

Listeria monocytogenes en jugos de frutas frescas como vehículos de transmisión de listeriosis humana

**Juan A. Barón Figueroa¹; Milciades Chávez Castillo²;
Elmo A. Saucedo Amaya³**

¹Laboratorio de Análisis "Barón", juan_baronfig@hotmail.com

²m_chavez_castillo@hotmail.com;

³Municipalidad Distrital de La Esperanza, elmo1430@hotmail.com

Recibido: 31-07-12

Aceptado: 23-08-12

RESUMEN

Se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes* en los jugos de frutas frescas, como vehículos de transmisión de listeriosis humana, en la ciudad de Trujillo, Perú. Se evaluaron 360 muestras de jugos de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja", usando la Norma Técnica Peruana NTP ISO 2859-1:2009 y para evaluar los factores de riesgo de contaminación, se realizó una encuesta a través de la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud, a cada uno de los comercializadores de jugos de frutas frescas. El procesamiento, aislamiento e identificación de *L. monocytogenes* se realizó de acuerdo a la metodología descrita por el Bacteriological Analytical Manual de la Food and Drug Administration (FDA). Se encontró a *L. monocytogenes* en el 4,4% de las muestras analizadas de las cuales, el 1,4% en fresa, 1,0% en papaya, 0,6% en piña, manzana y naranja y el 0,2% en toronja. Con respecto a los factores de riesgo de transmisión de listeriosis se determinó que el 52% de los puestos de venta expenden jugos en mal estado de conservación; los manipuladores de jugos en un 89% no aplican las buenas prácticas de manipulación, el 79% no cumplen con las reglas higiénicas personales y el 82% de los puestos de venta de jugos presentan condiciones higiénicas sanitarias no aceptables. Se concluye que *L. monocytogenes* está presente en los jugos de frutas frescas que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo y que existen factores de riesgo que posibilitan que este tipo de alimentos actúen como vehículos de transmisión de la listeriosis humana.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, jugos de frutas frescas, listeriosis humana.

ABSTRACT

It was determined the presence of *Listeria monocytogenes* in juices of fresh fruits, as vehicles of transmission of human listeriosis in Trujillo city, Peru. It was evaluated 360 samples of juice of "strawberry", "pineapple", "pawpaw", "apple", "orange" and "grapefruit", by using the Peruvian Technical Standard ISO 2859-1:2009 NTP and to evaluate risk factors for contamination. A survey was conducted through the surveillance form the Ministry of Health, to each of the juice of fresh fruit marketers. Processing, isolation and identification of *L. monocytogenes* was performed according to the methodology described by the Bacteriological Analytical Manual for the Food and Drug Administration (FDA). It was found *L. monocytogenes* in 4,4% of the samples of which 1,4% in strawberry, 1,0% in pawpaw, 0,6% in pineapple, apple and orange and 0,2% in grapefruit. Regarding the risk factors for listeriosis was determined that 52% of the juice stands expended in poor condition, 89% of juice handlers do not apply the good handling practices, 79% of them do not carry out rules of personal hygiene and 82% of the juice stands have unacceptable health hygiene practices. It was concluded that *L. monocytogenes* is present in juices of fresh fruit that are sold in the markets of Trujillo and there a risk that these foods act as vehicles of transmission of human listeriosis.

Key words: *Listeria monocytogenes*, juices of fresh fruit, human listeriosis.

I. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son parte fundamental para la existencia y subsistencia del hombre en el planeta tierra. Proveen diferentes sustancias esenciales, que contribuyen a la salud y el funcionamiento adecuado del organismo. Sin embargo, también actúan como vehículos potenciales de transmisión de agentes patógenos y sustancias tóxicas, causantes de diversas enfermedades que ponen en riesgo la salud y la vida de miles de personas en todo el mundo (Rodas, 2009:1).

Se estima que cada año, un tercio de la población de los países desarrollados y al menos dos mil millones de personas en todo el mundo, se enferman por la ingesta de alimentos contaminados, en donde las enfermedades diarreicas transmitidas por el agua y los alimentos son las principales causas de morbilidad y mortalidad, enfermado hasta 2.2 millones de personas, en su mayoría niños. Algunos de los agentes más comúnmente relacionados a este tipo de enfermedades son *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) y parásitos de los géneros *Cryptosporidium*, *Cryptospora*, y tremátodos. Asimismo, destacan agentes causantes de numerosos brotes, como: *Cyclosporidium sp*, *Cyclospora sp* y *Listeria monocytogenes*, los cuales han sido considerados como los patógenos emergentes, descritos en las recientes décadas (Rodas, 2009:1).

En el Perú, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) afectan principalmente a los sectores más pobres de la población, originándose aproximadamente el 90% de las mismas, por el consumo de comidas en restaurantes, escuelas, kioscos, cafetines, venta callejera e incluso en el propio hogar. Siendo la causa más frecuente de los brotes de tales enfermedades la deficiente manipulación y la mala aplicación de procedimientos higiénicos a la hora de la recepción, almacenamiento y preparación de los alimentos (Prompyme, 2007: 4).

Los jugos de frutas frescas son alimentos que albergan diversos tipos de microorganismos. Algunos de ellos tienen un papel benéfico en la industria alimentaria, tales como en la producción de alimentos fermentados, mientras que otros microorganismos, especialmente las bacterias, causan el deterioro de los alimentos y las enfermedades humanas. Las bacterias patógenas más comúnmente relacionadas a este tipo de enfermedades son *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* y *Campylobacter jejuni*, las mismas que han sido implicadas en brotes de ETAs en todo el mundo y además son consideradas como bacterias patógenas emergentes transmisibles por los alimentos. Estas bacterias se han asociado con el consumo de jugos de frutas frescas, leche y productos lácteos, que son los productos alimenticios, de mayor demanda por los consumidores en ventas al por menor (Mosqueda et al., 2008: 747).

