UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Listeria monocytogenes como patógeno alimentario. Un enfoque hacia la industria cárnica

por

GONZÁLEZ ROSAS, Martín

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Higiene, Inspección-Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

MODALIDAD Revisión Monográfica

MONTEVIDEO
URUGUAY
2015

PÁGINA DE APROBACIÓN

TUTOR: Dra. Cristina López

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa: ----------
Dr. Jorge Fernández

Segundo Miembro (Tutor): ----------
Dra. Cristina López

Tercer Miembro: ----------
Dr. José Pedro Dragonetti

Fecha: 8 de mayo 2015

Autor: Martín González Rosas ----------

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, Dra. Cristina López por su disposición y ayuda.

A los funcionarios de biblioteca de Facultad de Veterinaria por su buena disposición, eficiencia y celeridad en la búsqueda de bibliografía, especialmente a Rosina Vilaró.

Al Dr. José Manuel Rodríguez, Dr. Manuel Santa Cruz y Dr. Martín Miller del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca por su constante apoyo, mentoría y sobre todo amistad en ésta última etapa de mi carrera.

A mis padres, Daniel González y Rocío Rosas, quienes han servido de guía y a su vez pilares en mi vida, y sin los cuales hubiese sido imposible alcanzar mis metas.

A mi hermano, Fernando González, por su ayuda incondicional, amistad y compañía en todo momento.

A todos mis amigos, quienes han estado siempre, en las buenas y en las malas, y sé que siempre estarán.

A la Ing. Alejandra Silveira y a Elisa Leberrié por la información brindada que ha sido de gran utilidad.

A mi abuela, tíos, tías, primos y sobrinos por darme una familia excepcional.

TABLA DE CONTENIDO

15

Temperat

pH

Efecto c

Principales

Características clínicas de la listeriosis en los animales.....29

Diagnóstico/Aislamiento en los alimento

Recomendaciones generales para la prevención y control de Listeria monocytogenes

Anexo

Anexo

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

Cuadro I:
Límites del crecimiento de Listeria monocytogenes

Cuadro II:
Brotes de listeriosis en el mundo

Cuadro III:
Principales factores de virulencia de Listeria monocytogenes

Cuadro IV:

Cuadro V:
Interpretación bioquímica

Cuadro VI:
Notificación de Listeria en humanos, animales y alimentos en la Unión Europea, 2007

Cuadro VII:
Número de casos confirmados e incidencia de listeriosis humana cada 100.000 habitantes en Unión Europea, período 2002-2012

Cuadro VIII:
Brotes con fuerte evidencia o confirmados de Listeria monocytogenes en la Unión Europea, período 2008-2012

FIGURAS

Figura I:

Figura II:

15

Figura III:
Representación esquemática de la fisiopatogenia de L. monocytogenes

Figura IV:
Ciclo intracelular de L. Monocytogenes.....27

Figura V:
Prueba de CAMP

Figura VI:
Aspecto típico de las colonias en CHROMagar Listeria

Figura VII:
Aspecto típico de las colonias en CHROMagar para identificación de Listeria

RESUMEN

Listeria monocytogenes es uno de los microorganismos patógenos reemergentes más relevantes de los últimos años, es responsable de casos individuales y brotes de enfermedades transmisibles por alimentos (ETA); con serias consecuencias en la salud pública. Sus síntomas en el paciente adulto pueden variar desde una gastroenteritis en la forma no invasiva hasta septicemia, meningitis, placentitis y aborto para su forma invasiva, pudiendo llegar hasta la muerte del paciente. Afecta principalmente a los recién nacidos, adultos mayores y personas inmunocomprometidas, con un período de incubación extremadamente variable, con extremos menores a las 24 horas para los casos de gastroenteritis hasta los 90 días en las formas invasivas. Es una bacteria muy extendida en el medio ambiente, con portadores en varias especies como ser: bovinos, ovinos, suinos, aves, equinos y humanos, y su principal vía de transmisión son los alimentos, destacándose dentro de éstos, los alimentos listos para el consumo.

En Uruguay no se han registrado brotes pero si casos individuales de enfermedad causada por éste patógeno, y su presencia ha sido evidenciada en los alimentos.

La normativa en nuestro país respecto a Listeria monocytogenes es escasa; por parte del MSP se la incluyo en el listado A de denuncia obligatoria, y la regulación a nivel industrial a cargo del MGAP está basada la Norma Reglamentaria Nº 2/2012 que establece el Muestreo para Determinación de Listeria monocytogenes en Carne Fresca con Destino a la Exportación hacia la Federación Rusa, y en la Norma Reglamentaria Nº 1/2013 que establece el Programa de Control Oficial para Listeria monocytogenes en Alimentos Cárnicos Prontos para Comer, y Programa de Autocontrol para Listeria monocytogenes en Medio Ambiente.

En vista de la gravedad de ésta enfermedad, y de las consecuencias que la misma puede tener en la salud pública, así como las repercusiones económicas y dificultades comerciales que podrían resultar de comercializarse carne contaminada con L. monocytogenes; entendemos que es de gran importancia la investigación, difusión, prevención y control de éste microorganismo en nuestro país.

SUMMARY

Listeria monocytogenes is considered as being one of the most relevant reemerging microorganisms in recent years, it has been responsible in individual cases and also in outbreaks of diseases which are transmissible by food (FBDO), leaving serious consequences to the public health. Principal symptoms in adults may range from gastroenteritis in the non-invasive way to septicemia, meningitis, placentitis and abortion for invasive, and can lead to the death of the patient. It mainly affects infants, the elderly and immunocompromised individuals, with extremely variable incubation period, ranging from 24 hours for gastroenteritis cases up to 90 days in invasive way. It is a widespread bacteria in the environment, with carriers in several species such as cattle, sheep, swine, poultry, horses and humans, and its main route of transmission is food, standing within them ready to eat foods.
Uruguay have no documented outbreaks, but individual cases of disease caused by this pathogen have occurred, and its presence has been demonstrated in foods.
The laws in our country regarding Listeria monocytogenes are scarce; by the MSP it was included in the A list of mandatory reporting, and the industrial regulation by the MGAP is based on the Norma Reglamentaria Nº 2/2012 which sets the Sampling for Determination of Listeria monocytogenes in Fresh Meat Destined for Export to the Russian Federation, and the Norma Reglamentaria Nº 1/2013 which establishes the Official Control Program for Listeria monocytogenes in Ready to Eat Meat Products and Self-Management Program for Listeria monocytogenes in the environment.
In view of the seriousness of this disease, and the consequences that it can have on public health as well as economic impacts, and commercial difficulties which may result from commercializing beef contaminated with L. monocytogenes; we believe that the research, diffusion, prevention and control of this microorganism in our country are of great importance.

Introducción

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) constituyen el mayor peligro para la salud a nivel internacional dado que los alimentos representan la fuente principal de riesgo respecto de los agentes químicos y biológicos, y afectan a todos los países prescindiendo de su nivel de desarrollo (Hammer, 1999).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos están aumentando en todo el mundo. Las interconexiones de las actuales cadenas alimentarias mundiales hacen que los patógenos presentes en los alimentos se transmitan más ampliamente y a mayores distancias, aumentando la frecuencia de las ETA y el número de lugares afectados por ellas (OMS, 2014).

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) a través de su red FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) identificó un total de 19.637 casos confirmados de ETA en Estados Unidos para el año 2012, de los cuales 4600 requirieron hospitalización y 69 fallecieron (CDC, 2014a).

En Estados Unidos se calcula que las ETA generan un costo de 3.3 a 5.1 billones de dólares en pérdidas por productividad, 2.3 a 4.3 billones en costos médicos y 9.4 a 15.6 billones de dólares en costos totales (Woller, 2013).

El CDC estima que en los Estados Unidos, cada año 1600 personas se enferman gravemente de listeriosis y 260 de ellas mueren (CDC, 2014b).

Las ETA se definen como cualquier síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios y/o agua que contengan agentes causales en cantidades tales, que afecten la salud del consumidor (Díaz y col., 2008).

Las mismas se pueden presentar de 3 diferentes maneras: infecciones causadas por alimentos (se producen por la ingestión de alimentos que poseen microorganismos patógenos vivos), intoxicaciones causadas por alimentos (suceden cuando las toxinas o mohos están presentes en el alimento ingerido) y toxiinfecciones alimentarias, que es producida por el consumo de alimentos que poseen microorganismos patógenos vivos, que al llegar a un lugar propicio en el organismo, se multiplican y liberan toxinas (Stachi, 2007).

También se pueden clasificar a las ETA de acuerdo a su gravedad en baja, moderada y alta, siendo éstas últimas las que generan graves problemas de salud e incluso la muerte como por ejemplo Listeria monocytogenes (Stachi, 2007).

A nivel internacional, Escherichia coli O157:H7 y Listeria monocytogenes, asociados a hamburguesas y carnes listas para consumir, respectivamente, han sido dos de los patógenos que mayor atención han recibido por parte de la investigación debido a la alta probabilidad de causar problemas en la salud de los consumidores (Rovira, 2006).

Los alimentos considerados de alto riesgo para contraer listeriosis son los listos para el consumo (LPC). Ésta es una categoría amplia y heterogenia de alimentos que no van a tener ningún proceso de cocción antes de su consumo, o que aparentemente son aptos para el consumo sin cocción, y varían de unos países a otros en relación con los hábitos alimentarios, la disponibilidad de la cadena de frío y la temperatura máxima en el punto de venta (Muñoz y

col., 2011). También los alimentos conservados a temperaturas de refrigeración durante un período de tiempo prolongado son considerados de alto riesgo, dado que ello permite que las listerias se multipliquen (Doyle, 2001a).

La comida congelada ha tenido una gran penetración en nuestro mercado en los últimos años, pasando de 8.3% de penetración en 1999 a un 14.1% en 2013, y se espera que para el 2014 éste porcentaje ascienda a 15.2% (El País, 2013a).

La industria cárnica es muy importante en nuestro país; tenemos el mayor consumo de carne vacuna por persona, con 61 kg por persona por año, se producen cerca de 550 mil toneladas de carne vacuna al año, de las cuales 180 mil son destinadas al consumo interno y 370 mil se exportan a más de 100 países (INAC, 2014a). Sumado a esto, el consumo de otras carnes como la de ave y suina se ha visto incrementado (INAC 2014b).

El cambio en los hábitos alimentarios debido a un cambio en la forma de vida, ha conducido a un consumo cada vez mayor de alimentos fuera del hogar, lo que ha hecho que cada vez sea mayor la producción de alimentos LPC.

En nuestro país estos alimentos están representados principalmente por los chacinados, los cuales han visto su consumo incrementado en los últimos años (El País, 2013b).

El primer caso de neurolisteriosis registrado en Uruguay fue en 1968 por Galiana y colaboradores (Acuña y col., 2002).

Durante el año 1998 se realizó la identificación de cepas de Listeria enviadas al laboratorio de Bacteriología y Virología de la Facultad de Medicina, procedentes del laboratorio de bromatología de la IMM. De las 53 cepas aisladas de alimentos recibidos, 49 correspondieron al género Listeria y 21 de ellas fueron identificadas como L. monocytogenes (Acuña y col., 2002).

La importancia de la listeriosis para la salud pública no siempre es reconocida, sobre todo porque es una enfermedad relativamente rara, en comparación con otras más comunes como la salmonelosis. Sin embargo, debido a su alta tasa de letalidad (20 a 30 %), la listeriosis se encuentra entre las causas más frecuentes de muerte por enfermedades transmitidas por alimentos ocupando la segunda posición, después de la salmonelosis (Rossi y col., 2008).

El aumento de la esperanza de vida en personas con enfermedades crónicas, el número creciente de pacientes inmunocomprometidos y, en menor medida el sida, han sido considerados como factores que explican un supuesto aumento del número de casos de listeriosis en los últimos años (Julián y col., 2001).

Visto la estrecha relación de Listeria monocytogenes con los alimentos LPC y alimentos refrigerados, y las tendencias generales en la forma de consumir los alimentos; el riesgo de que hayan casos esporádicos y/o brotes en nuestro país está presente, y las graves consecuencias que éstos pueden generar tanto a nivel económico como en la salud pública son una realidad, por lo que entendemos que la investigación, difusión y control de éste microorganismo es fundamental.

Objetivos

- Realizar un relevamiento de la información existente sobre Listeria monocytogenes
- Recopilar las Normativas vigentes en nuestro país sobre Listeria monocytogenes para la industria cárnica en los últimos 10 años
- Presentación de datos sobre la incidencia e impacto de la Listeriosis en nuestro país y el mundo

PRESENTACIÓN

Listeria (genérico)

Las listerias son bacilos Gram positivos que no forman esporas ni son ácido-resistentes (no le favorecen condiciones de excesiva acidez)
nombre del género se cambió a Listeria en 1940 (Jay, 2009). Están filogenéticamente relacionadas con Lactobacillus, y al igual que él producen ácido, pero no gas a partir de glucosa. Las listerias necesitan de condiciones microaerofílicas y son catalasa positivo (Madigan, 2003).

