

## **Listeria monocytogenes en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú**

**María A. Díaz Pinillos<sup>1</sup>; Milciades Chávez Castillo<sup>2</sup>; Elmo A. Saucedá Amaya<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Gerencia Regional de Salud La Libertad, marujavet@hotmail.com;

<sup>2</sup>m\_chavez\_castillo@hotmail.com;

<sup>3</sup>Municipalidad Distrital de La Esperanza, elmo1430@hotmail.com

Recibido: 23-10-12

Aceptado: 20-12-12

### **RESUMEN**

Se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes* en leche fresca y queso fresco, comercializados en la provincia de Trujillo, Perú con la finalidad de evidenciar su calidad sanitaria, así como el comportamiento de los factores de riesgo de contaminación asociados. Se evaluaron 60 muestras de leche fresca y 60 muestras de queso fresco, recolectadas de los diversos lugares de expendio de estos alimentos, según la Norma Técnica Peruana NTP ISO 2859-1:2009. Asimismo, se realizó una encuesta a través de una ficha de vigilancia sanitaria, a cada uno de los comercializadores donde se llevó a cabo la toma de muestra. 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). No se encontró *L. monocytogenes* en leche fresca. Sin embargo, en queso fresco su presencia fue de 3,34 %. En cuanto al cuidado que se debe tener con los factores de riesgo de contaminación en leche fresca y queso fresco, se determinó que estos son altamente inadecuados. Se concluye que *L. monocytogenes* no estuvo presente en leche fresca que se expende en la provincia de Trujillo, pero si estuvo presente en bajo porcentaje en queso fresco que se expende en la provincia de Trujillo y que existen factores de riesgo de contaminación que posibilitan que este tipo de alimentos actúen como vehículos de transmisión de la listeriosis humana.

**Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, leche fresca, queso fresco, contaminación de alimentos.

### **ABSTRACT**

It was determined the presence of *Listeria monocytogenes* in fresh milk and fresh cheese marketed in the province of Trujillo, Peru to demonstrate its health quality and behavior risk factors associated pollution. 60 samples of fresh milk and 60 samples of fresh cheese were evaluated, collected from the different points of sale of these foods, according to Peruvian Technical Standard NTP ISO 2859-1:2009. Also it was surveyed each marketer where the sampling was conducted through a health tab. The processing, isolation and identification of *L. monocytogenes* was performed according to the methodology described by the Bacteriological Analytical Manual of the Food and Drug Administration (FDA). It wasn't found *L. monocytogenes* in fresh milk; however its presence in fresh cheese was 3,34%. Care should be taken about the factors of contamination of fresh milk and in cheese, considering that these are highly inadequate. It was concluded that *L. monocytogenes* was not present in fresh milk that is sold in the province of Trujillo, but it was present in low percentage in fresh cheese that is sold in the province of Trujillo and the re are risk factors of pollution that enable this type of food to act as means of transmission of human listeriosis.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, fresh milk, fresh cheese, food contamination.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) son uno de los principales problemas de salud internacional y causa importante de reducción en el crecimiento económico; sin embargo, en la mayoría de los casos se desconoce el origen de estas enfermedades (Alcazar et al., 2006: 418). En el Perú, así como en otros países en desarrollo, a la par con la economía formal del estado, existe una economía informal, entre cuyas actividades se encuentra la producción, comercialización y expendio de alimentos en forma incorrecta, lo que eleva el riesgo sanitario, ya que las condiciones en que se procesan y expenden los alimentos no son las apropiadas, predisponiendo a la contaminación cruzada por riesgo microbiológico.

En los últimos años, la incidencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos ha aumentado considerablemente. Sin embargo, esta incidencia no siempre es reportada a las autoridades de salud estimándose que sólo son declarados y llegan a figurar en las estadísticas oficiales del 1 al 10 % de los casos reales (Corpas y Salazar, 2007: 2; Mossel y Moreno, 2003: 8).

Cuando existe riesgo sanitario en la industria alimentaria todos los alimentos pueden actuar como vehículos de transmisión de enfermedades (Corpas y Salazar, 2007: 8). Estas enfermedades son producidas por diversos microorganismos, siendo los de mayor incidencia: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, entre otros, que están presentes en la gran variedad de alimentos de consumo diario (Mossel y Moreno, 2003: 5; Baquero et al., 2006: 81). Dentro de estos microorganismos, *L. monocytogenes* está emergiendo como importante patógeno transmitido por los alimentos. Las explicaciones de esta emergencia comprende cambios importantes en la producción, procesamiento y distribución de los alimentos, la utilización cada vez mayor de la refrigeración como medio de conservación primaria de los alimentos, los cambios en los hábitos de comida de la población, y en particular, la comodidad que brindan los alimentos ya preparados y un incremento del número de personas consideradas de alto riesgo de sufrir enfermedades: ancianos, gestantes, recién nacidos, inmunodeprimidos (Mossel y Moreno, 2003: 5; Baquero et al., 2006: 81; Organización Mundial de Salud Animal, 2004: 1223; Madigan et al., 2004: 953).

Todas las enfermedades de transmisión alimentaria representan un peligro para el bienestar individual, familiar y nacional y su control exige un esfuerzo concertado por parte del Gobierno Regional: Salud y Educación; Municipalidades; los consumidores y la industria alimentaria. Como parte de su extensa campaña educativa sobre el tema, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado The 10 golden rules for safe food preparation y una guía titulada Safe food for travellers (World Health Organization, 1997: 243).

La Dirección General de Salud Ambiental – DIGESA, en su Compendio de Normas para la Fabricación Segura de Alimentos es la institución responsable de la vigilancia y control de los alimentos y bebidas de consumo humano, tiene entre otras, como función primordial la formulación de Normas Sanitarias que regulan la fabricación y comercialización de toda clase de alimentos y bebidas a fin de asegurar su calidad sanitaria e inocuidad para consumo humano y prevenir cualquier tipo de riesgo a la salud de los consumidores (Dirección General de Salud Ambiental, 2007: 113; Dirección General de Salud Ambiental, 2007: 71).