L. monocytogenes, bacilo corto grampositivo, cuyas células miden de 0,4 - 0,5 μm por 1,0 - 2,0 μm , anaerobio facultativo, crece en un amplio rango de temperaturas de -0,4 - 50 °C; con una temperatura óptima de 30 - 37 °C; en medios líquidos es móvil a 25 °C por sus flagelos peritricos, pero inmóvil a 37° C (Barancelli, 2010: 16). Se lo considera un patógeno psicrótrofo, es decir, capaz de desarrollar a temperaturas de refrigeración, lo que lo diferencia de otras bacterias patógenas como *Salmonella* o *Staphylococcus aureus*, cuyo crecimiento es inhibido a bajas temperaturas (Schöbitz et al., 2009: 2); ácido tolerante, tolerante a sales, catalasa positivo y oxidasa negativo, no posee cápsula, no forma espora y en placas de agar sangre de carnero al 5% produce β -hemólisis a las 24 - 48 horas de incubación a 35 - 37 °C; no produce indol ni sulfuro de hidrogeno (H_2S) y no reduce los nitratos a nitritos (Maklon et al., 2010: 136; Odjadjare, 2010: 4; Rodas, 2009: 2; Sánchez et al., 2010: 39).

L. monocytogenes está ampliamente distribuida en el ambiente, logrando sobrevivir y crecer en condiciones extremas de temperatura, pH y oxígeno; pero es poco competitiva dentro de diferentes poblaciones de bacterias. Este microorganismo patógeno es capaz de crecer en varios productos alimenticios como la leche y sus derivados, jugos de frutas y vegetales, entre otros; lo que confirma la importancia de la inactivación de este microorganismo durante el procesamiento de un alimento (Mosqueda et al., 2008: 750; Patil, 2010:45).

Hasta hace poco, los brotes de listeriosis en los Estados Unidos de América (Swaminathan, 2001: 383) y en Europa (Luden et al., 2004: E6), se han asociado ampliamente con los productos lácteos elaborados a partir de leche cruda, provocando una gran preocupación en la industria láctea. Sin embargo también existen brotes de listeriosis asociados al consumo de jugos de frutas, los que muy poco han sido reportados. No obstante (Sado et al. 1998: 1199) lograron aislar *L. monocytogenes* de dos muestras de jugos de "manzana" no pasteurizados expendidos al por menor al público, en los Estados Unidos de América. Otros estudios recientes también han demostrado que *L. monocytogenes* puede crecer a temperaturas de 10 °C, 20 °C y 30 °C, en "melón", "sandía", "papaya" y pulpas de "caqui", frutas con las que se preparan los jugos (Tribst et al., 2009: 319)

Desde hace 25 años aproximadamente, *L. monocytogenes* se ha convertido en uno de los principales agentes patógenos transmitidos por los alimentos (Jemmi y Stephan, 2006: 571), causando la enfermedad denominada listeriosis, la cual es una enfermedad transmitida por los alimentos, de carácter grave y que se presenta con un cuadro invasivo con infección sistémica, septicemia y encefalitis (Rossi et al., 2008: 328). A pesar de presentarse con una baja frecuencia, en la actualidad es una de las ETAs más letales conocidas, causando gran alarma a nivel mundial a productores de alimentos, consumidores y autoridades sanitarias (Schöbitz et al., 2009: 2). *L. monocytogenes* elabora una toxina citolítica y hemolítica, llamada listeriolisina O, que se secreta a pH bajo y baja concentración de hierro, la cual es un importante factor de virulencia (Ramírez et al., 2009: 318).

En la mayoría de los países de la Unión Europea, la incidencia anual de la listeriosis en seres humanos oscila entre dos y diez casos notificados por millón. Debido a su elevada tasa de letalidad (30%), la listeriosis es una de las enfermedades de transmisión alimentaria que causa mayor número de muertes, principalmente en grupos comprometidos, como ancianos, mujeres embarazadas, recién nacidos, pacientes inmunocomprometidos y pacientes VIH positivos que son la población de más alto riesgo (Barancelli, 2010: 12; Sánchez et al., 2010: 51). Asimismo, de los agentes patógenos transmitidos por alimentos conocidos, es el que ocasiona mayores porcentajes de hospitalización (91%). Esta bacteria ha sido asociada tanto a brotes esporádicos, como a grandes focos de listeriosis humana, en todas partes del mundo (Jemmi y Stephan, 2006: 571).

El diagnóstico oportuno y tratamiento temprano de la listeriosis con antibióticos como ampicilina y aminoglucósidos o cotrimoxazol son efectivos. Sin embargo, la sintomatología generalmente no permite un diagnóstico temprano, ya que los primeros signos de un brote son generalmente el aborto y/o la muerte del individuo. Por lo que la confirmación de una infección por *L. monocytogenes* es el aislamiento de la bacteria del líquido cefalorraquídeo o de la sangre del paciente (Noriega et al., 2008:346-347).

