7
4. Crespo, M., 1999, "Aislamiento de **Listeria monocytogenes** en un hospital de tercer nivel", autorizada por: Corporación Editora Médica del Valle, Colombia, Publicación original: Colombia Médica.

Consultada el 4 de abril de 2007. Disponible en:

<http://www.monografias.com/trabajos905/aislamiento-listeria-monocytogene/aislamiento-listeria-monocytogene.shtml>
5. Escobar, J., 1973, "Tecnología practica de la carne", editorial Acribia, España, Zaragoza, p. 34, p. 39 – 43, p.84-85.
6. F.D.A (Food and Drug Administration of United Status) 1998. Bacteriological Analytical Manual (B.A.M) 8ª edicion, capitulo 10 y 12.
7. Ferrer, S. y otros, 2003, "Romboencefalitis: una forma de infección por **Listeria monocytogenes** en el sistema nervioso central", Chile.

Consultado el 4 abril del 2007.Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872003000800013&Ing=en&nrm=iso

8. Garza, R. y otros, "La listeriosis humana y el ciclo infeccioso asociado a su agente etiológico", departamento de biología, facultad de química, UNAM., consultado el 22 de marzo de 2007. Disponible en <http://depa.pquim.unam.mx/bacteriologias/pdfs/art./cdc-listeria.pdf>.
9. Gregg, M. y otros, 2002, "Epidemiología de campo", New York, Oxford University Press, Segunda Ed., Capítulo 4, consultada el 4 de abril de 2007. Disponible en:
<http://epi.minsal.cl/epi/html/presenta/Taller2004/epidemiologiadecampo-gregg.doc>
10. Koneman, E. y otros, 1997. "Diagnóstico microbiológico" 3ª edición, editorial médica panamericana, México, D.F. Pág. 462-465
11. Merck, "Manual de medios de cultivo", Pág. 177
12. Niinivaara, F. y Antila, P., 1973, "Valor nutritivo de la carne", España, Zaragoza, editorial Acribia, p.88-89, p. 54-56, p.58-65.
13. Nolla, J., 2002, "Listeriosis una infección poco frecuente", hospital del mar, Barcelona. Consultado el 21 de marzo de 2007. Disponible en:
<http://www.consumaseguridad.com/discapavitados/es/investigacion/2002/01/15/630.php>
14. Nolla, J., 2002 "Listeriosis, síntomas variables y mortalidad elevada", hospital del mar, Barcelona. Consultado el 21 de marzo de 2007. disponible en:

<http://www.consumaseguridad.com/discapavitados/es/investigacion/2002/01/15/630.php>

15. Oteo, J. y otros., "Listeria y listeriosis", servicio de microbiología, Madrid. consultado el 22 de marzo de 2007. Disponible en:
<http://www.seimc.org/control/revi-bacte/listeria.htm>
16. Potter, N. y otros, 1995. "Ciencia de los alimentos", editorial Acribia, S.A.; Zaragoza, España. Pág. 350-364
17. Reuter, h. y otros, 1971, "Nuevos métodos de transformación industrial de la carne", España, Zaragoza, editorial Acribia, p. 87.
18. Schöbitz, R. "Importancia epidemiológica de *Listeria monocytogenes* en la industria alimentaría", Chile: Disponible en:
http://scielo-test.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0716-97602005000200020&script=sci_arttext&tlng=es
19. Sánchez, J. y García, S., 2005, "Peritonitis focal como forma de presentación clínica de una listeriosis", Hospital Comarcal de Jaca, Anatomía Patológica. Hospital Royo Villanova. Zaragoza. Chile. consultado 12 de abril de 2007. Disponible en:
http://wwwscielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992005000700009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
20. Wistreich, G. y otros, Prácticas de laboratorio en microbiología, segunda edición, pag. 175-179.

21. Zamora, J., "Listeriosis de Origen Alimentario y sus Medidas de Prevención" Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos. Consultado el 12 de abril de 2007. Disponible en:
www.monografias.com/trabajos/listeriosis/listeriosis.shtml

GLOSARIO ^(8,16)

Aponeurosis: membrana conjuntiva formada por fibras cruzadas que sirve de envoltura a los músculos.

Listeriolisina O (LIO): potente toxina producida por la bacteria *Listeria monocytogenes*, cuya acción principal es formar poros en la célula hospedera.

Nitrificación: proceso de oxidación del amoníaco del suelo, procedente de la descomposición de los restos orgánicos de animales y vegetales al estado de nitrato.