Asimismo, la Gerencia Regional de Salud de la Libertad debe propiciar la capacitación al poblador rural para que adopte buenas prácticas higiénicas (BPH), así como la aplicación de las buenas prácticas ganaderas en sus animales (BPG) y en el cultivo de vegetales y hortalizas, la aplicación de las buenas prácticas agrícolas (BPA), en forma permanente mediante planes de trabajo concertados entre la Oficina de Promoción de la Salud, Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental a través del Área de Regulación de Servicios Veterinarios de la Dirección Regional de Salud La Libertad; Promoción Agraria y el Servicio de Sanidad Animal de la Dirección Regional de Agricultura; Dirección Regional de Educación y gobiernos locales (Tarride, 1998: 19-25).

El mejorar los estilos de vida, el cultivo de vegetales adecuados para su alimentación, la explotación adecuada de sus animales orientada al mejoramiento genético de su capital pecuario, aumento de la producción de leche, la fabricación de quesos aplicando las buenas prácticas de higiene (BPH), las buenas prácticas de manufactura (BPM), les permitirá a los productores

elaborar quesos en condiciones sanitarias adecuadas y asimismo aumentar sus ingresos económicos por la venta de quesos elaborados higiénicamente e inocuos para la salud del consumidor (Tarride, 1998: 19-25).

Se está considerando empezar Modelos de Políticas Públicas para sensibilizar a las autoridades regionales que incluyan un presupuesto en su Plan Participativo Regional, recursos económicos para efectuar la vigilancia epidemiológica activa, con el fin de evitar que se expendan alimentos contaminados con microorganismos patógenos como *L. monocytogenes*, mejorando los estilos de vida saludables y las buenas prácticas ganaderas en los poblados o comunidades que abastecen con productos lácteos a la provincia de Trujillo.

*Listeria monocytogenes*, bacilo grampositivo, pequeño de 0,4 - 0,5 x 0,5 - 2  $\mu\text{m}$ ; anaerobio facultativo; crece entre 0 - 50 °C, con una temperatura óptima entre 30 - 37 °C; móvil (peritrico) en medios líquidos a 20 - 25 °C, pero inmóvil a 37 °C; ácido tolerante; tolerante a sales; criotolerante; catalasa positivo; oxidasa negativo; no posee cápsula; no forma espora y en placas de agar sangre produce hemólisis (Murray et al., 2006: 241; Jawetz et al., 2005: 241; García-Rodríguez y Picazo, 2000: 199). Según el antígeno somático (O) y el flagelar (H) existen 11 serotipos de *L. monocytogenes*, de los cuales tres de ellos (1/2 a, 1/2 b y 4 b) son causantes del 90 % de las infecciones (Koneman et al., 2004: 644).

*L. monocytogenes* ha sido aislada de la tierra, el agua, la vegetación y el contenido intestinal de varios mamíferos, pájaros, peces, insectos y otros animales. El hombre y los mamíferos pueden ser portadores asintomáticos, aunque la incidencia de portadores humanos es desconocida, se estima que del 1 al 5 % de los individuos sanos son portadores fecales. Debido a que *L. monocytogenes* es ubicuo, es probable que la exposición y la colonización transitoria ocurran en la mayoría de individuos (Murray et al., 2006: 241; Koneman et al., 2004: 644).

*L. monocytogenes* produce una enfermedad infecciosa denominada listeriosis. Esta enfermedad es considerada como una importante zoonosis de etiología bacteriana, que en condiciones naturales afecta a los animales domésticos y silvestres; y esporádicamente puede llegar al hombre (Pineda y Mora, 2009; Restrepo, 2004: 242). *L. monocytogenes* ha sido considerada durante muchos años un patógeno de animales; sin embargo su papel significativo como patógeno humano transmitido por alimentos se ha hecho evidente a partir de 1980, cuando empiezan a aparecer en la literatura informes documentados de listeriosis humana, detectados por consumo de alimentos contaminados. Esta enfermedad cuando presenta infecciones sintomáticas, tiene una tasa de mortalidad entre el 20 y 30 %, siendo más alta que la de casi todas las otras enfermedades transmitidas por los alimentos. Varios estudios han puesto de manifiesto que existen unos 2500 casos de listeriosis cada año en Estados Unidos, con una incidencia de 7,4 casos por millón de habitantes (Murray et al., 2006: 241). En Europa la incidencia anual varía entre 0,1 - 11,3 casos por millón de habitantes (Koneman et al., 2004: 644). En Chile durante los cinco primeros meses del año 2009 se han reportado 27 casos de listeriosis, con una mortalidad del 26 % (Ministerio de Salud de Chile, 2009: 1). En el Perú, la Gerencia Regional de Salud La Libertad, ha reportado que en la Región La Libertad, durante los años 2001 al 2008 se han presentado 42 casos de listeriosis, correspondiendo 40 casos al sexo femenino y 02 casos al sexo masculino, predominando la meningitis y meningoencefalitis listeriana (Ministerio de Salud del Perú, 2009: 1).

La listeriosis humana es una enfermedad esporádica que se presenta durante todo el año, aunque su pico de incidencia ocurre en los meses más cálidos. Las epidemias focales y los casos esporádicos de listeriosis humana se han asociado con el consumo de leche contaminada, quesos poco curados, carne poco cocida y vegetales crudos mal lavados (García-Rodríguez y Picazo, 2000: 199; Koneman et al., 2004: 644)

La Organización Mundial de la Salud en una reciente revisión de datos referente a la listeriosis humana, considera que la infección alimentaria se transmite predominantemente de forma mono-zoótica. Porque, aunque el suelo sea la fuente, la transmisión al hombre se produce a través de animales y superficies de alimentos. De este modo, *L. monocytogenes* es considerada actualmente como una bacteria medioambiental cuya transmisión al hombre se produce

principalmente mediante el consumo de alimentos de origen animal que se han contaminado durante alguna etapa de la cadena productiva (Rossi et al., 2008:329).