En el pasado, los jugos de frutas fueron considerados como alimentos seguros debido a su bajo pH causado por los ácidos orgánicos de origen natural, que en general puede prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos (Patil, 2010:8; Tribst et al., 2009: 311). Hoy en día este tipo de alimentos pueden ser vehículos de transmisión de diversas bacterias patógenas, entre ellas *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *E. coli* O157: H7, etc., las cuales pueden causar enfermedades graves a los humanos, ocasionando incluso la muerte si no son tratadas a tiempo (Ramos et al., 2010:45). Asimismo cambios ocurridos en la dieta de los consumidores han producido nuevos problemas de salud pública asociados a la presencia de bacterias patógenas (Balla y Farkas, 2006: 115;). Uno de esos cambios está orientado hacia el gran consumo de jugos de frutas frescas, debido a su alto valor nutritivo y cualidades sensoriales, así como a sus beneficios en la salud, ya que pueden suministrar muchos antioxidantes vitaminas y minerales necesarios, los cuales juegan un papel importante en la prevención de enfermedades cardíacas, cánceres y la diabetes, lo cual ha incrementado en los últimos años los brotes de las ETAs asociadas al consumo de jugos de frutas frescas (Mosqueda et al., 2011: 160). Por lo tanto, se requiere un procesamiento mínimo de estos productos frescos para reducir o eliminar las bacterias sin afectar significativamente sus atributos nutritivos, siendo esta la razón de que hoy en día el consumidor está exigiendo alimentos de alta calidad, frescos, pero inocuos (Mosqueda et al., 2008: 747). Sin embargo, estos productos "frescos", en el cual se omite algún paso efectivo de eliminación microbiana, da como resultado que los alimentos lleven a algunos microorganismos, incluyendo bacterias patógenas (FDA, 2011: 1; Harris et al., 2003:78).

En los Estados Unidos, sólo el 2% de todos los jugos de frutas frescas que se venden no están pasteurizados (Harris et al., 2003: 82), mientras que el 98% de los jugos se venden pasteurizados (Foley et al., 2002:1495). En los mercados de la ciudad de Trujillo, los jugos de frutas frescas se venden sin pasteurizar en un 100% y, convirtiéndose en fuentes potenciales de microorganismos patógenos para la salud; tales como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *E. coli* O157: H7 y *L. monocytogenes* (Bagde y Tumane, 2011:455). Por lo tanto, es importante realizar investigaciones para determinar la presencia de *L. monocytogenes* en los jugos de frutas frescas que actúan como vehículos de transmisión de la listeriosis humana y proponer a las autoridades sanitarias las medidas de control adecuadas, a fin de disminuir la presencia de esta bacteria en estos alimentos y por consiguiente disminuir la listeriosis humana.

Por las consideraciones anteriormente expuestas, la presente investigación tuvo como objetivo: Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en jugos de frutas frescas, que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo, Perú, durante los años 2010 y 2011", así como también, determinar los factores de contaminación asociados.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Objeto de estudio

El objeto de estudio estuvo conformado por muestras de jugos de frutas de "fresa" *Fragaria vesca*, "piña" *Ananas comosus*, "papaya" *Carica papaya*, "manzana" *Pirus malus*, "naranja" *Citrus sinensis* y "toronja" *Citrus grandis*, comercializados en los mercados: Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda de la ciudad de Trujillo, Perú.

La muestra estuvo representada por 360 jugos, obtenidos en forma proporcional (60 de cada jugo de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja"), en los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda.

El tamaño de la muestra se determinó aplicando la siguiente fórmula (Fuentelsaz, 2004: 7)

$$n = \frac{Z^2 (p \cdot q)}{T^2}$$

Dónde:

Z = 1,96 (para una seguridad de 95%),

p = 0,04 (presencia esperada, que se obtuvo del promedio de los resultados de investigaciones afines),

q = 1 - p; T = 0,05 (precisión deseada).

Al aplicar la fórmula se determinó que el número necesario de muestras, fue de 354; sin embargo al aplicar las proporcionalidades, se optó por trabajar con 360 muestras en total.

Variabes de estudio: Por ser un trabajo descriptivo, solo se identificó la variable independiente: Presencia de *Listeria monocytogenes* en jugos de frutas frescas (%).

2.2 Equipos y materiales

Se utilizó los equipos, materiales de laboratorio, medios de cultivo, suplementos, reactivos, indicadores y colorantes utilizados para el aislamiento e identificación de *L. monocytogenes*, los cuales están detallados en el Bacteriological Analytical Manual (Hitchins y Jinneman, 2011) de la Food and Drug Administration (FDA).

Instrumento de recolección de datos:

Se utilizó la Ficha de Vigilancia Sanitaria del Ministerio de Salud del Perú, aplicando una encuesta para evaluar las condiciones sanitarias de los puestos que expenden jugos de frutas frescas en mercados de abasto (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003: 246775).

2.3 Métodos y técnicas

Toma de muestra para cultivo:

Se obtuvo asépticamente 360 muestras de jugos de frutas de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja", en los puestos donde se expenden estos productos de los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda, de la ciudad de Trujillo, Perú, desde setiembre del 2010 hasta julio del 2011. El muestreo se realizó según la Norma Técnica Peruana NTP ISO 2859-1: 2009 (NTP, 2009). Cada unidad muestral estuvo constituida por 200 ml de jugo de frutas frescas, los que se colectaron en bolsas de polietileno estériles, rotulándolas adecuadamente con plumón de tinta indeleble. Luego se colocaron las muestras en cajas térmicas a temperatura de refrigeración; e inmediatamente se trasladaron las muestras al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

En cada muestreo se realizó una encuesta a los comercializadores de jugos de frutas frescas, a través de la Ficha de Vigilancia Sanitaria del Ministerio de Salud del Perú (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003: 246775), para determinar el comportamiento de los factores de riesgo de contaminación.

Aislamiento de *Listeria monocytogenes*:

El procesamiento de las muestras de jugos de frutas frescas se realizó siguiendo la técnica descrita en el Bacteriological Analytical Manual (Hitchins y Jinneman, 2011) de la Food and Drug Administration (FDA).