Proteína listeriana Act. A: proteína superficial de *Listeria monocytogenes* que interactúa con filamentos de actina y otras proteínas del citoesqueleto hospedero; la cual promueven o confieren extensiones en forma de cola que permite a la bacteria moverse dentro del citoplasma.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Viernes 11 de febrero de 2,008

Por este medio hago constar que los resultados obtenidos de la investigación denominada: **"Identificación de *listeria monocytogenes* en carne de res cruda comercializada en los principales supermercados del área metropolitana de San Salvador"**, realizada por la Br. Verónica Sarai González Hernández y el Br. Francisco José Vásquez Del Cid en el laboratorio de control de calidad microbiológico del edificio de CENSALUD de la Universidad de El Salvador, fueron recibidos en el departamento de higiene de alimentos del Laboratorio Max Bloch del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Atentamente.



Ing. Luis Enrique Parada
Jefe del departamento de higiene de alimentos
del laboratorio Max Bloch.

15 ABR. 2008

Cuadro N° 26: Límites Microbiológicos según Norma Salvadoreña obligatoria (NSO 67.02.13:98).

Producto	Recuento total aeróbico a 32 °C	Salmonella ssp	Staphylococcus aureus	Clostridium perfringens	Escherichia coli		Coliformes Totales		Listeria monocytogenes
					UFC/g	NMP/g	UFC/g	NMP/g	
Precocido listo para comer (mortadela)	1 x 10 ⁵ UFC/g máx.	ausente en 25 g	10 UFC/g máx.	10 UFC/g máx.	10 máx.	0.4 máx.	100 máx.	15 máx.	ausencia/g
Precocido, normalmente requiere cocimiento antes de ser consumido (salchicha hot dog)	1 x 10 ⁵ UFC/g máx.	ausente en 25 g	10 UFC/g máx.	10 UFC/g máx.	10 máx.	0.4 máx.	100 máx.	15 máx.	ausencia/g
crudo, requiere cocimiento antes de ser consumido (longaniza, salchicha de desayuno)	1 x 10 ⁶ UFC/g máx.	ausente en 10 g	100 UFC/g máx.	100 UFC/g máx.	100 máx.	15 máx.	1000 máx.	150 máx.	ausencia/g
Curados, pueden ser ingeridos sin cocción adicional (chorizo extremeño, salami italiano)	1 x 10 ⁵ UFC/g máx.	ausente en 25 g	10 UFC/g máx.	10 UFC/g máx.	10 máx.	0.4 máx.	100 máx.	15 máx.	ausencia/g

ANEXO N° 3

TABLA 2. Colonias típicas observadas en los medios.

Medio de cultivo	Observación
Oxford	Colonias de color negro, con un halo de color negro alrededor.
Palcam	Colonias de color negro, con un halo de color negro alrededor.
TSA + Extracto de levadura	Colonias de color beige, con la luz presentan una coloración azul.
Agar sangre	Colonias de color beige. Con halo claro alrededor.

TABLA 3. Pruebas bioquímicas de *L. monocytogenes*.

Prueba	Resultado
TSI	(A/A)
Indol	negativo
Reacción Voges-Proskauer	positivo
Rojo de metilo	positivo
Motilidad a 25° C	Positivo
Catalasa	positivo

ANEXO N° 4

**TABLA N° 4: Diferenciación de especies de listeria.
Producción de ácido**

Espece	β -Hemólisis ^a	Manitol	Rhamnosa	Xilosa
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	+	-
<i>L. ivanovii</i> ^c	+	-	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-	V ^d	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	V ^d	+
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	+
<i>L. grayi</i> ^e	-	+	V ^d	-

^a Agar sangre de Oveja.

^c especies fermentadoras de ribosa son clasificados como *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* y los no fermentadoras de ribosa como *L. ivanovii* subsp. *londiniensis*.

^dV , la variable según biotipos.

^e Incluye dos subespecies - *L. grayi* subsp. *murrayi* reduce el nitrato *L. grayi* subsp. *grayi* no reduce el nitrato.