El género Listeria pertenece a la subrama de Clostridium junto con Staphylococcus, Lactobacillus y Brochothrix (Doyle, 2001a). Comprende las siguientes especies: L. monocytogenes, L. ivanovii, L. seeligeri, L. welshimeri, L. innocua y L. grayi (Rocourt y Buchrieser, 2007). En el año 2010 dos nuevas especies son descubiertas, L. marthii (Graves y col., 2010) y L. rocourtiae (Leclercq y col., 2010).

Las listerias son el agente etiológico de la listeriosis, una infección alimentaria que puede derivar en bacteriemia y meningitis (Madigan, 2003). Sin embargo solamente L. monocytogenes y L. ivanovii se asocian a enfermedades humanas. L. monocytogenes es la especie de importancia médica aislada con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos, el aislamiento de L. ivanovii a partir de hemocultivos y de otras muestras humanas ha sido documentado en raras ocasiones, pero la importancia clínica de ésta sigue siendo dudosa (Acuña y col., 2002).

Debido a que Listeria puede crecer en un amplio intervalo de pHs, así como a temperaturas frías, los alimentos con un pequeño número de microorganismos pueden presentar una notable contaminación tras un período prolongado de refrigeración (Murray, 2006).

Listeria monocytogenes es el agente etiológico aproximadamente del 98% de los casos humanos de listeriosis y del 85% de los animales. L. ivanovii ha originado al menos tres casos humanos y L. seeligeri uno (Jay, 2009).

Listeria monocytogenes

Listeria debe su nombre a Joseph Lister (1827-1912), cirujano y microbiólogo inglés considerado como uno de los padres de la microbiología junto a Koch y Pasteur; también figura en la historia como precursor de la antisepsia. Sin embargo, Lister no tuvo relación con la Listeria, ya que ésta fue descubierta 14 años después de su muerte, en 1926, por Murray, Webb y Swann, microbiólogos de la Universidad de Cambridge, quienes aislaron el microorganismo de conejos de laboratorio y lo bautizaron como Bacterium monocytogenes. Casi simultáneamente James Pirie describió el mismo bacilo en un roedor con fiebre y monocitosis en Kenia y lo llamó Listerella hepatolyitica, pues le dio más importancia al daño hepático que a la monocitosis periférica. Luego otros investigadores aislaron la misma bacteria y le dieron diferentes nombres. Esta confusión fue resuelta en 1957 por el alemán Heinz Seeliger, conocido taxónomo, quien en honor a Lister impuso el nombre Listeria monocytogenes (Ledermann, 2008).

Listeria monocytogenes es una bacteria ácido-tolerante, halotolerante y anaeróbica facultativa (Madigan, 2003). Su morfología es de un bacilo corto, es Gram positivo y dotado de movilidad extracelular (flagelos perítricos) e intracelular (filamentos de actina) (Frazier, 1993). Esta movilidad intracelular
genera una polimerización de filamentos de actina a partir de la propia actina de la célula hospedadora, así se forma una fibra de actina que queda atrapada en el citoesqueleto de la misma, con su constante elongación permite el movimiento hacia adelante del patógeno en el citosol (Prescott, 2004).

Son microorganismos móviles por medio de 1 a 5 flagelos perítricos, los cuales se generan mejor a temperaturas menores de 25 °C, siendo su motilidad mayor a temperatura ambiente que por incubación a 36-37 °C, ya que a estas temperaturas son aflagelados o tienen sólo un flagelo y aparecen como inmóviles (Stachi, 2007).

Cuadro I: Límites del crecimiento de Listeria monocytogenes

	Mínimo	*Óptimo*	*Máximo*
Temperatura (°C)	-0.4	37	45
pH	4.39	7.0	9.4
Actividad de agua	0.92	-	-

Fuente: ICMSF 5, 1998.

Sensibilidad y resistencia antibiótica

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología se señala que el patrón de sensibilidad a los antibióticos ha permanecido estable con el paso de los años. Éste microorganismo es sensible a una amplia gama de antibióticos como la penicilina, ampicilina, gentamicina, eritromicina, tetraciclinas, rifampicina, cotrimoxazol y vancomicina. Presentan una pobre actividad las fluoroquinolonas actuales y las cefalosporinas, especialmente las de tercera y cuarta generación como cefotaxima y cefepima (Oteo y Alós, 1997).

La mayor parte de los antibióticos tienen actividad bacteriostática frente a L. monocytogenes. Solamente se ha observado actividad bactericida en los aminoglucósidos, glucopéptidos y cotrimoxazol (sulfametoxazol asociada a trimetoprima) (Oteo y Alós, 1997).

La Organización Mundial de la Salud define a la resistencia a los antimicrobianos como aquel fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible (OMS, 2012).

En un estudio llevado a cabo con 14 cepas de L. monocytogenes aisladas de diferentes productos de origen animal, se observó que todas ellas eran susceptibles a penicilina G, vancomicina, tetraciclina, cloranfenicol, rifampicina, eritromicina gentamicina y trimetoprim. Sin embargo, se obtuvieron porcentajes altos de resistencia a la fosfomicina (92.9%) y menores para la estreptomicina (7.1%) (Altuntas y col., 2012). También se han observados altos porcentajes de resistencia a clindamicina (Safdar y Armstrong, 2002. Zamora y col., 2006).

En otro estudio se evaluó la resistencia de diferentes especies de Listeria a varios antibióticos, y se observó que el 0.6% de los aislamientos de L. monocytogenes eran resistentes a uno o más antibióticos comparado con el 19.5% de los aislamientos de L. innocua. L. seeligeri y L. welshimeri no presentaron resistencia. Resistencia a las tetraciclinas y penicilinas fueron las observadas más comúnmente. También se detectó un aislamiento resistente a gentamicina, lo cual es preocupante, ya que la gentamicina en combinación con ampicilina es usada en el tratamiento de listeriosis humana (Walsh y col., 2001).

La baja resistencia de L. monocytogenes a los antibióticos todavía no presenta un riesgo para la salud pública, pero ésta situación podría cambiar. Varios investigadores han sugerido que diferentes especies de Listeria, como L. innocua (la cual ya presenta frecuentes resistencias) podría transferirle ésta información genética a L. monocytogenes. A su vez, Listeria puede adquirir resistencias a partir de otros géneros bacterianos con los que está poco emparentados (Balsalobre y Hernández, 2004).

Otras propiedades:

La dosis infecciosa de L. monocytogenes depende de varios factores, que incluyen el estado inmunológico del hospedador y las características microbianas. La aparición y el curso de la infección pueden depender de los factores de virulencia y de la dosis infecciosa. Debido a la gravedad de la enfermedad, las pruebas con voluntarios humanos son inviables (Doyle, 2001).

Debido a estos factores la dosis mínima requerida para causar infección clínica en humanos no ha sido determinada, sin embargo el gran número de L. monocytogenes detectadas en los alimentos responsabilizados de casos esporádicos y epidémicos de listeriosis (10^6) sugiere que es alta. Niveles de 10^2 a 10^4 células de L. monocytogenes por gramo de alimento han sido asociados con listeriosis en humanos, especialmente en pacientes inmunosuprimidos, ancianos y mujeres embarazadas (Torres y col., 2005).

En cuanto a la resistencia en el medio ambiente, se ha comprobado que sobreviven en suelos húmedos durante 295 días y más (Welshimer, 1960), y más de 8 semanas en agua de estanque (Botzler y col., 1974).

Otra propiedad que posee L. monocytogenes es la capacidad de formar biofilms. Un biofilm consiste en el desarrollo de bacterias, hongos y protozoos, por separado o combinados, unidos por una matriz extracelular que se fija a una superficie sólida o firme (Jay, 2009). Las células en los biofilms pueden persistir en el ambiente y resistir la desecación, luz ultravioleta, y el tratamiento con agentes antimicrobianos y sanitizantes (Borucki y col., 2003). De ésta manera pueden volverse una fuente crónica de contaminación microbiana, alterando los alimentos, o transmitiendo enfermedades (Stepanovi y col., 2004).

Epidemiología:

La listeriosis está dentro del grupo de las enfermedades reemergentes en nuestro país, entendiéndose como tales, aquellas enfermedades ya conocidas, que en un pasado no presentaron un problema para la salud pública, pero que en las últimas décadas han tenido un claro aumento en su incidencia (Conti, 2001).

Listeria se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza. En los animales domésticos la listeriosis tiene principalmente un origen alimentario, al igual que en los humanos (Ramaswamy y col., 2007).

Hábitat y portadores:

Las especies de Listeria están muy extendidas en el medio ambiente. Se han aislado del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, comida animal, pollo fresco y congelado, alimentos frescos y procesados, queso, leche no procesada, desechos de los mataderos, así como del tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. L. monocytogenes se ha aislado de varias especies de mamíferos, aves, peces, crustáceos e insectos. No obstante su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición, en la cual sobrevive y crece como saprofito (Oteo y Alós, 1997).

L. monocytogenes parece ser un residente normal del tracto intestinal de los humanos; esto podría explicar el por qué anticuerpos contra Listeria spp. son comúnmente encontrados en

personas saludables (Farber y P. I. Peterkin, 1991) con una frecuencia que va de menos del 1% hasta el 15% (Jay 2009).

El microorganismo no ha sido aislado en las muestras orofaríngeas de personas sanas, y la presencia del mismo en las muestras cervicovaginales siempre está asociada con la listeriosis relacionada con el embarazo. El papel de los portadores sanos en la epidemiología de la listeriosis es dudoso y da pie para que sea más estudiado (Doyle, 2001).

El estado de portador fecal asintomático es común en el ser humano (hasta 10%) y ha sido mucho más frecuente en trabajadores de rastros y en personal de laboratorio que manipula cultivos de Listeria monocytogenes (Chin, 2001).

Los rumiantes domésticos jugarían un papel clave en el mantenimiento de Listeria en el ambiente rural, a través de un ciclo de enriquecimiento fecal-oral. Se considera que el ganado ovino es el que presenta mayor excreción intestinal de Listeria (Stachi 2007), esto podría deberse a una mayor susceptibilidad por parte de los ovinos, ya que los mismos presentan tasas de incidencia mayores (hasta 30%) que los bovinos (hasta 15%) (Wesley, 2007).

Los cerdos raras veces desarrollan la enfermedad y, generalmente, las aves son portadoras subclínicas del microorganismo (OIE, 2013).

L. monocytogenes también puede estar presente en el cuero y lana de los rumiantes. En Nueva Zelanda el cuero vacuno y la lana ovina parecen ser las mayores fuentes de contaminación de L. monocytogenes para las carcasas (ICSMF 6, 2005). Un estudio realizado en un matadero bovino de la provincia de Parma, Italia, demostró que las heces y el cuero de los bovinos son importantes vehículos para la bacteria, y que las buenas prácticas de faena son fundamentales para reducir la contaminación de las carcasas por la misma (Bonardi y col., 1997).

Vías de transmisión:

A pesar de ser considerada una zoonosis que puede ser transmitida por contacto directo con animales infectados (exposición ocupacional), la mayoría de las infecciones humanas se adquieren por ingestión de alimentos contaminados y de madre a hijo intrauterino o durante el parto (Rossi y col., 2008).

La contaminación alimentaria, tanto en forma de epidemias como de casos esporádicos, en una población de inmunodeprimidos, constituyen los dos factores fundamentales para la presentación de la enfermedad (Cisternas y col., 2002).

Entre los alimentos que pueden causar el trastorno se encuentran leche no pasteurizada y productos lácteos elaborados con leche no pasteurizada, quesos blandos, hortalizas frescas (rábanos, pepinos, col, papas), mariscos crudos y productos derivados del pescado (especialmente pescado ahumado), carnes y productos cárnicos, que incluyen la carne de vaca, de cerdo, de pollo, carne picada, el jamón, los embutidos ahumados y fermentados, el salami, y el paté (Doyle, 2001a).

A pesar de que son muchos los alimentos que pueden contaminarse con L. monocytogenes, los casos están principalmente relacionados con alimentos listos para el consumo (LPC).

Según el Reglamento (CE) 2073/2005 los alimentos listos para el consumo son aquellos destinados por el productor o el fabricante al consumo humano directo sin necesidad de cocinado u otro tipo de transformación eficaz para eliminar o reducir a un nivel aceptable los microorganismos peligrosos (Anónimo, 2005).

Varios brotes han sido asociados con el consumo de éstos alimentos, tales como leche cruda, quesos blandos, pescado ahumado y productos cárnicos y embutidos fileteados (EFSA, 2007).

La enfermedad en rumiantes está asociada a la alimentación con silo que contiene la bacteria. Sobre todo, silos que no han sido conservados en buenas condiciones y sus capas superiores no alcanzan el pH adecuado para inhibir el crecimiento de la bacteria (Stachi, 2007).

En el siguiente cuadro se evidencia como los vegetales crudos, los productos lácteos y las carnes han sido implicados en importantes brotes humanos en el pasado reciente.