Pre enriquecimiento:

Se homogenizó cada muestra de los jugos de frutas frescas y se midió asépticamente 25 ml en una bolsa de Stomacher, que contenía 225 ml de Caldo de Enriquecimiento Base *Listeria* (LEB), luego se homogenizó en un agitador Stomacher, durante un minuto y se procedió a incubar a 30 °C durante cuatro horas (Hitchins y Jinneman, 2011).

Enriquecimiento:

A cada muestra pre-enriquecida en caldo LEB, se adicionó 0,9 ml de suplemento selectivo para caldo LEB, continuando con la incubación a 30 °C hasta completar 24 - 48 horas (Hitchins y Jinneman, 2011).

Aislamiento:

A partir del caldo LEB enriquecido e incubado por 24 - 48 horas, se sembró un inóculo en placas con agar Oxford y agar Palcam, mediante la técnica de estría en cuatro cuadrantes y se incubó a 35 °C por 24 - 48 horas, procediendo luego a realizar la lectura: En agar Oxford, la presencia de colonias pequeñas, redondas, color gris azulado rodeadas de un halo negro y con una depresión central, se las consideró compatibles con el género *Listeria*. En agar Palcam, la presencia de colonias pequeñas, redondas, color verde grisáceo rodeadas de un halo marrón-negro, se las consideró compatibles con el género *Listeria*. Las colonias aisladas compatibles con el género *Listeria* se repicaron en agar tripticasa soya - extracto de levadura 0,6% (TSAYE) y en caldo tripticasa soya - extracto de levadura 0,6% (TSBYE), obteniendo cultivos puros a los cuales se les realizó la identificación de *L. monocytogenes* (Hitchins y Jinneman, 2011).

Identificación de *Listeria monocytogenes*:

A las cepas aisladas, se les realizó las pruebas de identificación para *L. monocytogenes*, las que reaccionan de la siguiente forma: coloración Gram (bacilos Gram +), catalasa (+), hidrólisis de la esculina (+), RM/VP (+/+), oxidasa (-), ureasa (-), reducción de nitratos (-), movilidad a 25 °C (+), hemólisis (β), CAMP (+), fermentación de xilosa (-) y fermentación de ramnosa (+) (Di Pinto, 2010: 250).

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos fueron analizados con estadística descriptiva, mediante la prueba de Chi-Cuadrado de Pearson, con un nivel de significancia de $p < 0,05$; utilizando el programa Predictive Analytical Software Statistics (PASW Statistics) versión 18.0 para Windows.

III. RESULTADOS

Se analizaron 360 muestras de jugos de frutas frescas de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja", que se expenden en los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda de Trujillo, aislándose *Listeria monocytogenes* en un 4,4% (Tabla 1).

El centro de abastos donde se presentó con mayor porcentaje *L. monocytogenes* en jugos de frutas frescas, fue el mercado La Hermelinda con un 6,7%, seguido del mercado Palermo 4,4% y La Unión 4,4%, siendo el mercado Central con menor porcentaje 2,2%.

Por tipo de jugo, *L. monocytogenes* estuvo presente en 1,4% en los de fresa; 0,6% en los de piña, manzana y naranja; 1,0% en los de papaya; y 0,2% en los de toronja (Tabla 2).

Con respecto a los factores que contribuyen a la contaminación microbiológica de los jugos, de frutas frescas, los cuales fueron estudiados de acuerdo a la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud del Perú (Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM, 2003: 246775), se obtuvo que el 52% de los puestos de los mercados de la ciudad de Trujillo, expendían jugos de frutas frescas, en mal estado (Fig. 1).

En la Fig. 2, se aprecia que el 89% de los manipuladores de jugos de frutas frescas, no aplican las buenas prácticas de manipulación, como son almacenar las frutas a una altura mínima de 0,20 m del piso, proteger los jugos preparados, no probar los jugos con los utensilios de preparación, usar agua segura (potable), lavar y desinfectar adecuadamente los equipos, utensilios, superficies y secadores, etc.

De manera similar el 79% de los vendedores de frutas no cumplen con las reglas higiénicas personales (Fig. 3), es decir presentan las manos sucias, con joyas, uñas largas, sucias y con esmalte; cabello sin recoger; con maquillaje facial; sin uniforme, y los que tienen uniforme, está sucio y es de color oscuro. Otros factores que contribuyen a la contaminación microbiológica de los jugos de las frutas frescas, son las condiciones higiénicas sanitarias de los puestos donde se expenden estos productos, ya que el 82% de estos, son no aceptables (Fig. 4); lo que involucra que los puestos estén ubicados en una zona del mercado donde existe contaminación cruzada, los puestos se encuentren sucios y desordenados, los residuos sólidos se dispongan de manera inadecuada, exista la presencia de vectores, roedores u otros animales o signos de su presencia.

Tabla 1. Presencia de *Listeria monocytogenes* en 360 muestras de jugos de frutas frescas, comercializados en los mercados Central, Palermo, La Unión, y La Hermelinda de la ciudad de Trujillo, Perú. 2010 - 2011

Mercado		<i>Listeria monocytogenes</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Central	N°	88	2	90
	%	97,8	2,2	100,0
La Hermelinda	N°	84	6	90
	%	93,3	6,7	100,0
La Unión	N°	86	4	90
	%	95,6	4,4	100,0
Palermo	N°	86	4	90
	%	95,6%	4,4%	100,0%
Total	N°	344	16	360
	%	95,6%	4,4%	100,0%

Tabla 2. Presencia de *Listeria monocytogenes* de acuerdo al tipo de jugo de frutas de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja", comercializados, en los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda de la ciudad de Trujillo, Perú. 2010 - 2011