*L. monocytogenes* es una bacteria intracelular y produce infecciones invasivas y no invasivas. Los cuadros clínicos que produce la listeriosis pueden ser: infecciones durante el embarazo, meningoencefalitis, granulomatosis infantiséptica, septicemia, bacteriemia asintomática, infecciones cutáneas, endoftalmitis, endocarditis, linfadenitis, artritis, osteomielitis, abscesos cerebrales, peritonitis, colicistitis, entre otros cuadros clínicos (Koneman et al., 2004: 644; Restrepo, 2004: 242; Álamo, 2006: 39). Estos cuadros clínicos de listeriosis humana están relacionados con la virulencia del microorganismo y el estado de las defensas del huésped. Por ello, los principales factores predisponentes son los estados de inmunosupresión. En la mayoría de los casos, la puerta de entrada no es evidente; y puede ser por contacto con piel y mucosas (tras colonización vaginal en algunas infecciones neonatales), transplacentaria o, en la mayoría de los casos por el tubo digestivo (García-Rodríguez y Picazo, 2000: 199; Koneman et al., 2004: 644; Oteo y Alós, 2007: 1).

Los datos obtenidos en los últimos años, con respecto a los orígenes de los brotes de listeriosis, indican que algunos alimentos son más peligrosos que otros, considerándose de alto riesgo a los alimentos listos para consumir y conservados por un período de tiempo prolongado a temperatura de refrigeración, como son la leche y los productos lácteos. La leche que es el producto de la secreción de las glándulas mamarias de las hembras bovinas sanas obtenida mediante el ordeño completo; es inocua al extraerla y no contiene microorganismos patógenos en su composición, estando protegida por la enzima lactoperoxidasa durante una hora aproximadamente después del ordeño. La leche es un excelente caldo de cultivo, lo que permite el desarrollo de patógenos que la pueden contaminar si en su proceso de extracción no se observan las buenas prácticas de higiene: BPH y buenas prácticas de ordeño: BPO. Entre los patógenos contaminantes medioambientales de gran importancia que contaminan la leche se encuentra *L. monocytogenes* (Ramírez, 2006: 260; Espinoza et al., 2004: 71).

El queso es la cuajada de la leche, formada un gel que retiene la gran mayoría de los sólidos de leche (12%), formado por la acción de las temperaturas, en presencia de los fermentos lácticos. En la elaboración de un producto de calidad es necesario emplear una materia prima de óptima calidad, la cuál es obtenida mediante un ordeño completo observando las buenas prácticas de higiene (BPH) y sometida rápidamente a un proceso de pasteurización (eliminación de patógenos). Durante el proceso de industrialización debe ponerse en práctica las BPM y las BPH, para asegurar la inocuidad del producto final; sin embargo en el Perú, el queso generalmente es elaborado a partir de leche cruda sin pasteurización, con inadecuadas prácticas de manufactura, que sumados a la alta humedad y al hecho de no estar sujetos a controles de almacenamiento, distribución y expendio, se convierte en un vehículo potencial de transmisión de *L. monocytogenes* (Ramírez, 2006: 260; Espinoza et al., 2004: 72).

Estudios realizados en diferentes regiones geográficas indican que *L. monocytogenes* presenta una frecuencia significativa en la leche y los productos lácteos, los mismos que actúan como vehículos de transmisión de listeriosis humana (Corpas y Salazar, 2007: 6). La asociación de listeriosis humana con el consumo de leche y productos lácteos apoya la hipótesis de que *L. monocytogenes* es un patógeno transmitido a los humanos desde animales infectados o sus productos; y los resultados de los diversos estudios realizados sugieren que la leche y el queso deben ser considerados como posibles vehículos de transmisión de *L. monocytogenes*, y aunque la pasteurización es un método altamente efectivo para eliminar patógenos en la leche, puede no ser siempre 100 % efectivo (Rossi et al., 2008:329).

Consecuentemente, es importante realizar investigaciones para demostrar si los productos alimenticios como leche y queso fresco están contaminados con *L. monocytogenes*, determinando su frecuencia de aislamiento en estos alimentos que actúan como vehículos de transmisión y de esta manera proponer a las autoridades de salud, las medidas de control sanitario, a fin de disminuir la frecuencia de esta bacteria en la leche fresca y queso fresco y por consiguiente disminuir la listeriosis humana y el riesgo sanitario a que está expuesta la población al consumir estos productos contaminados.

Por las consideraciones anteriormente expuestas la presente investigación tuvo como objetivo: determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en la comercialización de leche fresca y queso fresco, en la Provincia de Trujillo, Perú, durante los años 2009 y 2010, así como también evaluar los factores de riesgo de contaminación asociados, para proponer a las autoridades de salud las medidas de control sanitarias a fin de lograr que estos productos alimenticios puedan llegar en forma inocua al consumidor.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Objeto de estudio

El objeto de estudio estuvo conformado por muestras de leche fresca y queso fresco, comercializados en la Provincia de Trujillo, Perú.

La muestra estuvo representada por 60 unidades muestrales de leche fresca y 60 de queso fresco, obtenidas en los centros de expendio de estos productos en la provincia de Trujillo, Perú, durante los años 2009 y 2010

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 = 0,0405 (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 60 por cada tipo de producto, lo que permite inferir los resultados hacia la población con total confiabilidad.

Variables de estudio: Por ser un trabajo descriptivo, solo se identificó la variable independiente: Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche fresca y queso fresco (%).

### 2.2 Equipos, instrumentos y materiales

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

Instrumento de recolección de datos. Se utilizó Fichas de Vigilancia Sanitaria, elaboradas según los parámetros establecidos en el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas (Decreto Supremo N° 007-98-SA), aplicando una encuesta para evaluar el comportamiento de los factores de riesgo de contaminación asociados a leche fresca y queso fresco en los centros de expendio de estos productos, en la provincia de Trujillo, Perú.

### 2.3 Métodos y técnicas

Toma de muestra para cultivo:

Se obtuvo asépticamente 60 muestras de leche fresca (5 en mercados, 47 en establos, 6 en clubes de madres y 2 en porongueros) y 60 muestras de queso fresco (50 en mercados y 10 en centros de acopio de productores), en los lugares donde se expenden estos productos de la provincia de Trujillo, Perú, desde octubre del 2009 hasta julio del 2010. 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 leche fresca y 200 g de queso fresco, los que se colectaron en frascos estériles y bolsas de polietileno estériles respectivamente, rotulándolos adecuadamente con plumón de tinta indeleble. Luego se colocaron las muestras en termos, con sus respectivos conservantes a temperatura de 0°C - 4°C; 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 leche fresca y queso fresco, a través de Fichas de Vigilancia Sanitaria, para determinar y evaluar los puntos críticos y el comportamiento de los factores de riesgo de contaminación asociados.