Cuadro II: Brotes de listeriosis en el mundo

País	Año	Nº de casos	Nº de muertes	Serotipo	Alimento
Halifax, Canadá	1981	41	18	4 b	Coles
Massachusse ts, USA	1983	49	14	4 b	Leche
Vaud, Suiza	1983-87	122	34	4 b	Queso
California, USA	1985	142	48	4 b	Queso
Reino Unido	1989-90	300	0	4 b	Paté
Francia	1992	279	88	4 b	Lengua de cerdo
Francia	1993	39	0	4 b	Paté de cerdo
Francia	1995	36	0	4 b	Queso blando
Multiestados, USA	1998-99	40	4	4 b	Carne feteada
Finlandia	1988-99	25	6	3 a	Manteca
Francia	1999	29	7	NI	Lengua de cerdo
Multiestados, USA	2000	29	4	4 b	Pavo feteado
Carolina del Norte, USA	2000-01	12	0	4 b	Queso
Multiestados, USA	2002	46	7	NI	Pollo y pavo
Québec, Canadá	2002	17	0	NI	Queso

NI: serovariedad no informada

Fuente: Adaptado de Callejo y col., 2008.

La transmisión de L. monocytogenes del ganado a los humanos se da por contacto directo con los animales, especialmente durante el parto de vacas y ovejas; y el consumo de leche sin pasteurizar. Aparte de la listeriosis humana por contacto directo con animales infectados o por consumir productos de origen animal contaminados, las conexiones entre listeriosis humana y animal son poco claras (Wesley, 2007).

La Organización Mundial de la Salud concluyó que la listeriosis alimentaria es principalmente transmitida por mecanismos no zoonóticos y que L. monocytogenes es un organismo ambiental cuya vía primaria de transmisión a los humanos es por la comida contaminada durante su producción (Wesley, 2007).

Otros mecanismos de transmisión de la listeriosis humana son la vía transplacentaria o por un canal de parto infectado (madre-feto), y la vía perinatal (al neonato durante el nacimiento), con objetos contaminados, o por infecciones cruzadas en las guarderías neonatales (Lorber, 2010). También ha sido implicado el aceite mineral en un brote de listeriosis neonatal, y se han observados infecciones cutáneas primarias sin implicación sistémica como enfermedad profesional en veterinarios y granjeros debido a la manipulación de fetos bovinos o de vacas presuntivamente infectadas (Doyle, 2001).

Estacionalidad

La listeriosis humana es una enfermedad esporádica que se ve durante todo el año, aunque su incidencia máxima ocurre en los meses cálidos (Murray, 2006).

Período de incubación

El período de incubación en humanos de la listeriosis invasiva es entre 20 y 30 días (Riedo y col., 1994), con extremos de 3 a 90 días (Acuña y col., 2002), mientras que para el cuadro de gastroenteritis los síntomas clínicos generalmente comienzan a las 20 horas de ingerido el alimento contaminado (Vázquez y col., 2001).

Período de transmisibilidad

Las madres de los recién nacidos infectados pueden dispersar el agente infeccioso con las secreciones vaginales y la orina de 7 a 10 días después del parto, y rara vez por más tiempo. A pesar de ello, las personas infectadas pueden excretar los microorganismos en las heces durante varios meses (Chin, 2001).

Patogenia

La patogénesis de la infección por Listeria en humanos y animales es aún poco entendida. La mayor parte de la información con la que se cuenta deriva de observaciones hechas en animales de experimentación. Como la comida contaminada es la mayor fuente de infección tanto para casos epidémicos como esporádicos, el tracto gastrointestinal es la principal vía de entrada para este patógeno al hospedero (Vázquez y col., 2001).

Esta bacteria es capaz de atravesar las tres barreras fisiológicas: intestinal, hemato-encefálica y placentaria. Al cruzar la barrera intestinal, la bacteria es absorbida desde la luz intestinal, atravesando el epitelio, y si el sistema inmune no controla la infección, el patógeno se disemina a la corriente sanguínea y los ganglios linfáticos mesentéricos. Luego, L.

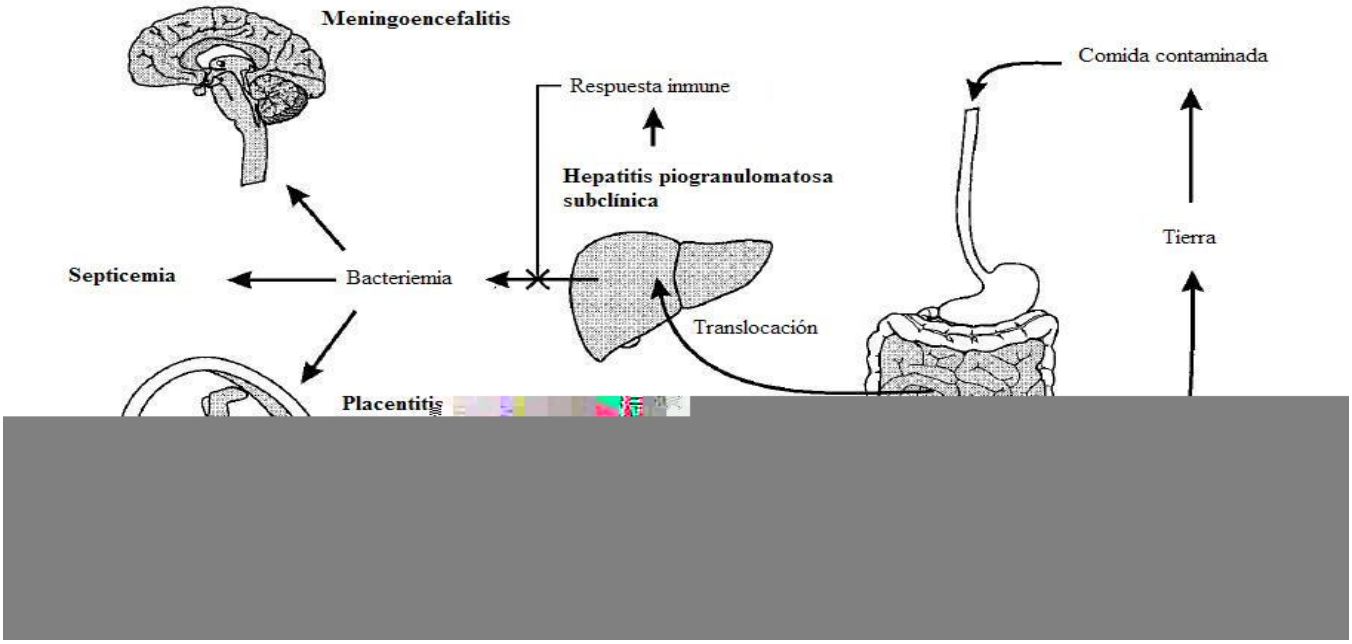
monocytogenes llega al hígado y al bazo, donde se replica, preferentemente dentro de macrófagos y células epiteliales (Camejo y col., 2011).

Durante las etapas tempranas de colonización hepática, los polimorfonucleares son reclutados en los sitios de infección (hepatitis piogranulomatosa subclínica), en respuesta a la liberación de quimioatractantes por parte de los hepatocitos (Torres y col., 2005).

Si la replicación no es contenida por la inmunidad innata del hospedero, la bacteria es capaz de escapar y continuar replicándose. Por lo tanto, la supervivencia del hospedero es dependiente de una efectiva respuesta inmune adaptativa, la cual en caso de fallar, le permitirá a la bacteria reingresar al torrente sanguíneo y alcanzar el cerebro (meningoencefalitis) o la placenta (placentitis), causando una infección sistémica potencialmente fatal (Camejo y col., 2011).

Con la capacidad de multiplicarse en el citosol de la célula hospedadora y diseminarse de célula a célula, L. monocytogenes puede difundirse por los tejidos del hospedero y a su vez protegerse contra la inmunidad humoral del mismo (Ramaswamy y col., 2007).

Figura III: Representación esquemática de la fisiopatogenia de L. monocytogenes



Fuente: Adaptado de Vázquez y col., 2001.

Principales factores de virulencia

El proceso de infección comprende varias etapas: adhesión e invasión de la célula hospedadora, escape de la vacuola, multiplicación intracelular y propagación intercelular (Chen y col., 2009), en las cuales actúan diferentes factores de virulencia como se muestran en el siguiente cuadro:

periferia y formar un pseudópodo (listeriopodo) que facilitará la infección de otra célula vecina. Estos pseudópodos son fagocitados por las células vecinas, resultando en fagosomas secundarios con una doble membrana (la interna de la célula donante y la externa de la nueva célula hospedera) los cuales son rápidamente lisados por LLO, PC-PLC y PI-PLC, para luego comenzar un nuevo ciclo (Liu y col., 2007, Vázquez y col., 2001, de las Heras y col., 2011).

Otros factores vinculados a la virulencia son la proteína p60 y los mediadores de respuesta al estrés (ClpC, ClpE y ClpP).

La proteína p60 es una proteína de 60 kDa codificada por el gen iap, está presente en todas las especies de Listeria, es una hidrolasa murámica y tiene un rol fundamental en la división celular (Wuenscher y col., 1993).

ClpC es una proteína codificada por el gen clpC y perteneciente a una familia de proteínas vinculadas a la tolerancia al estrés (HSP-100/Clp) en muchos organismos procariotas y eucariotas, en L. monocytogenes favorece la salida temprana de los fagosomas de los macrófagos, mejorando la supervivencia intracelular (Rouquette y col., 1998), también facilita la propagación célula a célula (de las Heras y col., 2011).

ClpE es codificada por el gen clpE y pertenece a la misma familia que ClpC, actuando en sinergismo con ésta en la división celular, ambas jugando un papel fundamental tanto en la virulencia como en la división celular (Nair y col., 1999).

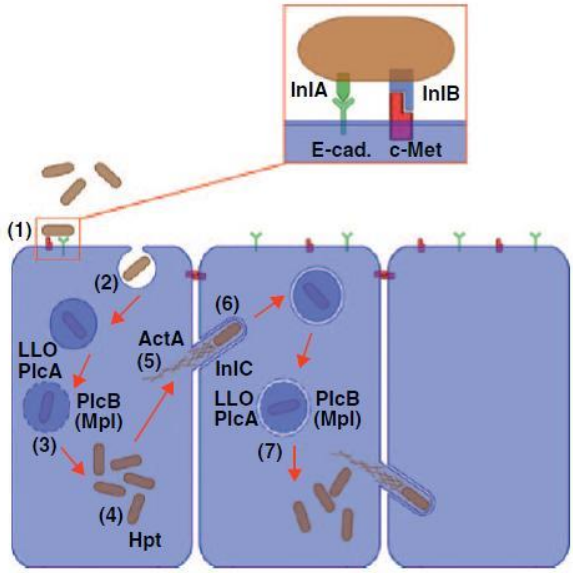
Por último, y también perteneciente a la familia HSP-100/Clp está la proteína ClpP, de unos 21.6 kDa y codificada por el gen clpP. La misma cumple un rol fundamental en lograr una rápida respuesta adaptativa intracelular por parte de L. monocytogenes en el proceso infeccioso, lo cual se ha demostrado evidenciando la reducida actividad de LLO en mutantes carentes del gen clpP (Galliot y col., 2000).

Regulación de la virulencia

Listeria monocytogenes pasa de organismo saprofito a parásito intracelular cuando invade a un hospedero, de esta manera evita la producción de factores de virulencia cuando no son necesarios (estado de saprofito), maximizando la sobrevivencia de la bacteria en su vida extracelular. Esto requiere la regulación de los principales genes de virulencia (plcA, hly, mpl, actA, plcB, inlA, inlB, inlC, hpt), la misma tiene como actor central a la proteína PrfA, la cual puede activar o reprimir la expresión de dichos genes (de las Heras y col., 2011).

PrfA es un homodímero con dos dominios, el dominio N-terminal y el dominio C-terminal, el cual tiene forma de hélice y es donde se establece el contacto con el ADN. Este contacto se da en un sitio específico del ADN, activando la transcripción para los factores de virulencia (Scortti y col., 2007). Se ha descripto que PrfA puede regular los nueve genes de virulencia ya mencionados, además de 145 genes no relacionados con virulencia (de las Heras y col., 2011).

Figura IV: Ciclo intracelular de L. Monocytogenes



(1) Adhesión a la célula hospedera y (2) entrada facilitada por las internalinas (InlA, InlB). (3) Lisis de la vacuola fagocítica por acción de listeriolisina (LLO) y fosfolipasas (PlcA y PlcB, ésta última activada por Mpl luego de su secreción). (4) Translocación de derivados hexosa fosfatos de la célula hospedera hacia la bacteria por acción de Hpt, lo cual deriva en una rápida multiplicación bacteriana. (5) Polimerización de actina mediada por ActA y propulsión de la bacteria en el citoplasma. (6) Relajación de las uniones intercelulares por parte de InlC e invasión de pseudópodos. (7) Fagocitosis de éstas estructuras resultando en vacuolas de doble membrana, de las cuales Listeria escapa y comienza un nuevo ciclo. (Adaptado de de las Heras y col., 2011).