Jugo de fruta		<i>Listeria monocytogenes</i>	
		Positivo	Total de Jugos
Fresa	N°	5	60
	%	1,4%	100,0%
Piña	N°	2	60
	%	0,6%	100,0%
Papaya	N°	4	60
	%	1,0%	100,0%
Manzana	N°	2	60
	%	0,6%	100,0%
Naranja	N°	2	60
	%	0,6%	100,0%
Toronja	N°	1	60
	%	0,2%	100,0%
Total	N°	16	360
	%	4,4%	100,0%

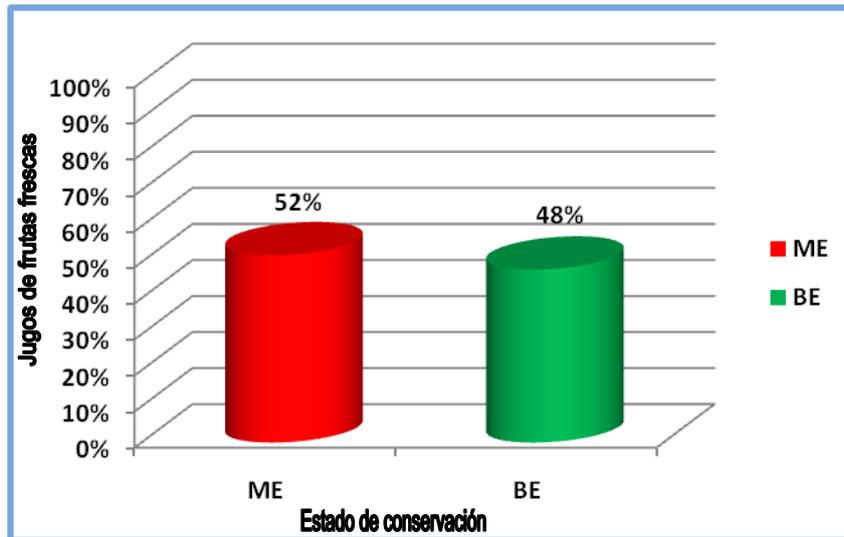


Fig. 1. Estado de conservación de los jugos de frutas frescas en los mercados de la ciudad de Trujillo. BE: buen estado; ME: mal estado.

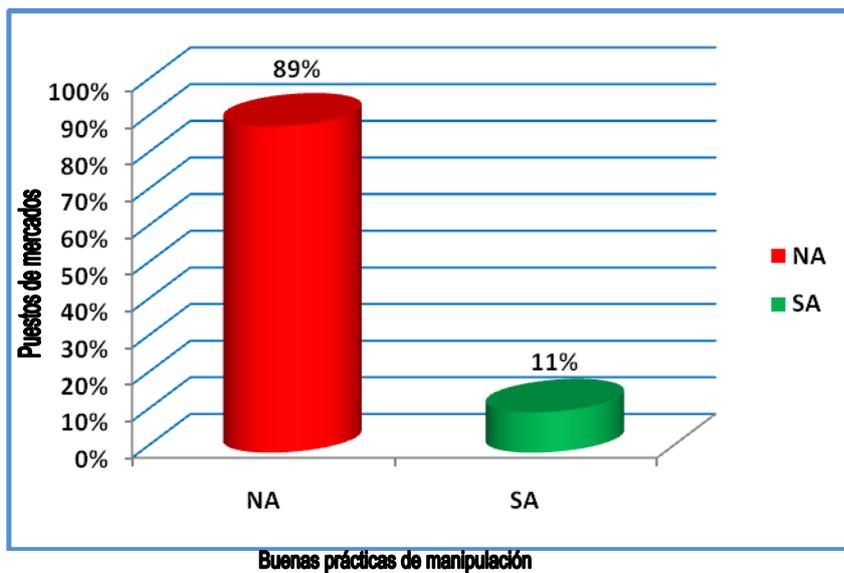


Fig. 2. Aplicación de las buenas prácticas de manipulación en los puestos de mercados de la ciudad de Trujillo donde se expenden jugos de frutas frescas. NA: no aplica; SA: si aplica.

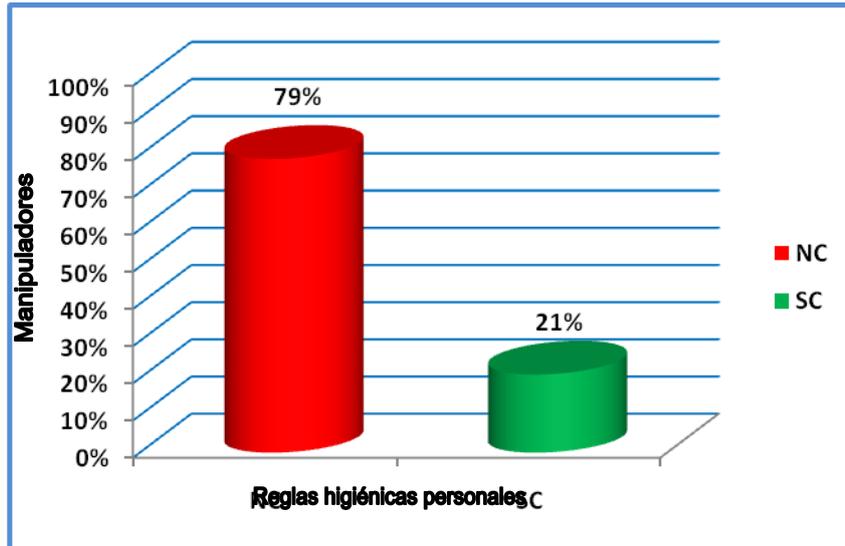


Fig. 3. Manipuladores que cumplen con las reglas higiénicas personales en los puestos de mercados de la ciudad de Trujillo, donde se expenden jugos de frutas frescas. NC: no cumple; SC: si cumple.