ANEXO Nº 5

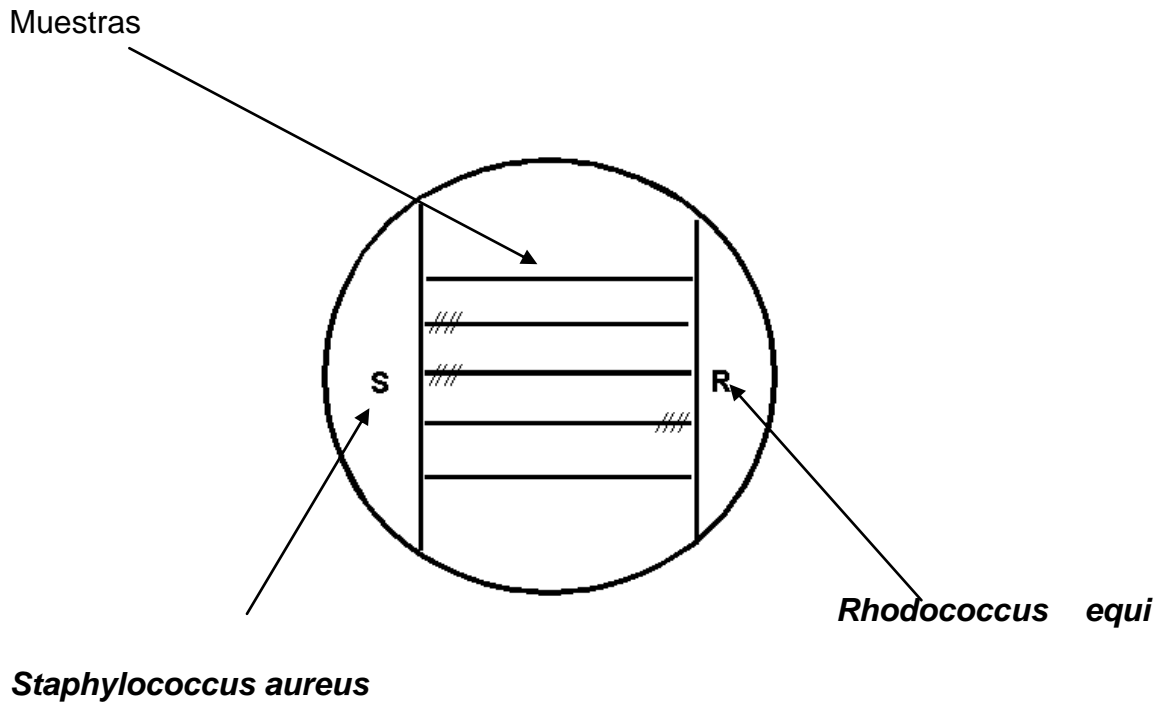


FIGURA N° 5: Prueba de CAMP para *Listeria monocytogenes*: Modelo de inoculación de agar sangre de oveja (placa). Líneas horizontales representan las inoculaciones de raya de 5 tensiones de prueba. Líneas verticales representan las inoculaciones de raya de *Staphylococcus aureus* (S) y *Rhodococcus equi* (R). Las líneas incubadas indican las posiciones de regiones de realce de hemólisis.

TABLA 5. Prueba de CAMP

especie	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	-*
<i>L. ivanovii</i>	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-

*Tensiones raras son la S + y la R +. La R + la reacción es menos pronunciada que él de *L. ivanovii*.

ANEXO N° 6

Tabla N ° 6: Ubicación de los supermercados a muestrear.

Numero	Supermercado	Dirección
1	Super Selectos	Apopa 2, Km. 12 ¹ / ₂ carretera troncal del norte.
2	Super Selectos	San Miguelito, 2 ^a calle poniente, 5 ^a av. Norte.
3	Super Selectos	10 ^a avenida sur y calle México, Super selectos San Jacinto.
4	Super Selectos	Centro San José , 6 ^a av. Norte, 1 ^a calle poniente # 334
5	Despensa de Don Juan	Sucursal terraza, 20 ^a calle oriente 10 ^a av. Norte.
6	Hiper Europa	Alameda Manuel Enrique Araujo entre calle nueva 1 y 2, col. Escalón.

ANEXO N° 7

Material y Equipo de laboratorio.

- Guantes
- Mascarilla
- Gabacha
- Gorro
- Azas en aro y en punta
- Cajas petri
- Erlenmeyer de 1500 ml y 500 ml.
- Bandejas de acero.
- Pipetas de 1ml
- Cuchillos estériles
- Espátulas
- Esparcidores
- Beaker de 600 ml, 150ml y 50ml.
- Probetas de 1000 ml, 500 ml y 25ml.
- Papel de empaque.
- Tubos de ensayo
- Bolsas Stomacher.
- Gradilla
- Micropipetas.
- Frascos goteros
- Papel toalla
- Perillas
- Hielera
- Portaobjetos
- Alcohol isopropilico
- Agar sangre
- Agar Palcam