Características clínicas de la listeriosis en humanos

La listeriosis clínicamente se define cuando el organismo es aislado de la sangre, líquido cerebroespinal, u otros tejidos normalmente estériles (Ramaswamy y col., 2007).

Dos formas básicas de presentación de listeriosis pueden distinguirse: listeriosis perinatal (siempre invasiva) y listeriosis en el paciente adulto (invasiva y no invasiva) (Torres y col., 2005).

A su vez, la listeriosis neonatal tiene dos formas clínicas de presentación: la listeriosis de comienzo temprano (en los dos días posteriores al parto) una enfermedad septicémica con transmisión vertical desde la madre al feto y la enfermedad tardía (cinco o más días del parto) generalmente meningítica. Las formas de transmisión en la enfermedad de inicio tardío son poco conocidas, pudiendo ser el resultado de una transmisión durante el paso por el canal del parto, contacto con la madre durante el periparto o el resultado de una transmisión nosocomial indirecta con casos de enfermedad de comienzo temprano a través de personas o equipo hospitalario (Lepe y Jiménez, 2012).

La listeriosis neonatal de inicio temprano se asocia con aborto espontáneo, nacimiento prematuro, bajo peso al nacer, bronconeumonia, septicemia o muerte del recién nacido por una infección diseminada conocida como granulomatosis infantiséptica, caracterizada por la presencia de microabscesos piogranulomatosos diseminados en hígado, bazo y vellosidades

coriónicas; con mortalidad del 35 al 10%. Los síntomas generalmente incluyen dolor pulmonar, debilitamiento del corazón, deficiencias respiratorias, cianosis, vómito, convulsiones y descarga temprana del meconio. Los síntomas de la madre son similares a los de una influenza con fiebre o infección urinaria en las semanas que preceden al parto (Torres y col., 2005).

En menor frecuencia se observa la listeriosis neonatal tardía (10-15% de los casos perinatales), involucra síndrome febril acompañado por meningitis y en algunos casos gastroenteritis y neumonía, presumiblemente como resultado de aspiración de exudados maternales contaminados durante el parto, aunque se han reportado casos en donde la enfermedad es adquirida mediante transmisión horizontal por fomites o personal médico en unidades neonatales (Torres y col., 2005).

En el paciente adulto las manifestaciones clínicas de la listeriosis pueden ser divididas en dos grupos: listeriosis invasiva y no invasiva. La listeriosis invasiva se da en los casos en los cuales la infección inicial en el tejido intestinal se disemina hacia otros tejidos estériles, como por ejemplo el útero grávido (placentitis), el sistema nervioso central (meningoencefalitis), la sangre (septicemia), o combinaciones de éstos, y se asocia con individuos inmunocomprometidos. Por otra parte, la listeriosis no invasiva se manifiesta en forma de gastroenteritis, con diarrea, fiebre, dolores de cabeza y mialgia, y está asociada a individuos sanos que consumieron grandes dosis de L. monocytogenes (WHO/FAO, 2004).

L. monocytogenes es una de las principales causas de meningitis adquirida. Clínicamente, la meningitis por Listeria se presenta con un cuadro de fiebre, cefalea y alteraciones de conciencia. La presentación suele ser brusca o subaguda. Con frecuencia se observan convulsiones, mioclonías y otros signos como ataxia, hemiparesia y parálisis de pares craneales. Estas manifestaciones pueden llegar a presentarse en el 39% de los enfermos y con frecuencia son expresión de romboencefalitis, una alteración del tronco cerebral característica de la infección por Listeria que usualmente coexiste con la inflamación meníngea (Julián y col., 2001).

La sepsis primaria causada por L. monocytogenes a menudo presenta un curso fulminante, en particular en personas gravemente inmunocomprometidas (Julián y col., 2001), y si el paciente se salva puede sufrir infecciones focales en otros órganos (endocarditis, artritis séptica, osteomielitis, peritonitis, hepatitis, etc.) (Domínguez, 2010).

Las infecciones cutáneas por L. monocytogenes son raras. Por lo general se manifiestan en personas saludables en forma de erupciones papulopustulares o vesículopustulares no dolorosas, no pruríticas, auto limitantes y localizadas. Esta forma cutánea es considerara como una enfermedad profesional, ya que en su mayoría la padecen veterinarios y granjeros que tuvieron contacto con material infectado durante el parto de los animales (Godshall y col., 2013).

En un hospedero con inmunidad normal la Listeria monocytogenes produce infección asintomática de la mucosa faríngea y digestiva, y posteriormente puede permanecer como agente colonizador del tracto digestivo (Cisternas y col., 2002).

Cuadro IV: Tipos de infección

Tipo de infección	Período de incubación	Síntomas
Zoonótica	1-2 días	Lesiones cutáneas leves, localizadas y autolimitantes
Neonatal (vertical y horizontal)	1-2 días	Pueden ser graves, resultando en meningitis y muerte
Infección de la madre durante el embarazo por comida contaminada	1 día a varios meses	Parecidos a una gripe leve o asintomática en la madre pero con consecuencias severas para el feto (aborto espontáneo, mortinatos y meningitis)
Listeriosis adquirida por personas no embarazadas a través de alimentos contaminados	1 día a varios meses	Enfermedad asintomática o leve que puede progresar hacia una infección del SNC como la meningitis. Es más común y severa en personas inmuno-comprometidas y ancianos
Infección alimentaria por consumo de alimentos con altos niveles de L. Monocytogenes (>10^7 por gramo)	< 24hs	Vómitos y diarrea, a veces puede progresar hacia una septicemia, pero por lo general es autolimitante

Fuente: Adaptado de Bell, 2002

Características clínicas de la listeriosis en los animales

En los animales, las manifestaciones clínicas de la listeriosis incluyen encefalitis, septicemia y aborto, especialmente en ovejas, cabras y vacas. La forma septicémica es relativamente poco común y por lo general, se produce en el recién nacido. Se caracteriza por depresión, inapetencia, fiebre y

en una dirección, y es la manifestación más común de la enfermedad en los rumiantes. Los síntomas comprenden depresión, anorexia, caída de la cabeza o torcimiento de la cabeza hacia un lado, parálisis facial unilateral y queratoconjuntivitis bilateral. El aborto se produce, por lo general, en la última etapa (después de 7 meses en vacas y 12 semanas en ovejas). Normalmente sólo tiene lugar una forma clínica de listeriosis en un grupo particular de animales. También se ha descrito la oftalmitis ovina. Asimismo, se asocia la mastitis de rumiantes con la infección por L. monocytogenes. Cuando se produce listeriosis en cerdos, la manifestación primaria es septicemia, son menos frecuentes los casos de encefalitis y raros los abortos. Aunque las aves son portadoras subclínicas habituales, se han descrito casos esporádicos de listeriosis, siendo más frecuente la septicemia y mucho menos común la aparición de meningoencefalitis. La listeriosis aviar puede ser el resultado de una infección secundaria en condiciones de enfermedad vírica y salmonelosis (OIE, 2013).

Diagnóstico/ Aislamiento en alimentos

Dado que la siembra directa no suele tener éxito en el aislamiento de este microorganismo de los alimentos, los procedimientos habituales incluyen un enriquecimiento selectivo, seguido de aislamientos en agar selectivo (de Boer, 2009).

Los métodos convencionales para el aislamiento de L. monocytogenes a partir de alimentos que han ganado aceptación con propósitos reglamentarios internacionales son el método de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), el método oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC), los Estándares ISO 11290, el método del Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y los Estándares franceses (OIE, 2013).

En todos los diferentes medios de enriquecimiento Listeria monocytogenes no crece bien si están presentes otras Listeria spp. El procedimiento de enriquecimiento para Listeria monocytogenes suele incluir un enriquecimiento primario y otro secundario. El caldo para enriquecimiento primario o previo contiene pequeñas cantidades de agentes selectivos para permitir la resucitación de las células dañadas. El medio de enriquecimiento utilizado comúnmente contiene acriflavina, ácido nalidíxico y cicloheximida como agentes selectivos, con fosfato como sistema tampón. Algunos pocos medios contienen cloruro de litio como agente selectivo adicional y piruvato sódico para favorecer la resucitación de las células dañadas (de Boer, 2009).

Dependiendo de la naturaleza de la muestra, un método puede ser más adecuado que otro. Los métodos de la FDA y de la AOAC pueden utilizarse para el análisis de la leche y los productos lácteos. El método del USDA-FSIS se recomiendo para la carne roja y la carne de ave (cruda o lista para comer), los huevos y derivados y las muestras medioambientales (OIE, 2013). La principal diferencia entre el método de la FDA y el del USDA es que éste último utiliza un enriquecimiento de 2 etapas, mientras que el primero lo hace en una etapa (Donelly y col., 1992).

Los materiales necesarios para el aislamiento de L. monocytogenes en productos cárnicos según USDA-FSIS son:

- Caldo University of Vermont modificado (UVM)
- Caldo Fraser (FB)
- Agar Oxford Modificado (MOX)
- Agar sangre de caballo con una sobrecapa de agar (HL o HBO)
- Agar tripticasa soja con 5% de sangre de oveja (TS-SBA)
- Agar tripticasa soja extracto de levadura (TSA-YE)
- Caldo cerebro, corazón infusión (BHI)
- Kit de pruebas bioquímicas capaz de identificar Listeria monocytogenes (ejemplo: Galería API Listeria, bioMerieux, MICRO-ID, VITEK 2 Compact o equivalente)
- Test de identificación genética: Kits de hibridación de DNA para Listeria monocytogenes (Gene Trak, GenProbe o equivalente)
- Estufa de esterilización
- Autoclave
- Balanza electrónica capaz de pesar 25 g +/- 0.1 g
- Estufa de incubación a 30 °C +/- 2 °C

- Estufa de incubación a 35 °C +/- 2 °C
- Estufa de incubación a 20 °C ó 25 °C +/- 2 °C
- Vórtex
- Stomacher
- Bolsas para stomacher con o sin filtro de capacidad adecuada.
- Ansa de platino o níquel de aproximadamente 3 mm de diámetro ó 10 l.
- Aguja de inoculación.
- Peachímetro calibrado con exactitud de 0.1 unidad de pH de 20 °C a 25 °C.
- Pipetas graduadas o automáticas de 1 ml y de 100 l de capacidad nominal.
- Tubos o frascos de capacidad apropiada
- Placas de Petri de vidrio o plástico.
- Cepa de Listeria monocytogenes como control positivo: pueden ser ATCC 19111, NCTC 7973 u otro cultivo de Listeria monocytogenes validado
- Cepa de Listeria innocua como control negativo: puede ser ATCC 33090 u otro cultivo de Listeria innocua validado.
- Otras cepas de Listeria spp. Como L. seeligeri, L. grayi y L. ivanovii se pueden requerir como controles para pruebas confirmatorias adicionales.
- Cepas de Staphylococcus aureus ATCC 25923 ó ATCC 4944 y Rhodococcus equi ATCC 6939 para realizar el test de CAMP tradicional.

Fuente: ReNaLOA, 2011.

Los pasos a seguir son los siguientes:

1. Preparación de la muestra

Los envases intactos de las muestras deben ser desinfectados en el sitio de la incisión inmediatamente antes de realizar la misma para la toma de muestra. Para la desinfección se puede utilizar: peróxido de hidrógeno al 3 %, etanol al 70 %, o isopropanol al 70 %. Si el envase no parece estar limpio lavar antes de la desinfección con agua y jabón y luego enjuagar.

2. Primer enriquecimiento en caldo UVM

Pesar 25 g de la muestra en una bolsa de stomacher, agregar 225 ml de caldo UVM y homogeneizar durante 2 minutos ± 0.2 minutos en Stomacher. Incubar durante 22 h ± 2 h a 30 ºC ± 2º C. Incluir un control positivo y un medio sin inocular como controles, por cada grupo de muestras analizadas.

3. Segundo enriquecimiento en caldo Fraser y siembra en placa directamente del caldo UVM

3.1. Transferir 0.1 ml ± 0.02 ml del caldo UVM obtenido en 2 a 10 ml ± 0.5 ml de caldo Fraser (FB) e incubar a 35 ºC ± 2 ºC durante 26 h ± 2 h.

3.2. Sembrar una ansada o una gota de aproximadamente 0.1 ml del caldo UVM obtenido en el punto 2 sobre la superficie del agar MOX y con un ansa estriar desde la zona hisopada el resto del agar para obtener colonias aisladas. Incubar a 35 ºC +/- durante 2 ºC durante 26 h +/- 2 h.