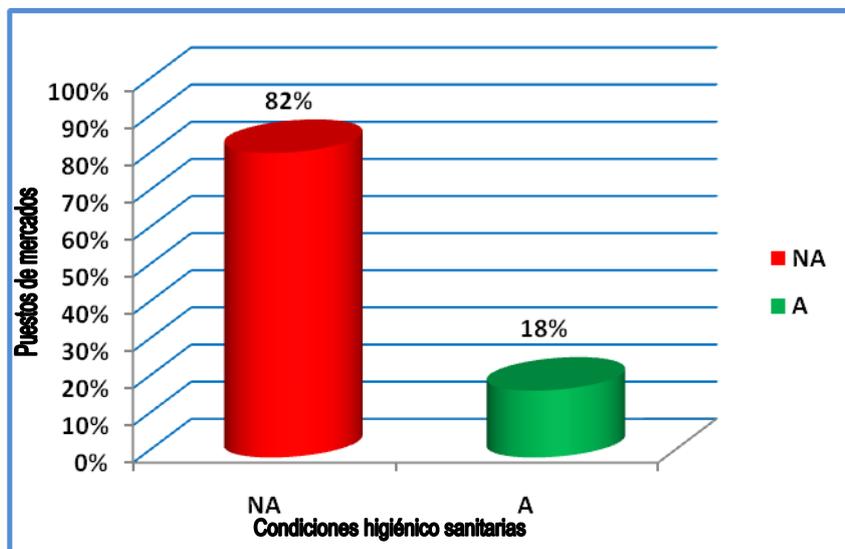


Fig. 4. Condiciones higiénicas sanitarias de los puestos de mercados de la ciudad de Trujillo, donde se expenden jugos de frutas frescas. NA: no aceptable; A: aceptable.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación se asemejan a los reportados por Harris et al. (2003: 120), en un estudio microbiológico que se llevó a cabo en los EE.UU. de Norte América, durante el otoño de 1996, donde encontraron una presencia de 4% para *L. monocytogenes* en jugos frescos de "manzana" y una mezcla de "manzana" y "frambuesa" con un pH de 3,78 y 3,75 respectivamente. De forma similar los resultados del presente estudio son

cercanos a los reportados por Piotrowski Ch. (2003: 9), quien reporta que *L. monocytogenes* está presente hasta en un 5% en los alimentos listos para el consumo. La presencia de este porcentaje significa que el público en general ingiere *L. monocytogenes* en una infinidad de productos alimenticios cada año.

Abadías et al. (2008: 121), en un estudio realizado con frutas frescas mínimamente procesadas, que se llevó a cabo en varios establecimientos de comercio minorista en 4 supermercados de Lleida (Cataluña, España) durante los años 2005-2006, reportaron que de las 300 muestras analizadas, solo dos (0,7%) fueron positivas a *L. monocytogenes*, demostrado una baja incidencia o ausencia de este microorganismo en las frutas, las que son el principal insumo para los jugos de frutas. Por otro lado, Raybaudi et al. (2009: 158), reportaron la ausencia de *L. monocytogenes* en ensaladas de frutas mínimamente procesadas, incluyendo "papaya", "manzana", "sandía", "uva", "guayaba" y "piña". En ambos casos los resultados difieren significativamente con los encontrados en el presente estudio.

La presencia de *L. monocytogenes* en los cuatro mercados investigados refleja pues las bajas condiciones higiénicas sanitarias que presentan estos centros de abasto en la ciudad de Trujillo, lo que amerita la intervención inmediata de las autoridades de salud, a fin de corregir las deficiencias que conllevan a la contaminación de estos alimentos; teniendo en cuenta que los porcentajes de aislamiento de *L. monocytogenes* encontrados en los cuatro mercados investigados, no presentaron diferencia estadísticamente significativa, según la Prueba de Chi-Cuadrado de Pearson = 2,093; $gl=3$; $p = 0,553 > 0,05$; por lo que la probabilidad de que *L. monocytogenes* esté distribuida en los mercados de la ciudad de Trujillo, es la misma.

Lo que indica que *L. monocytogenes* puede estar presente en cualquiera de estos productos listos para consumir, aún cuando algunos de ellos presentan un pH bajo, tal como lo indica Caggia et al. (2009: 59), quien afirma que esta bacteria puede crecer en jugos de naranja con un pH ácido de 2,6. De igual manera Foley et al. (2002: 1497), en un estudio realizado en los Estados Unidos de Norte América, sobre pasteurización de jugos frescos de "naranja", indican que *L. monocytogenes* puede sobrevivir en jugo de "naranja" refrigerado en los niveles de pH de 3,6 hasta por 25 días.

La confirmación de la presencia de *L. monocytogenes* en los jugos de "fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja", en los cuatro mercados de la ciudad de Trujillo, significa que está puede estar presente, en porcentaje altamente probable, en los jugos de otras frutas; representando un riesgo potencial para la salud pública. La presencia de *L. monocytogenes* en los seis tipos de jugos de frutas, no presentó diferencia estadísticamente significativa, según la Prueba de Chi-Cuadrado de Pearson = 4,448; $gl=5$; $p = 0,487 > 0,05$; por lo que la probabilidad de que *L. monocytogenes* esté distribuida en los jugos de frutas frescas, es la misma.

Las fuentes potenciales de contaminación con microorganismos patógenos o que alteran los jugos de frutas frescas, incluyen las frutas, el agua y el azúcar. Así como la manipulación inapropiada y el entorno de la preparación. Se debe también tener en cuenta que las frutas son almacenadas, peladas, cortadas y lavadas en forma inadecuada y sin las medidas higiénicas sanitarias necesarias o se utiliza equipos y utensilios sucios y además el mantenimiento del producto a temperatura ambiente y de refrigeración, juega un papel muy importante, en la supervivencia y proliferación de *L. monocytogenes* (Raybaudi et al., 2009:158; Tribst et al., 2009:322).