- Agar Oxford
- Caldo de enriquecimiento para Listeria (LEB)
- Agar tripticasa soya + 0.6% de extracto de levadura.
- Caldo tripticasa soya + 0.6 % de extracto de levadura
- Agar TSI.
- Peroxido 3%
- Rojo de metilo
- Solución alfa naftol
- KOH
- Reactivo de Kovac
- Ramnosa

- EQUIPO
- Cámara de flujo laminar
- Stomacher
- Freezer
- Esterilizador de azas
- Incubadora
- Autoclave
- Estufa
- Hot plate
- Baño Maria
- Balanza granataria y analítica
- Cuenta colonias

ANEXO Nº 8

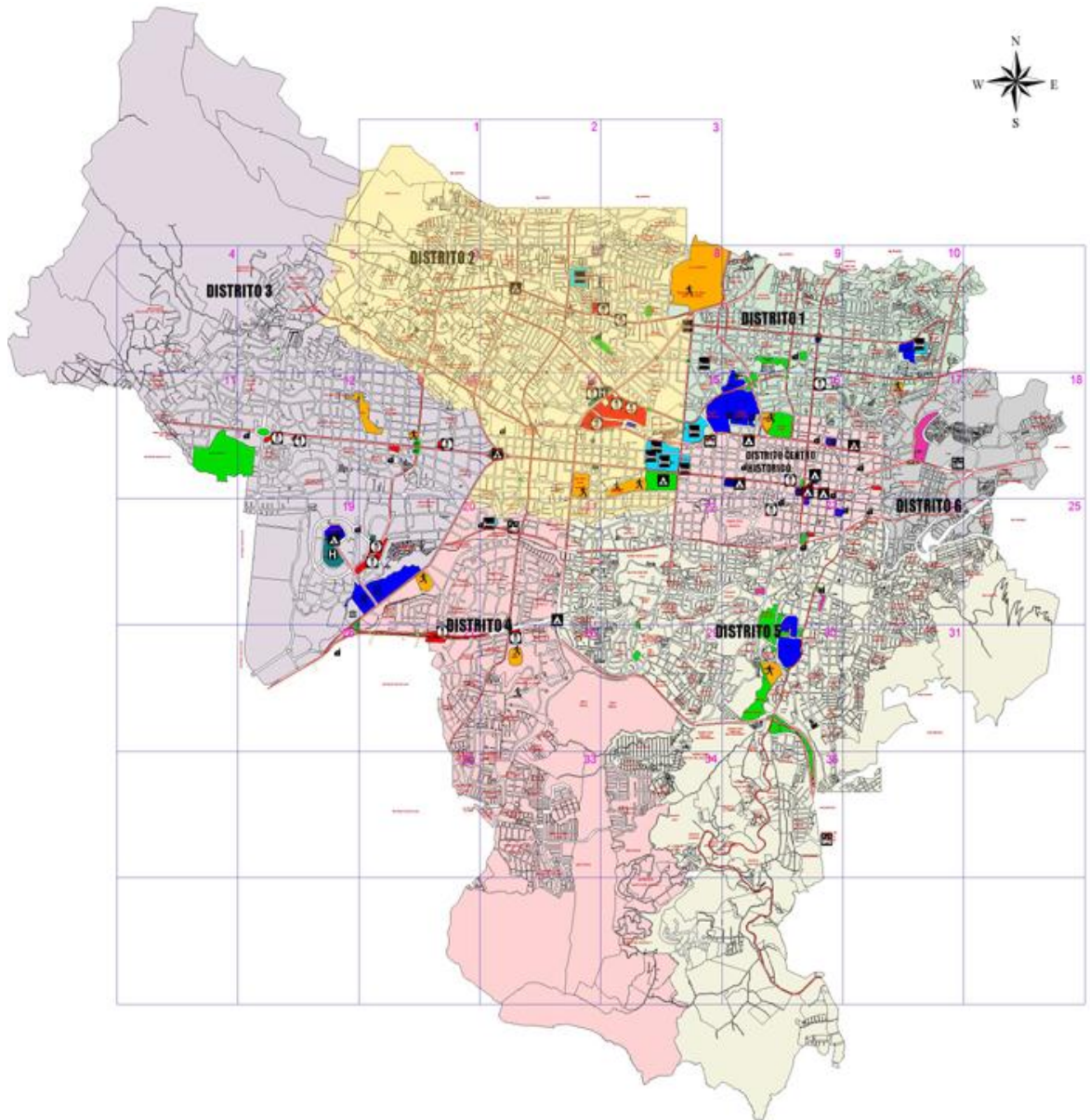


FIGURA Nº 6: Mapa de la zona metropolitana de San Salvador

ANEXO Nº 9

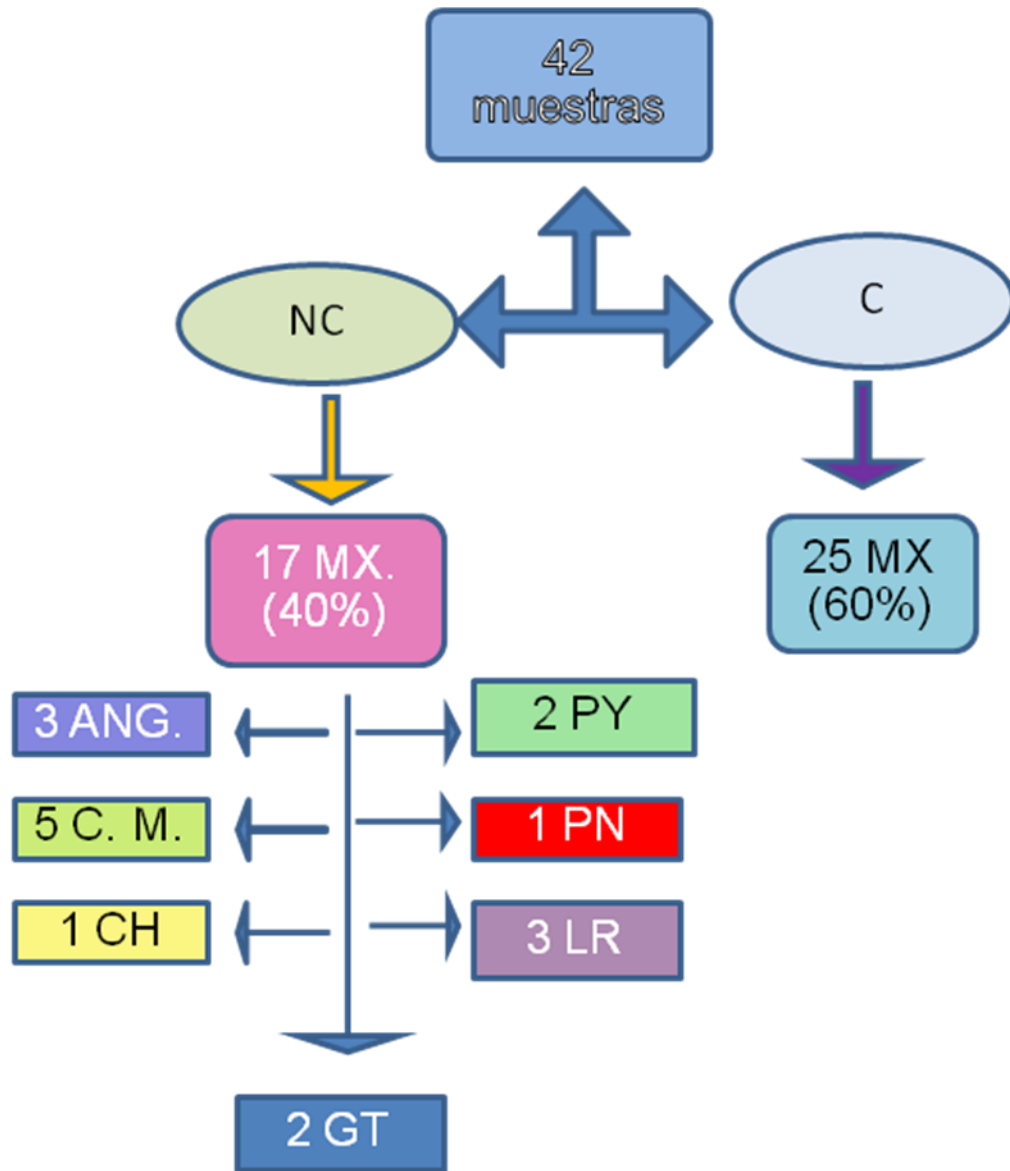


FIGURA Nº 7: Esquema de la interpretación del primer muestreo.