4. Observación de las placas de agar MOX sembradas directamente con caldo UVM y siembra del caldo Fraser en placas de agar MOX

4.1. Examinar las placas del punto 3.2 después de la incubación para la determinación de la presencia de colonias típicas de Listeria spp. Las colonias típicas son pequeñas (aproximadamente 1mm) y rodeadas por un halo de oscurecimiento debido a la hidrólisis de la esculina.
4.2. Seleccionar las colonias sospechosas y sembrar en agar HL, como se describe en el punto 6.1.
4.3. Si no se evidencian colonias sospechosas, reincubar las placas de agar MOX por 26 h +/- 2 h más.
4.4. Examinar después de la incubación los tubos con caldo Fraser para la visualización de un oscurecimiento del caldo debido a la hidrólisis de la esculina.
4.5. Si se evidencia oscurecimiento, sembrar asépticamente 0.1 +/- 0.02 ml de caldo Fraser en agar MOX. Estriar o hisopar el 25% - 40% de la superficie del agar y luego con un ansa estriar desde la zona hisopada el resto del agar para obtener colonias aisladas. Incubar a 35 ºC +/- 2 ºC durante 26 h +/- 2 h.
4.6. Si no se evidencia oscurecimiento, reincubar los tubos con caldo Fraser a 35 ºC +/- 2 ºC durante 26 h +/- 2 h.

5. Observación de las placas de agar MOX y siembra del caldo Fraser de 48 h en placas de agar MOX

5.1. Examinar y seleccionar colonias sospechosas de cualquiera de las placas de agar MOX del análisis (ejemplo las placas de MOX estriadas desde el caldo Fraser de 26 h +/- 2 h y/o UMV).
5.2. Re-examinar el caldo Fraser para evidenciar la presencia de oscurecimiento después de 48 h +/- 2 h de incubación.
5.3. Si evidencia oscurecimiento, hisopar, estriar e incubar en placas de agar MOX.
5.4. Si no se evidencia oscurecimiento y no se observan colonias sospechosas en las placas de agar MOX o HL, la muestra se considera negativa para Listeria monocytogenes.

6. Aislamiento y purificación

6.1. Seleccionar las colonias sospechosas en las placas de agar MOX y con un ansa tocar como mínimo 20 colonias (si hay disponibles), y estriar por agotamiento en superficie en placas de agar HL para obtención de colonias aisladas. Incubar las placas a 35 ºC +/- 2 ºC durante 22 h +/- 4 h.
6.2. Después de la incubación examinar las placas de agar HL a contra luz para observar colonias translúcidas rodeadas por un pequeño halo de -hemólisis.
6.3. Si al menos una colonia sospechosa está claramente aislada, proceder con el test de confirmación (Conservar las placas a temperatura ambiente o en heladera hasta completar el test de confirmación).
6.4. Si hay colonias sospechosas con -hemólisis pero no están aisladas, reaislar las colonias en un nuevo agar HL.
6.5. Si no se evidencian colonias sospechosas en ninguna de las placas de agar HL, la muestra se considera negativa para Listeria monocytogenes.

7. Confirmación y otros procedimientos de identificación

La identificación y confirmación de Listeria monocytogenes consiste en pruebas de confirmación preliminar, pruebas bioquímicas, test de CAMP y en algunas situaciones se requiere de tests genéticos

7.1. Test de confirmación preliminar: a partir de una colonia aislada en agar HL inocular caldo BHI y, opcionalmente, inocular una placa fresca de agar HL para confirmar la pureza de la colonia. A partir de esa misma colonia inocular los medios para realizar las pruebas bioquímicas (agar HL, TSA-YE ó TS-SBA o equivalentes). Como mínimo una colonia debe ser confirmada. Si la colonia sospechosa seleccionada en el agar HL no es confirmada como L. monocytogenes, se debe realizar la confirmación a otras colonias, si hay disponibles, hasta que al menos 3 colonias sospechosas den la confirmación negativa.

7.2. Prueba de la movilidad (opcional): inocular el caldo BHI, incubar 16 h 18 h a 18 ºC 25 ºC. Si no se evidencia crecimiento, reincubar hasta que se observe crecimiento o hasta un máximo de 48 h. Luego de la incubación, depositar una gota del cultivo entre porta y cubre objeto bien limpio, y examinar en el microscopio. Listeria spp. Aparece

(tumbling).

7.3. Coloración de Gram: realizar la coloración de Gram. Listeria spp. Se presenta como bacilos Gram positivos cortos y delgados.

7.4. Prueba de catalasa: tomar una colonia aislada y suspender en una gota de solución de peróxido de hidrógeno en un portaobjeto. Listeria spp. da una reacción positiva que se evidencia por la formación inmediata de burbujas de gas.

Nota: Si la morfología y la movilidad no es característica de Listeria spp. y el cultivo es puro, informar Listeria monocytogenes negativo. Si la morfología y la movilidad es característica de Listeria spp. y el cultivo es puro, continuar con las pruebas bioquímicas para la confirmación de Listeria monocytogenes.

7.5. Pruebas bioquímicas: a partir de colonias aisladas en agar HL, TSA-YE o TS-SBA o equivalentes, realizar la confirmación bioquímica mediante la galería de API Listeria bioMérieux, MICRO-ID, VITEK 2 Compact o equivalente (siguiendo las instrucciones del fabricante) o mediante pruebas bioquímicas en tubo.

7.6. Prueba de CAMP (Figura V)

7.6.1. En una placa de agar TS-SBA estriar en forma paralela una línea simple de S. aureus ATCC 25923 ó ATCC 4944 y otra línea simple de Rhodococcus equi ATCC 6939, separados entre si 3-4 cm. Utilizar un ansa o aguja de inoculación.

7.6.2. Estriar los cultivos test en una línea simple y perpendicular, entre las dos líneas de cultivos de referencia. Las líneas de cultivo test deben estar separadas de las de referencia 2-4 mm. Durante el estriado, las líneas test y referencia no se deben tocar para evitar contaminación cruzada.

7.6.3. Simultáneamente estriar cultivos controles de L. monocytogenes, L. innocua y L. ivanovii.

7.6.4. Incubar 24 h +/- 2 h a 35 ºC.

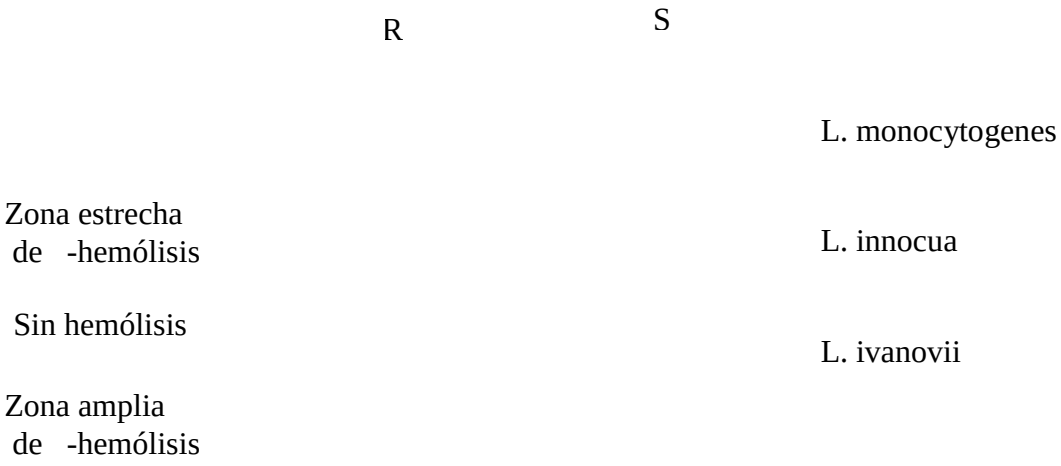
7.6.5. Se considera reacción positiva una zona acrecentada de -hemólisis en la intersección de los cultivos test y los cultivos de S. aureus y R. equi.

7.6.6. Una reacción positiva para R. equi se ve como una amplia zona (5 a 10 mm) en

como una pequeña zona (alrededor de 1 mm) de hemólisis débil en la intersección del cultivo test con la zona de difusión de R. equi.

7.6.7. Una reacción positiva para S. aureus se ve como una pequeña zona de hemólisis acrecentada, que se extiende alrededor de 3 a 4 mm del cultivo test y dentro de la zona de hemólisis débil debida al crecimiento del cultivo de S. aureus. No ocurre una zona grande de -hemólisis en la proximidad de las áreas entre S. aureus y L. monocytogenes.

Figura V: Prueba de CAMP



Fuente: Adaptado de ReNaLOA, 2011.

8. Interpretación bioquímica (Cuadro V)

Especie	Hemólisis	Producción de ácido		Test de CAMP	
		ramnosa	xilosa	S. aureus	R. equi
L. monocytogenes	+	+	-	+	-
L. innocua	-	V	-	-	-
L. ivanovii	+	-	+	-	+
L. seeligeri	(+)	-	+	(+)	-
L. welshimeri	-	V	+	-	-
L. grayi sub. grayi	-	-	-	-	-
L. grayi sub. murrayi	-	V	-	-	-

V: reacción variable
(+): reacción positiva débil
+: > del 90% reacciones positivas
-: reacción negativa

Nota: existen algunas cepas raras de L. monocytogenes que no dan -hemólisis y dan reacción de CAMP negativa

9. Test de identificación genética

Los test de identificación genética pueden ser utilizados como test confirmatorios para todas las cepas de Listeria monocytogenes identificadas por pruebas bioquímicas. Sin embargo, pueden ser requeridos para identificar cepas atípicas sospechosas de ser L. monocytogenes. En algunos casos no se pueden diferenciar las cepas de L. monocytogenes de las cepas de L. innocua por pruebas fenotípicas, en particular para L. monocytogenes -hemolíticas ramnosa negativa y fosfolipasa C negativa. En otros casos, una L. monocytogenes débilmente hemolítica puede ser confundida como L. innocua (además existen las cepas de L. innocua - hemolíticas).

10. Expresión de los resultados

De acuerdo a los resultados de 8 y 9 (en caso de realizarse) indicar presencia o ausencia de

El tratamiento de los neonatos puede limitar las secuelas y el tratamiento de la bacteriemia materna durante la gestación puede evitar la infección neonatal (Cisternas y col., 2002).

En infecciones graves se recomienda administrar como fármacos iniciales ampicilina y un aminoglucósido (sulfato de gentamicina). Después de que se manifiesta la respuesta clínica, o en infecciones menos graves en hospedadores inmunocompetentes, se puede administrar ampicilina sola. Si el paciente es alérgico a la penicilina, otro fármaco al que cabe recurrir es trimetoprim-sulfametoxazol (Pickering, 2005), sin embargo, se han observado resistencias a trimetoprim y las tetraciclinas (Murray, 2006).

En el caso de infecciones invasoras sin meningitis acompañante, es satisfactorio el tratamiento durante 10 a 14 días. Si surge meningitis por el microorganismo, casi todos los expertos recomiendan 14 a 21 días de tratamiento. Se necesitan ciclos más largos (4 a 6 semanas) en pacientes muy graves o que padezcan endocarditis o romboencefalitis (Pickering, 2005).

Recomendaciones generales para la prevención y control de Listeria monocytogenes

Las siguientes estrategias pueden ayudar a prevenir o reducir el riesgo de listeriosis

					subproductos, quesos, embutidos y otros alimentos como gelatina de carne

*: Datos en base a brotes
Fuente: Adaptado de EFSA 2010, 2011, 2012, 2013, 2014.

Con el fin de alcanzar una mayor detección de brotes y un análisis de la tendencia de la listeriosis en 2002 se creó en Europa un grupo de expertos para el estudio de las infecciones por L. monocytogenes. El mismo estaba integrado por 17 países, de los cuales 10 contaban con un sistema de notificación obligatoria: Bélgica, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Islandia, Italia, Noruega, Suecia y Suiza. De los 7 países restantes, 6 notificaban de forma voluntaria: Grecia, Irlanda, Inglaterra, Gales, Escocia y España. Únicamente Portugal carecía de un sistema de vigilancia epidemiológica nacional (de Valk y col., 2005).

En el 2003 el grupo de expertos publicó las siguientes recomendaciones:

- Crear una red europea de vigilancia epidemiológica de infecciones por listeria (Listernet) (la cual todavía no ha entrado en efecto)
- Objetivos de Listernet:
    1. Detectar rápidamente los brotes internacionales
    2. Notificar y aportar información sobre los brotes nacionales (de un país) o de los brotes potencialmente internacionales
    3. Colaborar en la investigación de brotes internacionales
    4. Proporcionar los datos comparativos para monitorizar tendencias de importancia internacional en: Incidencia de la listeriosis, características de los casos y características de los serotipos
    5. Contribuir a la consolidación de la vigilancia nacional de los países participantes
    6. Contribuir a estimar la mortalidad y la morbilidad de la listeriosis
    7. Contribuir a la monitorización y evaluación de las medidas preventivas y de control y comparar las tendencias entre los países participantes
- Desarrollar una base de datos europea que utilice una definición común de caso, que contenga unos datos mínimos y que incluya resultados harmonizados por cultivo en electroforesis en gel en campo pulsante (PFGE)
- Reforzar los sistemas nacionales de vigilancia y adaptarlos para su participación gradual en Listernet
- La transmisión de los perfiles de PFGE o la transmisión de las cepas
- Focalización en la listeriosis humana
- Componentes del proyecto Listernet:
    1. Establecer procedimientos estándares de laboratorio para el serotipado y la PFGE y una garantía de la calidad externa
    2. Detección de brotes
    3. Investigación de brotes
    4. Principios de colaboración

5. Investigación epidemiológica de la resistencia a antibióticos

- Puesta en marcha del proyecto para la UE

(de Valk y col., 2003)

Actualmente la notificación de listeriosis humana es obligatoria en la mayoría de los Estados Miembros (EMs), solamente en Bélgica, España y Reino Unido la notificación está basada en un sistema voluntario. Todavía no existe un sistema de vigilancia en Portugal. Los sistemas de vigilancia de cada EM cubren a todo el territorio nacional, excepto en el caso de España, en donde la cobertura estimada es del 25%. El diagnóstico de listeriosis humana generalmente se hace a partir de cultivos de sangre, líquido cerebro-espinal o hisopados vaginales (EFSA, 2012).