#### Aislamiento de *Listeria monocytogenes*:

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

**Pre enriquecimiento:** En el caso de leche fresca, en forma aséptica se midió 25 ml de cada muestra y en el caso de queso fresco se pesó en forma aséptica 25 g de cada muestra, luego en forma independiente se colocó cada una de las muestras en una bolsa de Stomacher conteniendo 225 ml de Caldo de Enriquecimiento Base *Listeria* (LEB), se procedió a homogeneizar cada bolsa en un agitador Stomacher, durante un minuto y se incubó a 30 °C durante 4 horas.

**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.

**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, según 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, 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, 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 tripticosa soya - extracto de levadura 0,6% (TSAYE) y en caldo tripticosa soya - extracto de levadura 0,6% (TSBYE), obteniendo cultivos puros a los cuales se les realizó finalmente la identificación de *L. monocytogenes*.

**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 ( $\beta$ ), CAMP (+), fermentación de xilosa (-) y fermentación de ramnosa (+) (Murray et al., 2006: 241; Koneman et al., 2004: 644).

#### Análisis estadístico:

Los datos obtenidos fueron analizados con estadística descriptiva, mediante la prueba de T de Student, 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 60 muestras de leche fresca y 60 muestras de queso fresco, comercializados en la provincia de Trujillo, no aislándose *L. monocytogenes* en leche fresca (Tabla 1), sin embargo en queso fresco se aisló en 3,34% (Tabla 2). La evaluación de los factores de contaminación asociados

a leche fresca y queso fresco se detallan en la Tabla 3 a la Tabla 8, especificando el lugar de expendio para cada producto y su calidad sanitaria evaluada.

**Tabla 1.** Distribución numérica y porcentual de *Listeria monocytogenes* en 60 muestras de leche fresca comercializada en la provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

<i>Listeria monocytogenes</i>		Lugar de expendio de leche fresca				
		Mercados	Clubes de madres	Establos	Porongueros	TOTAL
SI	N° %	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00
NO	N° %	5 100,00	6 100,00	47 100,00	2 100,00	60 100,00
TOTAL	N° %	5 100,00	6 100,00	47 100,00	2 100,00	60 100,00

Prueba: T de Student = 0,000; p = 1,000 (no significativo).

**Tabla 2.** Distribución numérica y porcentual de *Listeria monocytogenes* en 60 muestras de queso fresco comercializado en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

<i>Listeria monocytogenes</i>		Lugar de expendio de queso fresco		
		Mercados	Centro de acopio de Productores	TOTAL
SI	N° %	1 2,00	1 10,00	2 3,34
NO	N° %	49 98,00	9 90,00	58 96,66
TOTAL	N° %	50 100,00	10 100,00	60 100,00

Prueba: T de Student = 0,532; p = 0,604 (no significativo).

**Tabla 3.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada en mercados donde expenden leche fresca, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo		Criterio de evaluación			
		Alimento	<sup>1</sup> BPM	Vendedor	Ambiente y Enseres
Aceptable	N° %	1 20,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00
Regular	N° %	4 80,00	0 0,00	0 0,00	1 20,00
No aceptable	N° %	0 0,00	5 100,00	5 100,00	4 80,00
TOTAL	N° %	5 100,00	5 100,00	5 100,00	5 100,00

<sup>1</sup> Buenas prácticas de manipulación.

**Tabla 4.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada en clubes de madres que se benefician con el programa del vaso de leche, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo	Criterio de evaluación			
		Infraestructura	Ausencia de animales	Limpieza
Aceptable	Nº	0	1	6
	%	0,00	16,67	0,00
No aceptable	Nº	6	5	0
	%	100,00	83,33	100,00
TOTAL	Nº	6	6	6
	%	100,00	100,00	100,00

Fuente: Datos obtenidos por los autores en base a encuesta elaborada y aplicada en clubes de madres que se benefician con el programa del vaso de leche, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010.

**Tabla 5.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada en establos productores de leche fresca, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo	Criterio de evaluación					
		<sup>1</sup> Infraestructura	Tanque de frío (4 °C)	<sup>2</sup> Vacunas	<sup>3</sup> Prueba CMT	<sup>4</sup> BPO
Aceptable	Nº	47	45	47	47	0
	%	100,00	95,74	100,00	100,00	0,00
No aceptable	Nº	0	2	0	0	47
	%	0,00	4,26	0,00	0,00	100,00
TOTAL	Nº	47	47	47	47	47
	%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

<sup>1</sup> Incluye sala mecanizada de ordeño.

<sup>2</sup> Incluye Certificado libre de brucelosis bovina, Certificado libre de tuberculosis bovina y vacuna para fiebre carbonosa.

<sup>3</sup> Prueba de California Mastitis Test.

<sup>4</sup> Buenas prácticas de ordeño.

Fuente: Datos obtenidos por los autores en base a encuesta elaborada y aplicada en establos productores de leche fresca, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010.

**Tabla 6.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada a los porongueros que expenden leche fresca en la vía pública, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo	Criterio de evaluación		
		Tanque de frío (4 °C)	<sup>1</sup> BPH/BPM
Aceptable	Nº	0	0
	%	0,00	0,00
No aceptable	Nº	2	2
	%	100,00	100,00
TOTAL	Nº	2	2
	%	100,00	100,00

<sup>1</sup> Buenas prácticas de higiene / Buenas prácticas de manipulación



**Tabla 7.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada en mercados donde expenden queso fresco, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo		Criterio de evaluación			
		Alimento	<sup>1</sup> BPM	Vendedor	Ambiente y Enseres
Aceptable	N°	0	14	2	2
	%	0,00	28,00	4,00	4,00
Regular	N°	0	14	13	11
	%	0,00	28,00	26,00	22,00
No aceptable	N°	50	22	35	37
	%	100,00	44,00	70,00	74,00
TOTAL	N°	50	50	50	50
	%	100,00	100,00	100,00	100,00

<sup>1</sup> Buenas prácticas de manipulación.