ANEXO Nº 10

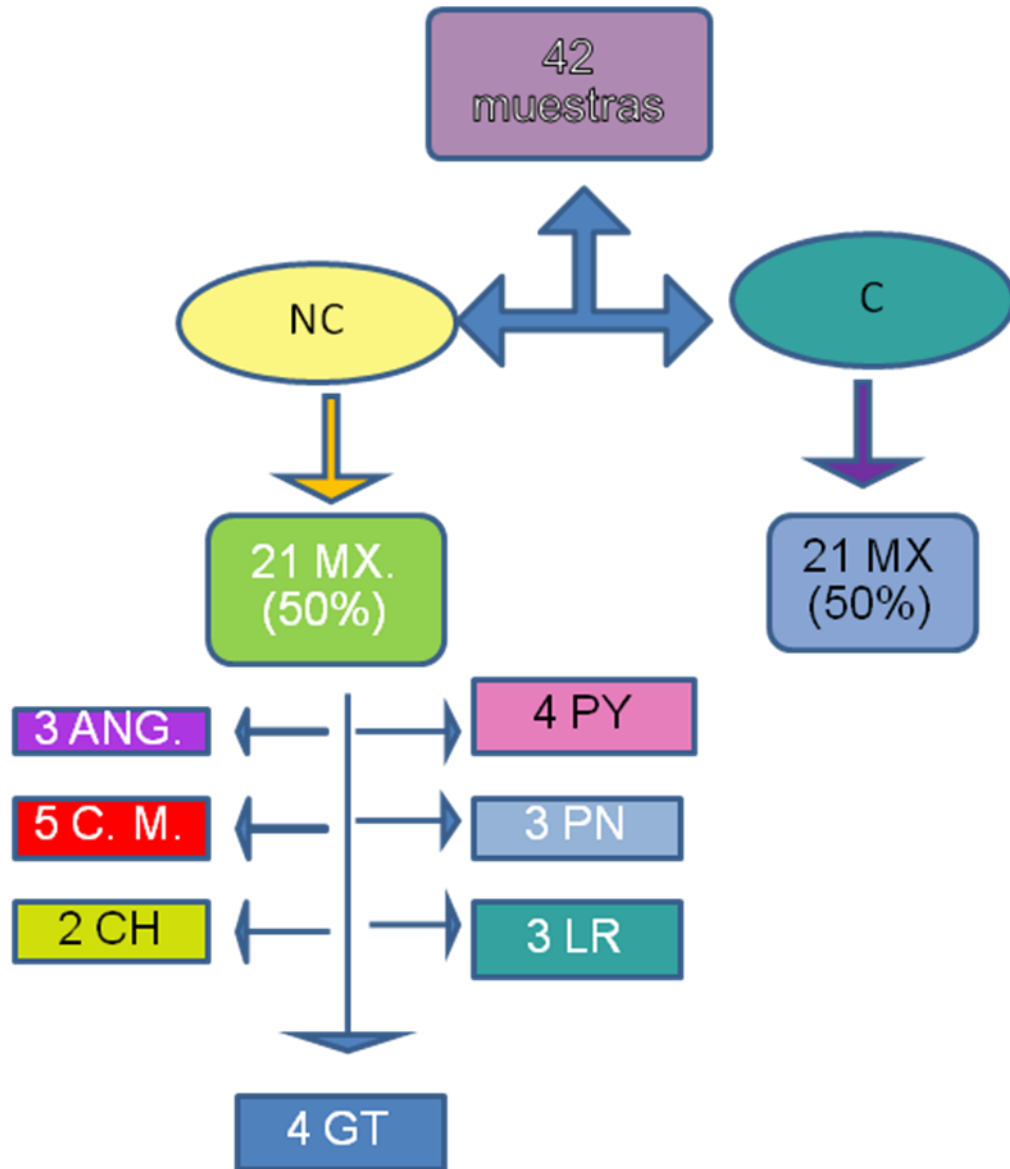


FIGURA Nº 8: Esquema de la interpretación del segundo muestreo.