En lo que respecta a los alimentos, Listeria es de notificación obligatoria en Austria, Bélgica, Estonia, Francia, Alemania, Hungría, Italia, Letonia, Países Bajos, Eslovaquia, Eslovenia y España, sin embargo otros EMs también registran datos. En Enero de 2006 entró en vigencia el Reglamento (CE) No 2073/2005 de la Comisión, del 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, el cual establece los criterios sobre inocuidad alimentaria para L. monocytogenes en alimentos listos para el consumo. La vigilancia en estos alimentos se hace en la mayoría de los EMs (EFSA, 2012).

El panorama en la región

En Argentina, se han documentado numerosos abortos naturales por Listeria incluso mucho antes de que se conociera su transmisión por alimentos. Sin embargo, no se han descrito ni brotes alimentarios ni casos esporádicos de listeriosis en los que se haya identificado el alimento, en los últimos 30 años. La enfermedad no es de notificación obligatoria (Michanie, 2004).

El Código Alimentario Argentino (C.A.A) exige en quesos de mediana, alta y muy alta humedad ausencia de Listeria monocytogenes en 25g de muestra. En el caso de los productos cárnicos y afines el C.A.A exige ausencia de L. monocytogenes en 25g de muestra para las salazones cocidas y crudas, así como también para los chacinados embutidos secos y cocidos, y los chacinados no embutidos cocidos. No están considerados dentro de ésta exigencia los chacinados embutidos frescos y los chacinados no embutidos frescos (ANMAT, 2014).

En Brasil, no se describen brotes por L. monocytogenes, lo que se ha atribuido a la notificación incompleta y subdiagnóstico de este agente en los alimentos. Sin embargo se han descrito varios casos de listeriosis pero ninguno relacionado con alimentos (de Souza, 2014).

Brasil cuenta con varias leyes que tratan los procesos de control de calidad para garantizar la seguridad del producto. Dentro de éste marco legal encontramos la Resolución RDC n^{o} 12, de 2 de Enero de 2001 que aprueba el Reglamento Técnico sobre Patrones Microbiológicos para Alimentos; y la Instrucción Normativa n^{o} 9 de 9 de abril de 2009. La primera tiene como objetivo regular todos los productos que necesitan la investigación de Listeria, exigiendo la ausencia de la misma en 25 g o ml del producto. La segunda trata sobre los procedimientos de control de L. monocytogenes en productos de origen animal prontos para el consumo, y tiene como objetivo garantizar el control y la seguridad de dichos productos y de la totalidad de alimentos de origen animal que se ofrecen a la venta en condiciones para su consumo inmediato y sin más tratamiento (de Souza, 2014).

En Chile sólo a partir del año 2008 ha habido informes de casos de listeriosis transmitida a través de los alimentos, si bien ya había sido diagnosticada su presencia en casos clínicos. Esto se debe a que en ese año el país sufrió un grave brote de listeriosis por consumo de quesos blandos, en dicho brote se identificaron 119 casos y 5 muertes (Schöbitz y col., 2009).

La escasa información sobre la prevalencia de este patógeno a nivel de la industria de alimentos en Chile se debe en parte a que la detección en alimentos no estaba incluida en el Reglamento Sanitario de Alimentos, solamente se controlaban los alimentos de exportación (Schöbitz y col., 2009). Ésta situación cambia a partir de 2009 a través del decreto n^{o} 63, artículo 1^{o} del Ministerio de Salud que modifica el Reglamento Sanitario de los Alimentos incorporando muestreos de L. monocytogenes a los alimentos listos para el consumo (MinSal, 2009). La vigilancia epidemiológica en Chile de esta patología es de laboratorio, a través del Instituto de Salud Pública, no siendo obligatoria la notificación de casos clínicos (Alcayaga y Hott, 2008).

En nuestro país la vigilancia epidemiológica de las ETA se realizaba a través del Sistema VETA (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de las ETA). El mismo era un sistema de información simple, oportuno, continuo, de las enfermedades adquiridas por el consumo de alimentos y/o agua, que incluía la investigación de los factores determinantes y los agentes causales de la entidad, así como el establecimiento del diagnóstico de la situación, permitiendo la formulación de estrategias de acción para la prevención y control (Acuña y col., 2002).

El Sistema VETA en Uruguay se inició en 1995 involucrando diferentes actores: Ministerio de Salud Pública (MSP), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Universidad de la República, a través de distintas Facultades: Medicina, Química, Agronomía, Veterinaria, Ciencias; Laboratorio Tecnológico del Uruguay; Obras Sanitarias del Estado, responsable de la prestación del servicio de agua potable en toda la República y de alcantarillado (en toda la República, exceptuando Montevideo) (Acuña y col., 2002). Sin embargo, éste sistema no registró ningún caso esporádico o brote de listeriosis en nuestro territorio vinculado a los alimentos, y actualmente se encuentra en desuso. La Unidad de Vigilancia en Salud Pública (UVISAP) del MSP es quien lleva los registros sobre listeriosis en nuestro territorio, pero la misma no cuenta con una base de datos de acceso público a dichos registros.

Normativa existente en nuestro país

La listeriosis en Uruguay está contenida dentro del grupo A de enfermedades y eventos de declaración obligatoria del Código Nacional sobre Enfermedades y Eventos Sanitarios de Notificación Obligatoria. Éste grupo está conformado por una serie de enfermedades, dentro de las cuales encontramos a las enfermedades transmitidas por los alimentos, cuya notificación debe ser de forma inmediata en el día por la vía de comunicación más rápida disponible (Uruguay, 2004). Dicha notificación deberá hacerse a la UVISAP, para lo cual existe un protocolo a seguir en la Guía ETA del MSP (MSP, 2006).

La normativa alimentaria uruguaya está basada en el Reglamento Bromatológico Nacional (R.B.N), Decreto N^{o} 315/994 del 05/07/1994. Éste documento originalmente no hacía referencia a L. monocytogenes en carnes y productos cárnicos (Uruguay, 1994a). Posteriormente el Decreto N^{o} 588/08 del Poder Ejecutivo de 1 de diciembre de 2008, actualiza el R.B.N modificando la normativa en materia de chacinados, determinando entre otros puntos los parámetros microbiológicos donde incluye ausencia de L. monocytogenes en 25 g de muestra para jamón cocido y paleta cocida (Uruguay, 1994b).

Actualmente los productos cárnicos listos para el consumo están regulados por la Norma Reglamentaria Nº 1/2013 del 8 de abril del 2013 del MGAP. La misma establece un programa de control oficial para L. monocytogenes y Salmonella en alimentos cárnicos prontos para comer, y un programa de autocontrol de las empresas para L. monocytogenes en el medio ambiente (Anexo A).

En materia exportaciones, el único mercado que exige muestreos de L. monocytogenes es Rusia. Los mismos deben hacerse de acuerdo al plan de muestreo recomendado por la ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), descripto en la Norma Reglamentaria Nº 2/2012 del 29 de octubre de 2012 del MGAP (Anexo B).

Conclusiones

De acuerdo a los datos recabados a lo largo de esta revisión podemos concluir que estamos frente a uno de los patógenos reemergentes más importantes a nivel mundial: Listeria monocytogenes, ya que se encuentra distribuido en todo el mundo con graves consecuencias como placentitis, meningoencefalitis, septicemia o incluso la muerte, siendo los neonatos, ancianos y personas inmunocomprometidas los más propensos.

Con la presencia confirmada de Listeria monocytogenes en alimentos en nuestro país, y la importancia de la carne y la industria cárnica en nuestro medio, considero fundamental la educación en prevención de los consumidores e industrias, ya que como hemos visto éste patógeno puede llegar a tener consecuencias muy graves tanto a nivel de la salud pública como a nivel económico para las empresas.

Visto las reglamentaciones y controles existentes en Uruguay y comparándolas con el resto del mundo puedo concluir que todavía hay mucho trabajo por delante, sobre todo en materia de epidemiología, ya que no se cuenta con una base de datos establecida oficialmente sobre ésta enfermedad, lo que llevaría a pensar que la misma está altamente subdiagnosticada en nuestro medio.

Por lo tanto, considero de vital importancia continuar con la investigación y difusión de ésta temática tanto a nivel público como académico, mejorar la vigilancia epidemiológica y enfatizar los controles y métodos de prevención a lo largo de toda la cadena cárnica, ya que la ocurrencia de un brote de ésta enfermedad perjudicaría gravemente la salud del consumidor y la imagen de la industria en el Uruguay.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, A.M., Alfonso, A., Algorta, G., Anchieri, D., Bentancor, L., Chabalgoity, A., Chiparelli, H., Da Silva, A., Deambrosis, N., Ferrari, A.M., Gadea, P., Gularte, E., Legani, M., Linder, C., Macedo, M., Martínez, A., Mateos, S., Mattera, A., Medina, D., Montano, A., Odizzio, M., Pírez, M., Repiso, M., Rodríguez, G., Salvatella, R., Sabio, M., Schelotto, F., Torres, M., Varela, G., Vicentino, W. (2002) Enfermedades transmitidas por los alimentos en Uruguay. Montevideo. Panalimentos, OPS. 203p.

2. Alcayaga, S., Hott, B. (2008) Listeria y listeriosis: un desafío de los nuevos tiempos. Revista Chilena de Salud Pública, 12 (3): 188-195.

3. Altuntas, E.G., Kocan, D., Consansu, S., Ayhan, K., Juneja, V.K., Materon, L. (2012) Antibiotic and bacteriocin sensitivity of Listeria monocytogenes strains isolated from different foods, Food and Nutrition Sciences, 3 (3): 363-368.

4. Allerberger, F., Wagner, M. (2010) Listeriosis: a resurgent foodborne infection. Clinical Microbiology and Infection, 16 (1): 16-23.

5. Alles, S., Curry, S., Almy, D., Jagadeesan, B., Rice, J., Mozola, M. (2012) Reveal Listeria 2.0 test for detection of Listeria spp. in foods and environmental samples. Journal of AOAC International, 95 (2): 424 - 434.

6. ANMAT (2014) Código Alimentario Argentino. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp. Fecha de consulta: 18/8/2014.

7. Anónimo (2005) Reglamento (CE) n^{o} 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Disponible en: https://www.um.es/casan/documentos/legislacion/ALIMENTARIA/CRITERIOS%20MICROBIOLOGICOS/reglamento-2073-2005.pdf. Fecha de consulta: 16/8/2014.

8. Balsalobre, B., Hernández, J. (2004) Resistencias a antibióticos en Listeria monocytogenes y Salmonella entérica aislados de alimentos de origen animal. Revista de Salud Ambiental, 4 (1-2): 42-46.

9. Barton, C., Jones, T.F., Vugia, D.J., Long, C., Marcus, R., Smith, K., Thomas, S., Zansky, S., Fullerton, K.E., Henao, O.L., Scallan, E., FoodNet Workin Group. (2011) Deaths associated with bacterial pathogens transmitted commonly through food: Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 1996 2005. The Journal of Infectious Diseases, 204 (2): 263-267.

10. Bell, C., Kyriakides, A. (2002) Listeria monocytogenes. En: de W. Blackburn Clive, Mc Clure Peter J (Eds.) Foodborne pathogens Hazards, risk analysis and control. Florida. CRC Press, pp 337-361.

11. Benadof, D. (2008) Retrato Microbiológico: Listeria monocytogenes. Revista Chilena de Infectología, 25 (5): 350.

12. Bonardi S., Bottarelli A., Fusaro S., Bentley S., Gnappi A., Morini A., (1997) Epidemiological investigation on Listeria spp. in a bovine slaughterhouse. Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, 27: 181-188.

13. Bonazzi, M., Lecuit, M., Cossart, P. (2009) Listeria monocytogenes internalin and E-cadherin from structure to pathogenesis. Cellular Microbiology, 11 (5): 693-702.

14. Bortolussi, R. (2008) Listeriosis: a primer. Canadian Medical Association Journal, 179 (8): 795-797.

15. Borucki, M.K., Peppin, J.D., White, D., Loge, F., Call, D.R. (2003) Variation in biofilm formation among strains of Listeria monocytogenes. Applied and Enviromental Microbiology, 69 (12): 7336-7342.

16. Botzler, R.G., Cowan, A.B., Wetzler, T.F. (1974) Survival of Listeria monocytogenes in soil and water. Journal of Wildlife Diseases, 10 (3): 204-212.