**Tabla 8.** Distribución numérica y porcentual de inspección sanitaria realizada en centro de acopio de productores de queso fresco, en la Provincia de Trujillo, Perú. 2009-2010

Calificativo		Criterio de evaluación			
		Alimento	<sup>1</sup> BPM	Vendedor	Ambiente y Enseres
Aceptable	N°	1	0	0	0
	%	10,00	0,00	0,00	0,00
Regular	N°	1	2	0	0
	%	10,00	20,00	0,00	0,00
No aceptable	N°	8	8	10	10
	%	80,00	80,00	100,00	100,00
TOTAL	N°	10	10	10	10
	%	100,00	100,00	100,00	100,00

<sup>1</sup> Buenas prácticas de manipulación.

#### IV. DISCUSIÓN

La leche y los productos lácteos son los alimentos en los que más se han centrado las investigaciones sobre la contaminación por *Listeria monocytogenes*, debido a la relación de estos productos con los brotes de listeriosis ocurridos en Estados Unidos de América y otros países en años anteriores (Murray et al., 2006: 241; Organización Mundial de Salud Animal, 2004: 1222; Ministerio de Salud de Chile, 2009: 1), y por la alta demanda que tienen estos productos alimenticios, debido a su elevado valor nutritivo; y además teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* es uno de los patógenos más importantes transmitido a través de los alimentos (Organización Mundial de Salud Animal, 2004: 1222).

En la presente investigación, no se ha aislado *L. monocytogenes* en leche fresca que se comercializó en la provincia de Trujillo, durante los años 2009 y 2010 (Tabla 1), muestras que fueron obtenidas en mercados, establos, clubes de madres beneficiarios del Programa Vaso de Leche y porongueros de la vía pública. Los resultados obtenidos concuerdan con los informados

por Araya et al. (2008: 184), quienes realizaron una investigación en la Universidad de Costa Rica, durante el año 2006, donde también determinaron la ausencia de *L. monocytogenes* en un total de 25 muestras de leche cruda obtenidas por ordeño manual y provenientes de cinco productores diferentes. En otra investigación realizada en las lecherías de Guápiles, Limón y Moravía en San José de Costa Rica, por Ellner et al. (1991: 35), tampoco se logró aislar *L. monocytogenes*. Asimismo, en un estudio realizado por Mayorga (2004: 22), en la provincia de Cautín, Chile, en el año 2004, determinó la ausencia de este patógeno en leche cruda almacenada en tanques de enfriamiento de 33 establos.

Los resultados encontrados de *L. monocytogenes* en leche fresca (0,00 %) en el presente estudio, difieren escasamente con los obtenidos por Carrascal et al. (2007: 52), en un estudio realizado en el municipio de Pamplona, ubicado en el norte de Colombia, quienes determinaron que en la leche fresca de vaca, *Listeria* sp. presentó una incidencia del 5,50 % y *L. monocytogenes* presentó una incidencia de 3,00 %. En este estudio, el investigador resaltó que aunque se esperaba una incidencia más alta de *L. monocytogenes*, no se logró aislar este microorganismo y teniendo en cuenta que la leche se vende para consumo directo, urge la necesidad de tomar medidas durante la producción, acopio, transporte y comercialización para evitar la presencia de este patógeno.

Sin embargo, los resultados de la presente investigación difieren ampliamente con los obtenidos en la ciudad de Manizales – Colombia, por Corpas y Salazar (2007: 6), quienes determinaron que *L. monocytogenes* estaba presente en un 39,10 % en leche fresca. Asimismo los resultados de esta investigación difieren significativamente con los resultados obtenidos en la Paz, Bolivia, por el Instituto Nacional de Laboratorios de Salud – INLASA (2004: 1), donde se determinó que *L. monocytogenes* estuvo presente en un 20,00 % en leche. Similarmente Schobitz et al. (2001: 117), en una investigación realizada en las plantas lecheras de las regiones VIII, IX y X y en los puestos de venta ambulantes de la ciudad de Valdivia, Chile, informaron que de 50 muestras de leche analizadas, se encontró *L. monocytogenes* en 11 de ellas, lo que correspondió a un 22 %.

Además de buscar la presencia de *L. monocytogenes* en leche fresca, se realizó la investigación de otros microorganismos de importancia sanitaria, entre los que se aisló *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, hongos y levaduras; lo que demuestra la baja calidad sanitaria de la leche y el alto grado de contaminación microbiológica, que se puede provenir mediante la limpieza y desinfección adecuada de los pezones y pezoneras, tamizado y/o mediante lactoducto (permite una recolección más higiénica de la leche) al tanque de enfriamiento donde se almacena la leche producida. Otro factor de riesgo se presenta por la sobrepoblación en los corrales, originando camas húmedas, que ensucian la ubre de la vaca originando mayor presencia de patógenos ambientales, y por último la higiene del personal de ordeño y el no empleo de las buenas prácticas de ordeño (BPO) mencionando entre ellas, rutinas de ordeño inadecuadas, que causan lesiones en el esfínter del pezón que es la primera barrera que impide el ingreso de patógenos a la ubre, ocasionando contaminación cruzada por riesgo biológico, que pone en peligro la salud del consumidor si la leche fresca no es sometida a un proceso de pasteurización y/o cocción (Concellon, 2001: 291); conforme lo indican los estudios realizados por Díaz (2008: 36), en una investigación realizada sobre Evaluación de los Puntos Críticos para La Aplicación de un Plan de Manejo para una Adecuada Producción y Comercialización de Leche en la Provincia de Trujillo 2006-2007.

La ausencia de *L. monocytogenes* en este estudio podría deberse a varios factores. El bajo número de *L. monocytogenes* junto con el alto número de otros microorganismos presentes en la leche fresca, hace más difícil su aislamiento por ser ésta una bacteria que se inhibe frente a otros microorganismos, ya sea por la competencia de nutrientes o por la producción de proteínas (bacteriocinas) con acción bactericida (Mayorga, 2004: 22).

Además, es bien reconocido que la leche cruda posee varias sustancias naturales antimicrobianas, que ayudan a eliminar la microbiota que pueda estar presente, incluyendo los patógenos. Entre estas se mencionan, la lactoferrina, algunas inmunoglobulinas y el sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrógeno. El sistema lactoperoxidasa, ha sido reconocido por sus efectos inhibitorios sobre ciertas cepas de *L. monocytogenes*, incluso a ciertas temperaturas de refrigeración; esta actividad bactericida persiste aproximadamente por 5 días, previniendo el

crecimiento y reduciendo significativamente el número de *L. monocytogenes*, durante el almacenamiento en refrigeración de la leche cruda (Mayorga, 2004: 22; Gaya, 1991: 3356).