ANEXO Nº 11

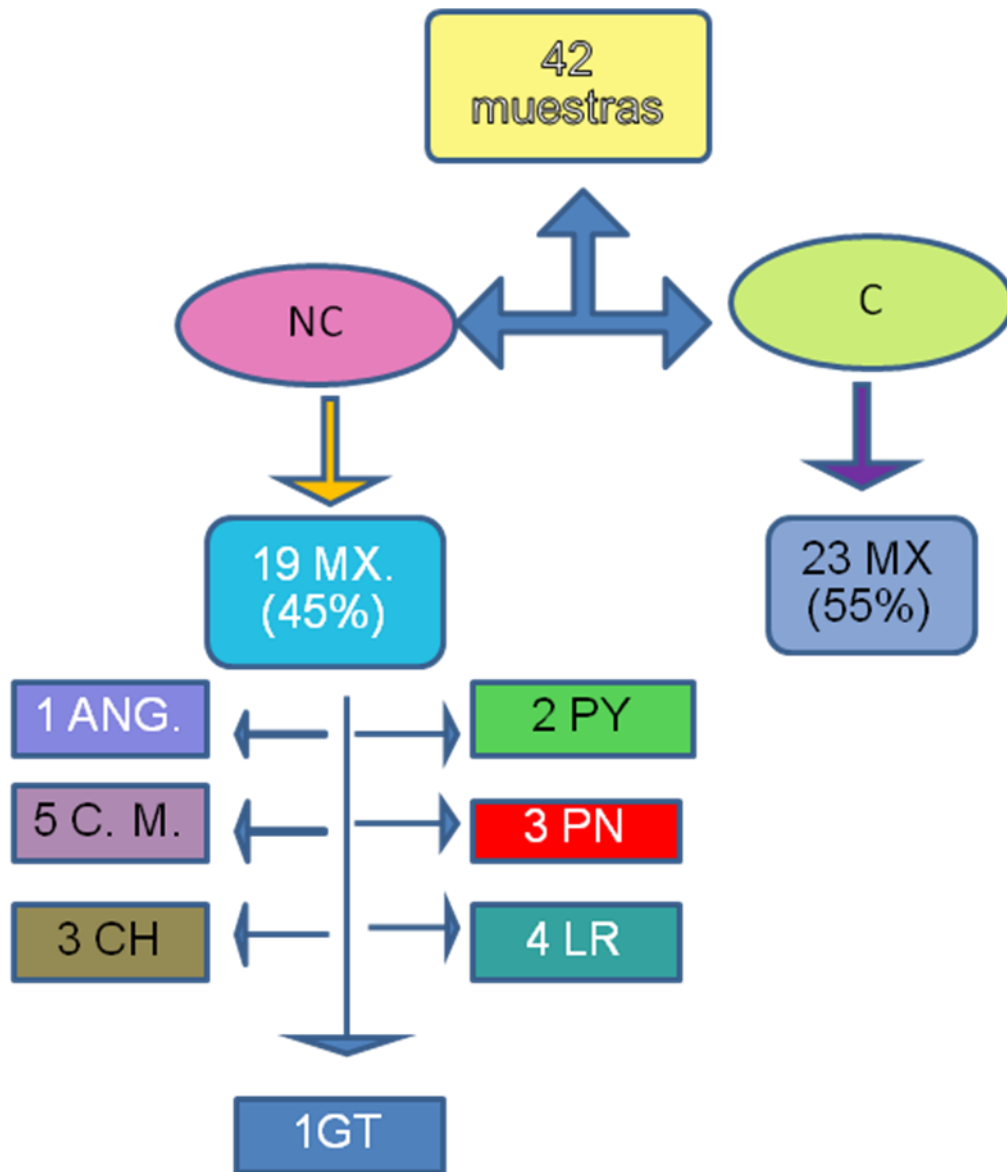


FIGURA Nº 9: Esquema de la interpretación del tercer muestreo.