17. Bowmer, E.J., McKiel, J.A., Cockcroft, W.H., Schmitt, N., Rappay, D.E. (1973) Listeria monocytogenes infections in Canada. Canadian Medical Association Journal, 109 (2): 125-129.

18. Callejo, R., Prieto, M., Martínez, C., Aguerre, L., Rocca, F., Martínez, G. (2008) Manual de procedimientos. Aislamiento, identificación y caracterización de L. monocytogenes. Disponible en: http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=%2F8wNhVX5bBc%3D&tabid=120&mid=460&language=es-ES. Fecha de consulta: 14/3/2014.

19. Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., Cabanes, D. (2011) The arsenal of virulence factors deployed by Listeria monocytogenes to promote its cell infection cycle. Virulence, 2 (5): 379-394.

20. CDC (2013) Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food- foodborne diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996-2012. Disponible en: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6215a2.htm?s_cid=mm6215a2_w. Fecha de consulta: 12/6/2014.

21. CDC (2014a) Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): FoodNet surveillance report for 2012 (Final Report). Disponible en: http://www.cdc.gov/foodnet/PDFs/2012_annual_report_508c.pdf. Fecha de consulta: 25/7/2014.

22. CDC (2014b) Listeria (Listeriosis). Disponible en: http://www.cdc.gov/spanish/listeria/statistics.html. Fecha de consulta: 9/8/2014.

23. CDC (2014c) Listeria (Listeriosis) statistics. Disponible en: http://www.cdc.gov/listeria/statistics.html. Fecha de consulta: 12/6/14.

24. Cecchini, E., Picandet, A.M., González, S.E. (2008) Listeriosis. En: Cecchini, E., González, S.E. (Eds.) Infectología y enfermedades infecciosas. Buenos Aires, Ediciones Journal, pp 546-553.

25. Cisternas, V.A., Lagos, N.N., Galstuch, L.J., González, R.C., García, C.C., Díaz, T. J. (2002) Infección por Listeria monocytogenes y embarazo con buen resultado perinatal. Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología, 67 (3): 237-241.

26. Cole, M.B., Jones, M.V., Holyoak, C. (1990) The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of Listeria monocytogenes. Journal of Applied Bacteriology, 69 (1): 63-72.

27. Conti, I.A. (2001) Enfermedades emergentes y reemergentes en Uruguay. Revista Médica del Uruguay, 17 (3): 180-199.

28. Chen, J., Luo, X., Lingli, J., Jin, P., Wei, W., Liu, D., Fang, W. (2009) Molecular characteristics and virulence potential of Listeria monocytogenes isolates from Chinese food systems. Food Microbiology, 26 (1): 103-111.

29. Chico, I., Suárez, M., González, B., Scortti, M., Slaghuis, J., Goebel, W. (2001) Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose- 6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in Listeria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99 (1): 431-436.

30. Chin, J. (2001) El control de las enfermedades transmisibles. 17ª ed. Washington. OPS 748 p.

31. CHROMagar (2013) CHROMagar Listeria. CHROMagar Identification Listeria. Para la detección, enumeración y confirmación de listeria monocytogenes. Versión 5. París, CHROMagar, 1p.

32. CHROMagar (2014a) CHROMagar Listeria. Instrucciones de uso. Versión 5. París, CHROMagar, 3p.

33. CHROMagar (2014b) CROMagar Identification Listeria. Instrucciones de uso. Versión 4. París, CHROMagar, 3 p.

34. de Boer, E. (2009) Detección y recuento de patógenos en la carne, carne de ave y ovoproductos. En: Mead G. C (Ed.) Análisis microbiológico de carne roja, aves y huevos. Zaragoza, Acribia, pp 199-241.

35. de las Heras, A., Cain, R.J., Bielecka, M.K., Vázquez, J.A. (2011) Regulation of Listeria virulence: PrfA master and commander. Current Opinion in Microbiology, 14 (2): 118-127.

36. de Souza, A. (2014) I Taller internacional sobre Listeria monocytogenes. Carnes & Alimentos, 15 (49): 36 43.

37. de Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Desenclos, J.C., Martin, P., Listeria Working Group. (2003) Feasability study for a collaborative surveillance of Listeria infections in Europe. Disponible en: http://www.invs.sante.fr/publications/2004/listernet/rap_listernet_p1_76.pdf. Fecha de consulta: 26/6/2014.

38. de Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., Desenclos, J.C., Martin P. (2005) Surveillance of Listeria infections in Europe. Eurosurveillance, 10 (10-12): 251-255.

39. Denny, J., McLauchlin, J. (2008) Human Listeria monocytogenes infections in Europe - An opportunity for improved european surveillance. Eurosurveillance, 13 (1-3): 32-36.

40. Díaz, T., Caballero, Á.E., Díaz, J.R. (2008) Enfermedades transmitidas por alimentos. En: Caballero Torres Ángel E. (Ed.) Temas de Higiene de los Alimentos, La Habana, Ciencias Médicas, pp 216-248.

41. Domínguez, M. (2010), Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria. Disponible en: http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1112/1129. Fecha de consulta: 27/5/2014.

42. Donelly, C.W., Brackett, R.E., Doores, S., Lee, W.H., Lovett, J. (1992) Listeria. En: Vanderzant, C., Splittstoesser (Eds.) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3 [a] ed. Washington. American Public Health Association, pp 637-663.

43. Doyle, M.E., Mazzota, A.S., Wang, T., Wiseman, D.W., Scott, V.N. (2001b) Heat Resistance of Listeria monocytogenes. Journal of Food Protection, 64 (3): 410-429.

44. Doyle, M.P. (2001a) Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. Zaragoza, Acribia 799p.

45. Dramsi, S., Bourdichon, F., Cabanes, D., Lecuit, M., Fishi, H., Cossart, P. (2004) FbpA, a novel multifunctional Listeria monocytogenes virulence factor. Molecular Microbiology, 53 (2): 639-649.

46. Duché, O., Trémoulet, F., Glaser, P., Labadie, J. (2002) Salt stress proteins induced in Listeria monocytogenes. Applied and Enviromental Microbiology, 68 (4): 1491-1498.

47. EFSA (2007) Request for updating the former SCVPH opinion on Listeria monocytogenes risk related to ready-to-eat foods and scientific advice on different levels of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods and the related risk for human illness. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/de/scdocs/doc/599.pdf. Fecha de consulta: 16/8/2014.

48. EFSA (2009) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2007. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/223r.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

49. EFSA (2010) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2008. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1496.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

50. EFSA (2011) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2009. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2090.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

51. EFSA (2012) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2010. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2597.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

52. EFSA (2013) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2011. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3129.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

53. EFSA (2014) Trends and Sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistence in the European Union in 2012. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3547.pdf. Fecha de consulta: 17/6/14.

54. El País (2013a) Las 5 tendencias de los uruguayos en consumo de alimentos envasados. Disponible en: http://www.elpais.com.uy/economia/noticias/tendencias-uruguayos-consumo-alimentos-envasados.html. Fecha de consulta: 21/8/2014.

55. El País (2013b) Estiman que el consumo de chacinados seguirá al alza. Disponible en: http://historico.elpais.com.uy/130309/pecono-701241/economia/estiman-que-el-consumo-de-chacinados-seguira-al-alza/. Fecha de consulta: 9/5/2014.

56. Farber J.M., Peterkin P.I. (1991) Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen. Microbiological Reviews, 55 (3): 476-511.

57. Farber, J.M., Losos, J.Z. (1988) Listeria monocytogenes: a food borne pathogen. Canadian Medical Association Journal, 138 (5): 413-418.

58. Frazier, W.C., Westhoff, D.C. (1993) Microbiología de los alimentos. 4ª ed. Zaragoza, Acribia, 681 p.

59. Galliot, O., Pellegrini, E., Bregenholt, S., Nair, S., Berche, P. (2000) The ClpP serine protease is essential for the intracellular parasitism and virulence of Listeria monocytogenes. Molecular Microbiology, 35 (6): 1286-1294.

60. Gedde, M.M., Higgins, D.E., Tilney, L.G., Portnoy, D.A. (2000) Role of listeriolysin o in cell to cell spread of Listeria monocytogenes. Infection and Immunity, 68 (2): 999-1003.

61. Godshall, C.E., Suh, G., Lorber, B. (2013) Cutaneous listeriosis. Journal of Clinical Microbiology, 51 (11): 3591-3596.

62. Goulet, V., Hedberg, C., Le Monnier, A., de Valk, H. (2008) Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. Emerging Infectious Diseases, 14 (5): 734-740.

63. Graves, L.M., Helsel, L.O., Steigerwalt, A.G., Morey, R.E., Daneshvar, M.I., Roof, S.E., Orsi, R.H., Fortes, E.D., Milillo, S.R., Den Bakker, H.C., Wiedmann, M., Swaminathan, B., Sauders, B.D., (2010). Listeria marthii sp. nov., isolated from the natural enviroment, Finger Lakes National Forest. International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology, 60 (6): 1280-1288.

64. Guía VETA (2001) Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (VETA) y la investigación de brotes de toxi-infecciones alimentarias. Buenos Aires, OPS/OMS/INPPAZ. Disponible en: https://www.assal.gov.ar/assa/userfiles/file/guia%20veta.pdf. Fecha de consulta: 12/3/2014.

65. Hammer, W.C.K. (1999) Situación actual del comercio alimentario, incluidos los problemas relacionados con la calidad e inocuidad de los alimentos. Conferencia sobre Comercio Internacional de Alimentos a Partir del Año 2000: Decisiones basadas en criterios científicos, armonización, equivalencia y reconocimiento mutuo. Melbourne, Australia, 11-15 de octubre de 1999. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/meeting/x2636s.htm. Fecha de consulta: 13/5/2014.

66. INAC (2014b) Cierre Año 2013, Evolución de los Principales Indicadores y Determinantes del Consumo de Carnes en el Mercado Interno. Montevideo, INAC 11 p.

67. INAC (Instituto Nacional de Carnes) (2014a) Uruguay, país ganadero. Disponible en: http://www.inac.gub.uy/innovaportal/v/3104/1/innova.net/uruguay_pais_ganadero. Fecha de consulta 9/5/2014.

68. International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (2005) Microorganisms in foods 6 Microbial Ecology of Food Commodities. 2ª ed. New York, Kluwer, 763 p.

69. International Comission on Microbiological Specificaions for Foods, (ICMSF) (1998) Microorganismos de los alimentos 5 Características de los patógenos microbianos, Zaragoza, Acribia 620 p.

70. Jay, J.M (2009) Microbiología moderna de los alimentos 5ª ed. Zaragoza, Acribia 788p.

71. Julián, A., Jiménez, Á., de Górgolas, M., Fernández, R., Fernández, M.L. (2001) Infecciones por Listeria monocytogenes en el adulto. Aspectos clínicos y microbiológicos de una enfermedad cambiante. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 19 (7): 297-303.

72. Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P., Le Flèche-Matéos, A., Roche, S., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., Allerberger, F., (2010) Listeria rocourtiae sp.nov. International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology, 60 (9): 2210-2214.

73. Lecuit, M., Vandormael-Pournin, Lefort, J., Huerre, M., Gounon, P., Dupuy, C., Babinet, C., Cossart, P. (2001) A transgenic model for listeriosis: Role of internalin in crossing the intestinal barrier. Science, 292 (5522): 1722-1725.

74. Ledermann, W.D. (2008) En memoria de Lister. Revista Chilena de Infectología, 25 (5): 351-356.

75. Lemaire, V., Cerf, O., Audurier, A., (1989) Thermal resistance of Listeria monocytogenes. Annales de Recherches Vétérinaires, 20 (4): 493-500.

76. Lepe, J.A., Jiménez, F. (2012) Listeriosis neonatal de transmisión nosocomial. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 30 (3): 115-116.

77. Leyva, V., Martino, T.K., Puig, Y. (2008) Factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos. En: Caballero Torres Ángel E. (Ed.) Temas de Higiene de los Alimentos, La Habana,-Ciencias Médicas, pp 43-54.

78. Liu, D., Lawrence, M.L., Ainsworth, A.J., Austin, F.W. (2005) Comparative assessment of acid, alkali and salt tolerance in Listeria monocytogenes virulent and avirulent strains, FEMS Microbiology Letters, 243 (2): 373-378.

79. Liu, D., Lawrence, M.L., Ainsworth, A.J., Austin, F.W. (2007) Toward an improved laboratory definition of Listeria monocytogenes virulence. International Journal of Food Microbiology, 118 (2): 101-115.

80. Lorber, B. (2010) Listeria monocytogenes. En: Mandell Gerald L., Bennet John E., Dolin Raphael (Eds.)
Diseases. 7ª Ed. Philadelphia. Churchill Livingstone, pp 2707-2714.

81. Lou, Y., Yousef, A.E. (1997) Adaptation to Sublethal Enviroment Stress Protects Listeria monocytogenes against Lethal Preservation Factors. Applied and Enviromental Microbiology, 63 (4): 1252-1255.