A pesar de que en el presente estudio, no se obtuvieron aislamientos de *L. monocytogenes* en leche fresca, no se puede descartar su presencia definitiva ya que se trata de una bacteria ubicua y existe la posibilidad de encontrarla en algunos de los sitios de muestreo evaluados, por lo que no se exime a la población de riesgo, pues el problema de la listeriosis se ha suscitado en los diferentes países implicados de forma explosiva y repentina, siendo importante siempre mantener la vigilancia sobre este grupo de alimentos.

Es importante recordar, que la contaminación por dicho patógeno puede ocurrir en cualquier etapa en donde la leche fresca se vea expuesta al medio ambiente, desde el proceso de ordeño, almacenamiento, transporte, hasta en el hogar, por lo que se recomienda la aplicación de las normas de higiene correspondientes, no sólo para los productores y distribuidores, sino también para cada uno de los consumidores, los cuales deberán consumirla después de someterla a un proceso térmico; sobre todo teniendo en cuenta que se han aislado otros microorganismos de importancia sanitaria.

Generalmente se acepta que los quesos no estén libres de microorganismos, debido a los métodos de elaboración, en gran parte artesanales, con leche no pasteurizada y a la posibilidad de que en el post proceso ocurra contaminación cruzada, a esto se añade un sistema inadecuado de limpieza y desinfección en los sitios de producción, sin descartar las deficientes condiciones higiénicas de los sitios de expendio y el manejo inadecuado del alimento en el hogar, donde estos productos son consumidos directamente, a pesar que no son inocuos para los consumidores.

Respecto al queso fresco, en la presente investigación *L. monocytogenes* estuvo presente en un 3,34 % (Tabla 2), resultados que se asemejan a los obtenidos por Espinoza et al. (2003: 73), en el año 2003, en un estudio realizado en los mercados del distrito de Ica, Perú, donde encontraron un 4,05 % de presencia de este microorganismo en quesos frescos. Así también estos resultados concuerdan en parte a los encontrados por Martino et al. (2005: 220), quienes en una investigación realizada en 54 quesos comercializados en Cuba, determinaron que *L. monocytogenes* estuvo presente en 1,9 % de las muestras analizadas.

Resultados de la presencia de *L. monocytogenes* en estudios realizados por Ellner et al. (1991: 35), en las lecherías de Guápiles, Limón y de Moravía en San José de Costa Rica, demostraron una diferencia significativa, estando presente este microorganismo en un 10 %; datos similares obtuvieron Baquero et al. (2006: 83), con los resultados encontrados de un 13,3 % de positividad de *L. monocytogenes*, en 30 muestras analizadas de quesos elaborados artesanalmente y expendidos en la plaza del mercado de Cáqueza, Cundinamarca, Colombia. Resultados más distantes obtuvieron en el Instituto Nacional de Laboratorios de Salud – INLASA (2004: 1), en la Paz, Bolivia, donde se determinó que *L. monocytogenes* estuvo presente en un 17,00 % en quesos; coincidiendo todos los investigadores en la urgencia de implementar medidas de control que permitan disminuir la contaminación de los quesos y por consiguiente el riesgo para los consumidores.

Sin embargo, otros investigadores no lograron aislar *L. monocytogenes* en quesos. Así lo reporta Gallegos et al. (2007: 1003), en una investigación realizada en 217 muestras de queso, obtenidas en las ciudades de Montería y Cereté, Colombia, en el año 2007, donde no lograron aislar a este microorganismo. De la misma forma, Márquez y García (2007: 19), no detectaron la presencia de *L. monocytogenes* en un estudio llevado a cabo en el año 2007, en 100 muestras de queso obtenidas en varios estados de Venezuela. Igualmente Schobitz et al. (2001: 117), tampoco lograron hallar *L. monocytogenes* en 25 muestras de queso artesanal analizadas microbiológicamente y obtenidas en los puestos de venta ambulancia en la ciudad de Valdivia, Chile, durante el año 2001.

La baja frecuencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos, puede atribuirse al posible efecto inhibitorio de los ácidos grasos propios de la leche, como el láurico, linoléico y linolénico, que son

fuertemente bactericidas, así como por el ácido láctico producto de la rápida acidificación de la masa del queso (Schobitz et al., 2001: 118; Márquez y García, 2007: 20).

Otros microorganismos de importancia sanitaria que se han aislado en los quesos frescos, son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, hongos y levaduras, lo que demuestra las deficientes prácticas de higiene y saneamiento durante el procesamiento de quesos, desde la obtención de la materia prima hasta su comercialización (Baquero et al., 2006: 82). Este alto grado de contaminación se debe a que la leche utilizada para la elaboración de quesos no es pasteurizada, existe contaminación durante el procesamiento, hay deficiencias en los sistemas de refrigeración, se da manejo inadecuado de los residuos sólidos y además existen deficiencias en la forma de conservación de los quesos, etc.; debido a esto el consumo de quesos pone en riesgo la salud de la población.

Los resultados obtenidos de la presencia de *L. monocytogenes* en leche fresca y queso fresco comercializados en la Provincia de Trujillo, no presentaron diferencia estadísticamente significativa, según la Prueba de T de Student; por lo que la probabilidad de que *L. monocytogenes* esté distribuida en los diversos centros de expendio de estos productos, es la misma.

Al realizar la evaluación con la ficha de vigilancia sanitaria de lácteos y derivados, en lo que respecta a mercados donde expenden leche fresca, se aprecia en la Tabla 3, que las condiciones del alimento son aceptables (20,00 %) y regulares (80,00 %), las buenas prácticas de manipulación y la condición de los vendedores son no aceptables (100 %), asimismo los ambientes y enseres presentan un 80,00 % de no aceptables; lo que indica que existen las condiciones propicias para que la leche fresca se pueda contaminar, no solamente con *L. monocytogenes*, sino también con otros microorganismos, los cuales pueden ser patógenos (Corpas y Salazar, 2007: 8)

En los clubes de madres beneficiarios del Programa Vaso de Leche (Tabla 4), se puede apreciar que no cuentan con una infraestructura adecuada (100 %), el 83,33 % presenta animales dentro de sus locales y el 100 % no realiza una adecuada limpieza, factores que favorecen la contaminación de la leche fresca y de los demás productos alimenticios que se manipulan en estos locales, poniendo en riesgo la salud de los consumidores, sobre todo si los beneficiarios son personas susceptibles como niños y ancianos.