La baja presencia encontrada de este microorganismo patógeno, no deja de ser un riesgo para la salud, dado que la existencia de una sola bacteria en condiciones favorables, permite su reproducción. Por lo tanto, en los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda, existe un riesgo potencial para la salud de la población consumidora ya que puede contraer listeriosis por el consumo de jugos de frutas frescas. Así mismo debemos señalar que a pesar que los jugos de frutas frescas, son alimentos tan importantes en nuestra dieta y en la salud, también son vehículos de transmisión de la listeriosis humana.

Los propietarios indicaron que la mayoría de frutas provienen de lugares aledaños a la ciudad de Trujillo, así como de los Departamentos de Amazonas, Cajamarca, Piura, San Martín y Tumbes.

Algunas de estas frutas son regadas con aguas residuales o de ríos contaminados y son transportadas en grandes camiones al mercado La Hermelinda, de donde se distribuyen al resto de mercados, en taxis, camionetas, triciclos y carretillas, a los puestos de jugos de los mercados en donde se almacenan (Eni et al., 2010: 291; Ofor et al., 2009: 80), para luego prepararse y comercializarse como jugos de frutas frescas, sin pasar control sanitario municipal; por lo que estos jugos que se venden en la ciudad de Trujillo, tienen alto grado de contaminación microbiológica, poniendo en riesgo la salud del consumidor.

Las medidas de control positivas que se adopten frente a estos factores de riesgo de contaminación de los jugos de frutas frescas, conducirán a la reducción de la presencia de *L. monocytogenes* en estos alimentos; pues la inmensa mayoría de los casos de listeriosis está asociada al consumo de alimentos que no cumplen las normas vigentes relativas a la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos; y en nuestro medio, el control sanitario que está a cargo de las Municipalidades, es deficiente lo que contribuye al incremento de las ETAs.

Por lo tanto es necesario continuar realizando investigaciones microbiológicas periódicas, tanto en los jugos estudiados, así como en otros, dada la demanda cada vez mayor de estos productos; para asegurar la calidad sanitaria e inocuidad de los mismos y evitar el peligro potencial para el consumidor y un posible problema de salud pública por este tipo de contaminación microbiológica.

V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye que:

- *Listeria monocytogenes* está presente en un bajo porcentaje: 4,4% en los jugos de frutas frescas ("fresa", "piña", "papaya", "manzana", "naranja" y "toronja") que se comercializan en los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda de la ciudad de Trujillo, representando un riesgo potencial para la salud de la población consumidora.
- *Listeria monocytogenes* se encuentra en porcentaje de 1.4% en los jugos de fresa, comercializados en los mercados Palermo, La Unión y La Hermelinda de la ciudad de Trujillo.
- En el mercado La Hermelinda de la ciudad de Trujillo se encontró una mayor contaminación con *Listeria monocytogenes* (6,7%) en los jugos de frutas frescas.
- Existen factores de riesgo que posibilitan que este tipo de alimentos actúen como vehículos de transmisión de la listeriosis humana.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a los propietarios de los puestos que expenden jugos de frutas frescas de los mercados Central, Palermo, La Unión y La Hermelinda, de la ciudad de Trujillo, por su valiosa colaboración y facilidades brindadas en la obtención de datos para el desarrollo de la presente investigación, así como a todas las personas que estuvieron vinculadas de alguna manera con la ejecución del presente estudio. A todos, nuestro mayor agradecimiento, reconocimiento y gratitud.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIAS M, USALL J, ANGUERA M, SOLSONA C, VIÑAS I. 2008. **Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments.** International Journal of Food Microbiology, 123: 121-129.

BAGDE N, AND TUMANE P. 2011. **Studies on microbial flora of fruit juices and cold drinks.** Asiatic Journal of Biotechnology Resources, Vol. 2(04): 454-460.

- BALLA C, & FARKAS J. 2006. **Minimally processed fruits and fruit products and their microbiological safety.** In Y.H. Hui, **Handbook of fruits and fruit processing.** Iowa: Blackwell Publishing: 115-128.
- BARANCELLI G. 2010. **Ocorrência e caracterização sorológica e genotípica de *Listeria monocytogenes* em indústrias de queijo do Estado de São Paulo.** [Tese Doutorado] Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- CAGGIA C, SCIFO G, RESTUCCIA C, RANDAZZO C. 2009. **Growth of acid-adapted *Listeria monocytogenes* in orange juice and in minimally processed orange slices.** Food Control, Vol. 20(1): 59-66.
- DI PINTO A, NOVELLO L, MONTEMURRO F, BONERBA E, TANTILLO G. 2010 **Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy.** New Microbiologica, Vol. 33(3):249-252.
- ENI A, OLUWAWEMITAN I, SOLOMON O. 2010. **Microbial quality of fruits and vegetables sold in Sango Ota, Nigeria.** African Journal of Food Science, Vol. 4(5): 291- 296.
- FOLEY D, PICKETT K, VARON J, LEE J, MIN D, CAPORASO R, ET AL.2006. **Pasteurization of Fresh Orange Juice Using Gamma Irradiation: Microbiological, Flavor, and Sensory Analyses.** Journal of Food Science, Vol. 67(4): 1495-1501.
- FOOD & DRUG ADMINISTRATION (FDA). 2011. **Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. In Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce.** Chapter IV. <http://www.cfsan.fda.gov>. Accessed February 17, 2012.
- FUENTELES AZ C. 2004. **Cálculo del tamaño de la muestra.** Matronas Profesión, Vol. 5(18): 5-13.
- HARRIS L, FARBER N, BEUCHAT R, PARISH M, SUSLOW T, GARRETT E, ET AL. 2003. **Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,** Vol. 2 (supplement 1) Chapter III.: 78–141.
- HITCHINS A., JINNEMAN K. 2001. **Bacteriological Analytical Manual. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods.** 8th ed. A review, 1998. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/cm071400.htm>. Accessed February 10, 2012.
- JEMMI T, STEPHAN R. 2006. ***Listeria monocytogenes*: Food-borne pathogen and hygiene indicator.** Revue scientifique et technique International Office of Epizootics, Vol. 25(2):571–580.
- LUNDEN J, TOLVANEN R, KORKEALA H. 2004. **Listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe.** J. Dairy Sci., Vol. 87(E. Suppl.): E6-E11.
- MAKLON K, MINAMI A, KUSUMOTO A, TAKESHI K, BICH N, MAKINO S. 2010. **Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from commercial asazuke (Japanese light pickles).** International Journal of Food Microbiology, Vol. 139 (3): 134–139.
- MOSQUEDA J, ELEZ P, RAYBAUDI R, MARTIN O. 2008. **Effects of pulsed electric fields on pathogenic microorganisms of major concern in fluid foods.** A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Vol. 28(8): 747-759.
- MOSQUEDA J, RAYBAUDI R, MARTIN O. 2011. **Microbiological shelf-life extension in fruit juices by combining high intensity pulsed electric fields and natural antimicrobials.** Journal of Food Processing and Preservation, Vol. 25(3): 159-186.