82. Lundén, J., Tolvanen, R., Korkeala, H. (2004) Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. Journal of Dairy Science, 87 (Supp): E6-E12.

83. Mackey, B.M., Bratchel, N., (1989) The heat resistance of Listeria monocytogenes. Letters in Applied Microbiology, 9 (3): 89-94.

84. Madigan, M.T (2003) Brock Biología de los microorganismos 10ª ed. Madrid, Pearson Prentice Hall 1096p

85. Manzullo, A. (1980) Epidemiología y epizootiología de la listeriosis. Simposio sobre Listeriosis, Buenos Aires, Argentina, p 11.

86. Martino, T., Leyva, V., Puig, Y. (2008) Principales bacterias patógenas en alimentos. En: Caballero Torres Ángel E. (Ed.) Temas de Higiene de los Alimentos, La Habana, Ciencias Médicas, pp 29-42.

87. Metselaar, K.I., den Besten, H., Abee, T., Moezelaar, R., Zweietering, M.H. (2013) Isolation and quantification of highly acid resistant variants of Listeria monocytogenes. International Journal of Food Microbiology, 166 (3): 508-514.

88. Michanie, S. (2004) Listeria monocytogenes la bacteria emergente de los 80. Ganados & Carnes, 18: 34-37.

89. Ministerio de Salud Pública (MSP), Uruguay. Listado denuncia obligatoria. Disponible en: http://www2.msp.gub.uy/ucepidemiologia_337_1.html. Fecha de consulta: 26/8/2014.

90. MINSAL (Ministerio de Salud de Chile) (2009) Modifica decreto nº 977, de 1996. Disponibl en: http://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1008896&idParte=8813644&idVersion=2009-12-11. Fecha de consulta: 18/8/2014.

91. Molina, S., Mercado, M., Carrascal, A.K. (2009) Efecto de tiempo y temperatura de cocción en chorizo inoculados artificialmente con Listeria monocytogenes. Universitas Scientiarum, 15 (2-3): 198-205.

92. Muñoz, A.I., Vargas, M., Otero, L., Díaz, G., Guzmán, V. (2011) Presencia de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008. Biomédica, 31 (3): 428-439.

93. Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaüer, M.A. (2006) Microbiología Médica. 5ª ed. Madrid, Elseiver, 976 p.

94. Nair, S., Frehel, C., Nguyen, L., Escuyer, V., Berche, P. (1999) ClpE, a novel member of the HSP100 family, is involved in cell division and virulence of Listeria monocytogenes. Molecular Microbiology, 31 (1): 185-196.

95. Neogen (2013) Reveal 2.0 for Listeria. Lansing, Neogen, 6 p.

96. monocytogenes: Isolation o fan acid-tolerant mutant wich demostrates increased virulence. Applied and Enviromental Microbiology, 62 (5): 1693-1698.

97. OIE (2013) Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terresrtes 2013. Disponible en http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/. Fecha de consulta 17/3/2014.

98. OMS (2012) Resistencia a los antimicrobianos (RAM). Disponible en: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/. Fecha de consulta: 24/4/2014.

99. OMS (2014) 10 datos sobre la inocuidad de los alimentos. Disponible en: http://www.who.int/features/factfiles/food_safety/facts/es/index1.html. Fecha de consulta: 9/8/14.

100. Oteo, J., Alós, J.I. (1997) Listeria y listeriosis. Disponible en: http://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/listeria.pdf. Fecha de consulta: 24/4/2014.

101. PHAC (2014) List of Nationally Notifiable Diseases. Disponible en: http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/list-eng.php. Fecha de consulta 12/6/14.

102. Phan-Thanh, L., Montagne, A. (1998) Physiological and biochemical aspects of the acid survival of Listeria monocytogenes. The Journal of General and Applied Microbiology, 44 (3): 183-191.

103. Pickering, L.K., Baker, C.J., Overturf, G.D., Prober, C.G. (2005) Red Book Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 26ª ed. Buenos Aires, Médica Panamericana, 984 p.

104. Pizarro, J., Cossart, P. (2006) Bacterial adhesion and entry into host cells. Cell, 124 (4): 715-727.

105. Prescott, Lansing M., Harley John P., Klein Donald A. (2004) Microbiología 5ª ed. Madrid. McGraw-Hill / Interamericana, 1240 p.

106. Ramaswamy, V., Cresence, V.M., Rejitha, J.S., Lekshuni, M.U., Dharsana, K.S., Prasad, S.P., Vijila, H.M. (2007) Listeria-review of epidemiology and pathogenesis. Journal of Microbiology, Inmunology and Infection, 40 (1): 4-13.

107. ReNaLOA (2011) Análisis Microbiológico de los Alimentos. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_I.pdf. Fecha de consulta: 14/8/14.

108. Riedo, F.X., Pinner, R.W., Tosca, M.L., Cartter, M.L., Graves, L.M., Reeves, M.W., Weaver, R.E., Plikaytis, B.D., Broome, C.V. (1994) A point-source foodborne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness. The Journal of Infectious Diseases, 170 (3): 693-696.

109. Rocourt, J., Buchrieser, C. (2007) The genus Listeria and Listeria monocytogenes: Phylogenetic position, taxonomy, and identification. En: Ryser Elliot T, Marth Elmer H (Eds.) Listeria, Listeriosis, and Food Safety. 3ª ed. Florida. CRC, pp 1-20.

110. Rossi, M.L., Paiva, A., Tornese, M., Chainelli, S., Troncoso, A. (2008) Brotes de infección por Listeria monocytogenes: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. Revista Chilena de Infectología, 25 (5): 328-335.

111. Rouquette, C., de Chastellier, C., Nair, S., Berche, P. (1998) The ClpC ATPase of Listeria monocytogenes is a general stress protein required for virulence and promoting early bacterial escape from the phagosome of macrophages. Molecular Microbiology, 27 (6): 1235-1245.

112. Rovira, P. (2006) Inocuidad de carnes: un tema relevante en la agenda del INIA. Revista INIA Nº 9, 13 p.

113. Safdar, A., Armstrong, D. (2002) Antimicrobial Activities against 84 Listeria monocytogenes isolates from patients with systemic listeriosis at a comprehensive cancer center (1955-1997). Journal of Clinical Microbiology, 41 (1): 483-485.

114. Saunders, B.D., Wiedmann, M. (2007) Ecology of Listeria Species and L. Monocytogenes in the Natural Environment. En: Ryser Elliot T, Marth Elmer H (Eds.) Listeria, Listeriosis, and Food Safety. 3ª ed. Florida. CRC, pp 21-53.

115. Scortti, M., Monzó, H.J., Lacharme, L., Lewis, D.A., Vázquez, J.A. (2007) The PrfA virulence regulon. Microbes and Infection, 9 (10): 1196-1207.

116. Schöbitz, R., Ciampi, L., Nahuelquin Y. (2009) Listeria monocytogenes un peligro latente para la industria alimentaria. Agro Sur, 37 (1): 1-8.

117. Shabala, L., Lee, S.H., Canesson, P., Ross, T. (2008) Acid and NaCl limits to growth of Listeria monocytogenes and influence of sequence of inimical acid and NaCl levels on inactivation kinetics. Journal of Food Protection, 71 (6): 1169-1177.

118. Shen, Y., Naujokas, M., Park, M., Ireton, K. (2000) InIB-dependent internalization of Listeria is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. Cell, 103 (3): 501-510.

Si por motivos comerciales, alguno de los alimentos autorizados a elaborar en el establecimiento no son producidos por un lapso de tiempo mayor al de una ronda, deberá dejarse registrada esta situación en la IVO.

En todos los casos de obtenerse resultados no conformes en las muestras oficiales se procederá con la siguiente secuencia:

1. La IVO notificará a la empresa el hallazgo.

2. La IVO retendrá toda la mercadería correspondiente al lote involucrado y dispondrá que la empresa inicie , según lo establecido en el Manual de GMP.

3. La IVO suspenderá la producción de la línea del o de los alimentos involucrados.

4. La IVO notificará a la empresa, quien deberá realizar la investigación del origen de la contaminación, proponiendo las acciones correctivas que correspondan. Estas acciones correctivas propuestas por la empresa serán puestas en conocimiento de la IVO.

5. Luego de implementadas las acciones correctivas por parte de la empresa, será verificado su cumplimiento por parte de la IVO.

6. Habiéndose cumplido con lo dispuesto en los numerales anteriores, se podrá autorizar el reinicio de la producción de la línea respectiva.

7. Los alimentos producidos en esa línea, a partir de este momento, serán muestreados por la IVO dentro de un plan de seguimiento. Este plan consistirá en muestrear por cinco días consecutivos, todos los lotes elaborados en la línea.

8. Todos los lotes de mercadería producida y muestreada deberán ser retenidos hasta tanto se cuente con los resultados analíticos.

9. Si los resultados obtenidos son conformes, se liberará la mercadería.

10. Si en el plan de seguimiento se obtuviera un resultado no conforme, se reiterarán las acciones, según lo dispuesto en los numerales 1 a 8.

11. En casos de reiteración de situaciones de no conformidad, la DIA podrá tomar otras acciones, pudiendo llegar a la suspensión definitiva de la elaboración de los productos involucrados.

PROGRAMA DE AUTOCONTROL MEDIOAMBIENTAL

ALCANCE

ANEXO

DIRECCIÓN GENERAL DE SERVICIOS GANADEROS

DIVISIÓN INDUSTRIA ANIMAL

Norma Reglamentaria 2 / 2012

29 de octubre de 2012

MUESTREO PARA DETERMINACIÓN DE Listeria monocytogenes EN CARNE FRESCA CON DESTINO A LA EXPORTACIÓN HACIA LA FEDERACIÓN RUSA.

Referencia

El plan de muestreo a aplicar para la determinación de Listeria monocytogenes es el recomendado por la ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), Caso 10.

Para el caso de Listeria monocytogenes, se aplica como documento de referencia el SanPin 2.3.2 1078-01 de la Federación Rusa.-

Alcance

El monitoreo del producto es considerado oficial, mientras que el monitoreo ambiental es de autocontrol de la empresa y está referido al medio en el cual se desarrollan las actividades de producción del alimento.

Responsable del muestreo

La persona responsable del muestreo oficial del alimento será un funcionario de la Inspección Veterinaria Oficial (IVO), mientras que el responsable del muestreo medio ambiental será un funcionario de la empresa.

Plan de muestreo

Plan de dos (2), clases (ausencia presencia).

n=5 c=0
M=0 en 25 g

Lote

A los efectos de esta Norma Reglamentaria, se considera un LOTE a toda la carne que pertenece al mismo embarque destinado a la exportación hacia la Federación Rusa.

Extracción de las muestras oficiales

Las cinco (5) muestras (n=5), serán extraídas en forma aséptica del lote definido.

Las cinco (5) muestras deberán ser extraídas de mercadería de diferentes fechas de producción.

En aquellos casos en que el lote esté integrado por menos de cinco días de producción, será necesario repetir más de una fecha.

Las muestras deberán tomarse en el momento en que se define el lote a ser embarcado.

El volumen de cada una de las cinco muestras no deberá ser menor a 70 g.

Extracción de las muestras de autocontrol

Los establecimientos deberán tener un programa de autocontrol microbiológico aplicable al medio ambiente, para Listeria monocytogenes.

En el mismo deben ser consideradas todas las superficies, ya sea que tomen contacto o no con el alimento, incluyendo agua, aire, operarios y su vestimenta.

El programa debe ser puesto en conocimiento de la IVO, para su verificación, y los resultados deberán ser comunicados oportunamente a la IVO. El mencionado programa deberá detallar número de muestras, lugares de muestreo, frecuencia de muestreo y plan de acción en caso de no conformidades.

Los resultados de este programa pueden ser usados para evaluar el riesgo de contaminación del producto, para fijar una línea de base que permita diseñar el plan de muestreo e investigar fuentes de contaminación. La empresa lo diseñará zonificando las áreas del establecimiento, de acuerdo con el riesgo y con las líneas de proceso.

Todos los resultados obtenidos deben ser registrados en gráficos de control para analizar tendencias y deben ser comunicados a la IVO.

Cuando se encuentren resultados no conformes, se activará el plan de acción que ya haya sido previsto por el establecimiento. Dependiendo de los hallazgos, el plan considerará la investigación por muestreos para identificar el origen de la contaminación, aumentar la frecuencia de muestreo sobre un cierto período de tiempo, revisión y cambio de los puntos de muestreo, actividades de higiene y capacitación del personal.

Preparación de las muestras oficiales para su envío

Las muestras se colocarán en recipientes estériles (bolsas o frascos), con identificación indeleble, clara y única, a efectos de que no haya dudas en el momento de expedir el certificado sanitario correspondiente.
Las muestras oficiales deberán ser enviadas al laboratorio, acompañadas por un documento que las identifique, debiendo mantener una copia del mismo, en las oficinas de la IVO, hasta que se reciban los resultados de los análisis correspondientes.

Registros

Los resultados de los análisis de laboratorio de las muestras oficiales deberán archivarse en la oficina de la Inspección Veterinaria Oficial, por un periodo de dos años.