Los establos productores de leche fresca en las provincias de Trujillo y Viru muestreados (Tabla 5), en su totalidad (100 %) realizan ordeño mecanizado, contando para ello con una infraestructura adecuada, el 95,74 % de ellos presentan tanque de frío, que permite refrigerar la leche inmediatamente después que es ordeñada de las vacas; además es importante manifestar que estos establos tienen la certificación de hatos libres de brucelosis y tuberculosis bovina, otorgado por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA y además todos los hatos mantienen permanentemente programas de vacunación anticarbonosa. Los establos muestreados, en su totalidad (100%) realizan monitoreos continuos de la calidad sanitaria de la leche, a través de la prueba California Mastitis Test (CMT), que permite detectar la cantidad de células somáticas que tiene la leche, como consecuencia de una mastitis bovina subclínica, por tanto descartar la leche contaminada, para consumo directo o industrial. Igualmente se debe considerar como factor de riesgo las prácticas de ordeño, que son no aceptables en un 100%, debiendo los propietarios de las explotaciones lecheras corregirlas realizando una adecuada rutina de ordeño.

Otro grupo de comercializadores de leche fresca son los porongueros que se ubican en la vía pública y que expenden la leche sin ninguna medida de seguridad sanitaria (Tabla 6), ya que no cuentan con la implementación e infraestructura sanitaria para enfriar la leche exponiéndola al medio ambiente (100 %) y tampoco aplican las buenas prácticas de higiene y las buenas prácticas de manipulación (100 %), al estar en contacto con este alimento; lo cual contribuye a incrementar la posibilidad de contaminación de la leche.

Respecto a la evaluación con la ficha de vigilancia sanitaria de lácteos y derivados, realizada a los mercados donde expenden queso fresco, se aprecia en la Tabla 7, que las condiciones del alimento son no aceptables en un 100 %, solo el 28,00% de vendedores aplican buenas prácticas

de manipulación, el 70,00 % de vendedores presentan condiciones sanitarias no aceptables y el 74,00 % de los ambientes y enseres son no aceptables, lo que predispone a que los quesos frescos sufran una contaminación cruzada por riesgo biológico en perjuicio del consumidor.

De manera similar la evaluación sanitaria realizada en los centros de acopio de queso fresco de la provincia de Trujillo, durante los años 2009 y 2010 (Tabla 8), son en su mayoría no aceptables, determinándose que los quesos frescos en un 80,00 % tienen características de expendio no aceptables, el 80,00 % de vendedores no aplica buenas prácticas de manipulación, y el 100 % de ellos tampoco presenta condiciones higiénico sanitarias aceptables y en lo que respecta a ambientes y enseres, el 100 % son no aceptables, sumado ello a que el centro de acopio sólo funciona por unas horas en la mañana, ya que luego es utilizado como una cochera de vehículos y por lo tanto no es un centro autorizado, menos aún es inspeccionado por la autoridad sanitaria municipal de salud competente.

Tanto en mercados como en centros de acopio de productores de queso fresco se determinó que ninguno de los productos tenía registro sanitario y también que estos productos son elaborados artesanalmente, sin pasteurizar la leche, lo que potencia más su riesgo de transmitir enfermedades a los consumidores.

Por lo tanto, los resultados de la presente investigación reflejan la necesidad de afianzar en la Provincia de Trujillo los programas y actividades que limiten la presencia de *L. monocytogenes* en leche fresca y queso fresco, productos que son ampliamente utilizados para el consumo humano muchas veces directamente, teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* es un microorganismo emergente caracterizado por su letalidad, principalmente en niños, mujeres embarazadas, niños recién nacidos y en etapa escolar, y en general, en poblaciones inmunosuprimidas (Koneman et al., 2004: 644).

Las autoridades de salud competentes deben de implementar medidas de control sanitario a fin de garantizar la inocuidad de la leche fresca y queso fresco, para prevenir el desarrollo de listeriosis en la población. Asimismo se debe realizar estudios futuros que determinen la prevalencia de *L. monocytogenes* en otros alimentos implicados en la transmisión de este microorganismo.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

- *Listeria monocytogenes* no estuvo presente en la leche fresca comercializada en la provincia de Trujillo, Perú, durante los años 2009 y 2010.
- *Listeria monocytogenes* presentó un porcentaje de aislamiento bajo (3,34 %) en el queso fresco comercializado en la provincia de Trujillo, Perú.
- El comportamiento de los factores de riesgo de contaminación asociados a leche fresca y queso fresco comercializados en la provincia de Trujillo, Perú, fue altamente inadecuado.

## AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a los propietarios de los centros de expendio de leche fresca y queso fresco, 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