ANEXO Nº 12

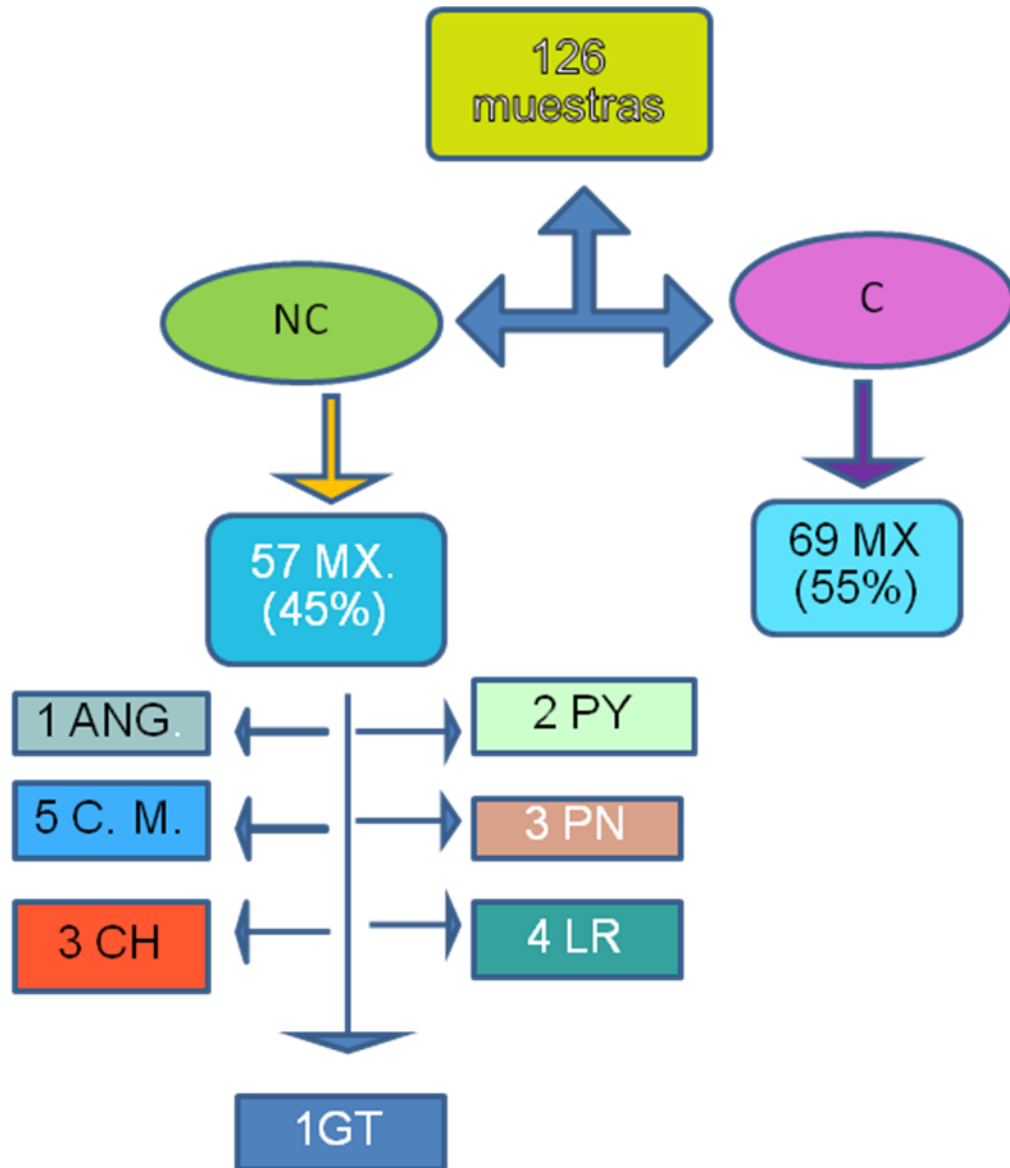
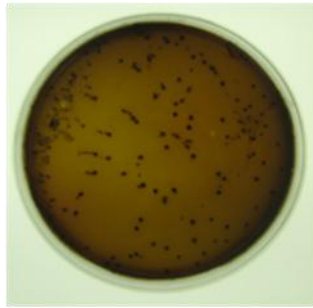
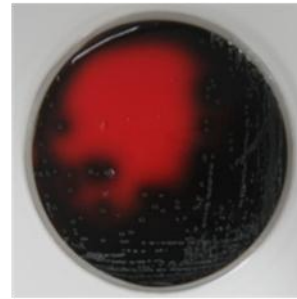


FIGURA Nº 10: Esquema de la interpretación de los tres muestreos.

ANEXO Nº 13
AISLAMIENTO

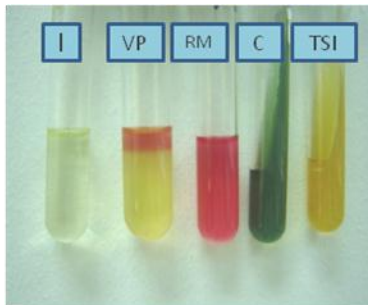


OXFORD

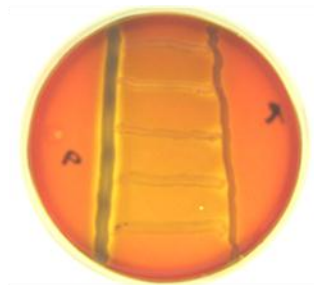


PALCAM

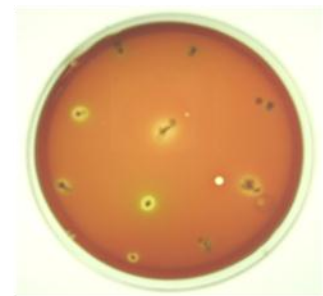
IDENTIFICACION



PRUEBAS BIOQUIMICAS



CAMP



HEMOLISIS

FIGURA Nº 11: Imágenes del aislamiento e identificación de

Listeria monocytogenes.