- NORIEGA L, IBÁÑEZ S, GONZÁLEZ P, YAMAMOTO M, ASTUDILLO J, GONZÁLEZ M. 2008. **Listeria monocytogenes: Informe de aumento de casos en mujeres embarazadas y revisión de la literatura.** Rev. Chil. Infect., Vol., 25 (5): 342-349.
- NORMA TÉCNICA PERUANA NTP-ISO 2859-1: 2009. **Procedimiento de Muestreo para inspección por atributos.** Diario Oficial. El Peruano, 29 de octubre de 2009.
- ODJADJARE E. 2010. **Prevalence of Listeria pathogens in effluents of some wastewater treatment facilities in the Eastern Cape Province of South Africa.** [Doctoral Thesis]. In the Faculty of Science and Agriculture at the University of Fort Hare.
- OFOR M, OKORIE V, IBEAWUCHI I, IHEJIRIKA G, OBILO O, DIALOKE S. 2009. **Microbial Contaminants in Fresh Tomato Wash Water and Food Safety Considerations in South-Eastern Nigeria.** Life Science Journal, Vol. 6(3): 80-82.
- PATIL S. 2010. **Efficacy of Ozone and Ultrasound for Microbial Reduction in Fruit Juice.** [Doctoral Thesis]. Dublin Institute of Technology.
- PIOTROWSKI CH, 2003. **Survival of Listeria monocytogenes in Fruit Juices During Refrigeration and Temperature-Abusive Storage.** [Master of Science Thesis]. Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg, Virginia.
- PROMPYME. 2007. **Manual de Buenas Prácticas de Manipulación.** Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo, Lima.
- RAMÍREZ L, MORÓN A, ALFIERI A, GAMBOA O. 2009. **Frecuencia de Listeria monocytogenes en muestras de tomates (Lycopersicum esculentum) y cilantro (Coriandrum sativum) frescos en tres supermercados de Valencia, Venezuela.** ALAN, Vol. 59(3): 318-324.
- RAMOS M, BAUTISTA S, BARRERA L, BOSQUEZ E, ALIA I, ESTRADA M. 2010. **Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas.** Rev. Mex. Fitopatol [revista en la Internet]. [Citado 2012 Feb. 03]; 28(1):44-57. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092010000100005&lng=es.
- RAYBAUDI R, MOSQUEDA J, SOLIVA R, MARTÍN O. 2009. **Control of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Fresh-cut Fruits and Fruit Juices by Traditional and Alternative Natural Antimicrobials.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Vol. 8 (3): 157-180.
- RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 282-2003-SA/DM. 2003. **Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto.** Diario Oficial El Peruano, Año XXI. N° 8405: 246762-246779.
- RODAS O. 2009. **Caracterización Bioquímica y Molecular de Listeria monocytogene.** [Tesis Doctoral]. México DF: Universidad Autónoma Metropolitana.
- ROSSI L, PAIVA A, TORNESE M, CHIANELLI S, TRONCOSO A. 2008. **Brotos de infección por Listeria monocytogenes: Una revisión de las vías que llevan a su aparición.** Revista Chilena de Infectología, Vol. 25(5):328-335.
- SADO P, JINNEMAN K, HUSBY G, SORG S, OMIECINSKI, C. 1998. **Identification of Listeria monocytogenes from unpasteurized apple juice using rapid test kits.** Journal of Food Protection, Vol. 61 (9): 1199-1202.
- SÁNCHEZ J, SERRANO S, MARFIL R. 2010. **Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino: fundamentos de seguridad alimentaria.** España: Ediciones Díaz de Santos.
- SCHÖBITZ R, CIAMPI L. NAHUELQUIN Y. 2009. **Listeria monocytogenes un peligro latente para la industria alimentaria.** AGRO SUR, Vol. 37(1): 1-8.

SWAMINATHAN B. 2001. ***Listeria monocytogenes***. In Doyle M, Beuchat L, Montville T. 2a ed. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington, DC. ASM Press: 383-410.

TRIBST A, SANTANA A, DE MASSAGUER P. 2009. **Review: Microbiological quality and safety of fruit juices--past, present and future perspectives**. Critical Reviews in Microbiology, Vol. 35(4):310-339.