- ÁLAMO C, RONDON A. 2006. **Meningoencefalitis por *Listeria monocytogenes***. Paediatrica, Vol. 8(1): 39-42.
- ALCAZAR C, RUBIO M, NUÑEZ F, ALONSO R. 2006. **Detección de *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos y semimadurados que se expenden en vía pública en la ciudad de México**. Vet. Mex., Vol. 37(4): 417-429.
- ARAYA V, GALLO L, QUESADA C, CHÁVES C, ARIAS M. 2008. **Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Vol. 58(2): 182-186.
- BAQUERO D, BERNAL A, CAMPUZANO S. 2006. **Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza del mercado de Cáqueza, Cundinamarca**. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Vol. 4(6): 80-83.
- CARRASCAL A, ALBARRACÍN Y, SARMIENTO P. 2007. **Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leche de vaca expandida en el municipio de Pamplona, Colombia**. BISTUA, Vol. 5(2): 49-57.
- CONCELLÓN A. 2001. **Ganadería Práctica**. Sopena, Barcelona.
- CORPAS E, SALAZAR S. 2007. **Estimación de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y pasteurizada en una empresa de lácteos de la ciudad de Manizales durante el 2007**. Informe Científico de la Universidad Católica de Manizales.
- DECRETO SUPREMO N° 007-98-SA. 1998. **Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas**. Diario Oficial El Peruano, Año XVI. N° 6666: 164319-164334.
- DÍAZ M. 2008. **Evaluación de los Puntos Críticos para la Aplicación de un Plan de Manejo para una Adecuada Producción y Comercialización de Leche en la Provincia de Trujillo 2006-2007**. [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- DIGESA. 2007. **Compendio de Normas para la Fabricación Segura de Alimentos de Interés para la Industria**. 2<sup>da</sup> ed., Normas Sanitarias de Alimentos.113-153.
- DIGESA. 2007. **Compendio de Normas Sanitarias para la Comercialización Segura de Alimentos**. 2<sup>da</sup> ed. Normas Sanitarias de Alimentos; 71-90.
- ELLNER R, UTZINGER D, GARCÍA V. 1991. **Aislamiento de *Listeria* sp. de diverso alimentos en Costa Rica**. Rev. Cost. Cienc. Méd., Vol. 12(3-4): 33-39.
- ESPINOZA A, DE LA TORRE M, SALINAS M, SÁNCHEZ V. 2004. **Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de producción artesanal que se expenden en los mercados del distrito de Ica, Enero – Marzo 2003**. Rev Perú Med Exp Salud Pública, Vol. 21(2): 71-75.
- FUENTELES AZ C. 2004. **Cálculo del tamaño de la muestra**. Matronas Profesión, Vol. 5(18): 5-13.
- GALLEGOS J, ARRIETA G, MATTAR S, POUTOU R, TRESPALACIOS A, CARRASCAL A. 2007. **Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos costeños**. Rev. MVZ, Vol. 12(2); 996-1012.
- GARCÍA-RODRÍGUEZ J, PICAZO J. 2000. **Compendio de Microbiología Médica**. Ediciones Harcourt Brace, Madrid.

- GAYA P, MEDINA M, NÚÑEZ M. 1991. **Effect of the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* behavior in raw milk at refrigeration temperatures.** Appl. And Environ. Microbiol, Vol. 57(11): 3355-3360.
- HITCHINS A, JINNEMAN K. 2011. **Bacteriological Analytical Manual. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods.** 8<sup>th</sup> ed. Accessed February 10, 2012. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071400.htm>.
- INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD - INLASA. 2004. **Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco.** Instituto Nacional de Laboratorios de Salud, La Paz.
- JAWETZ E, MELNICK J, ADELBERG E. 2005. **Microbiología Médica.** 18<sup>a</sup> ed., El Manual Moderno, México D.F.
- KONEMAN E, ALLEN S, JANDA W, SCHRECKENBERGER P, WINN W. 2008. **Diagnóstico Microbiológico.** 6<sup>a</sup> ed., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
- MADIGAN M, MARTINKO J, PARKER J. 2004. **Biología de los Microorganismos.** 10<sup>a</sup> ed., Pearson Prentice Hall, Madrid.
- MÁRQUEZ J, GARCÍA C. 2007. **Microflora patógena del queso blanco "telita" elaborado en cuatro estados de Venezuela.** Anales Venezolanos de Nutrición, Vol. 20(1): 17-21.
- MARTINO T, LEYVA V, PÉREZ A, DE LOS REYES M, SUÁREZ F, LARA C. 2005. **Determinación de *Listeria* spp. en quesos y embutidos comercializados en Cuba.** Rev Cubana Salud Pública, Vol. 31(3): 217-222.
- MAYORGA M. 2004. **Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda de tanques de frío en lecherías y tanques comunitarios provenientes de 9 sectores de la provincia de Cautín, IX Región.** [Tesis] Universidad Católica de Temuco, Cautín.
- MINISTERIO DE SALUD DE CHILE. 2009. **Informe Listeriosis.** Ministerio de Salud de Chile - Departamento de Epidemiología, Santiago.
- MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ. 2009. **Información estadística sobre listeriosis – años 2001 al 2008. La Libertad.** Gerencia Regional de Salud La Libertad – Oficina de Informática, Telecomunicaciones y Estadística, Trujillo.
- MOSEL D, MORENO B. 2003. **Microbiología de los Alimentos.** 2<sup>a</sup> ed., Editorial Acribia, Zaragoza.
- MURRAY P, ROSENTHAL K, KOBAYASHI G, PFALLER M. 2006. **Microbiología Médica.** 5<sup>a</sup> ed., Elsevier Science, Barcelona.
- NORMA TÉCNICA PERUANA NTP-ISO 2859-1: 2009. **Procedimiento de Muestreo para inspección por atributos.** 3<sup>ra</sup> ed., Comité de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias – INDECOPI, Lima.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SALUD ANIMAL (OIE). 2004. **Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres.** 5<sup>a</sup> ed., Organización Mundial de Salud Animal, Paris.
- OTEO J, ALÓS J. 2007. ***Listeria* y listeriosis.** Boletín de Control de Calidad SEIMC, Madrid.
- PINEDA Y, MORA Y. 2006. **Listeriosis.** Revista Digital Ceniap Hoy [revista on-line] [acceso 08 de julio de 2010]; (11): Disponible en: [www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy3/articulos/n11/pdf/pineda\\_y.pdf](http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy3/articulos/n11/pdf/pineda_y.pdf)
- RAMÍREZ D. 2006. **Manual del Ingeniero de Alimentos.** Grupo Latino Editores, Colombia.
- RESTREPO A, ROBLEDO J, LEIDERMAN E, RESTREPO M, BOTERO D, BEDOYA B. 2004. **Enfermedades Infecciosas.** 6<sup>a</sup> ed., Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín.

ROSSI M, 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.** Rev Chil Infect., Vol. 25(5): 328-335.

SCHOBITZ R, CIAMPI L, NAHUELQUIN Y. 2009. ***Listeria monocytogenes*. Un peligro latente para la industria alimentaria.** Agro Sur, Vol. 37(1): 1-8.

TARRIDE M. 1998. **Salud Pública: Una Complejidad Anunciada.** Edit. Fiocruz, Río de Janeiro.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1997. **La reaparición de algunas enfermedades de transmisión alimentaria,** Rev Panam Salud Pública, Vol. 1(3): 243-244.