

1-1-2016

# Revisión sistemática descriptiva sobre la presencia de *Listeria monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea* var *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var *botrytis*)

Leidy Esperanza Galvis Galvis

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos)

---

## Citación recomendada

Galvis Galvis, L. E. (2016). Revisión sistemática descriptiva sobre la presencia de *Listeria monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea* var *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var *botrytis*). Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos/62](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/62)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ingeniería at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Ingeniería de Alimentos by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERIA  
Programa de Ingeniería de Alimentos**

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DESCRIPTIVA SOBRE LA  
PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN BRÓCOLI  
(*Brassica oleracea* var. *italica*) Y COLIFLOR (*Brassica oleracea*  
var. *botrytis*)**

**Autora: Leidy Esperanza Galvis Galvis  
Dirigido por: Alfredo López Molinello, M.Sc.**

**Bogotá D.C.  
2016**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por que ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome, dándome fortaleza para continuar y permitirme culminar con éxito esta hermosa etapa de mi vida, etapa en la cual pude entender y valorar cada una de las bendiciones con las cuales él me rodea.

A la luz que Dios puso en mi vientre para darme la mayor alegría de mi vida, ser madre, a ti *Andrés Santiago*, por ser el motor de mi vida, posiblemente en este momento no entiendas mis palabras, pero cuando estés más grandecito, quiero que te des cuenta de lo que significas para mí, pues eres la razón de que me levante cada día a esforzarme por el presente y el mañana, eres el testigo silencioso de mis luchas cotidianas en busca de un mejor futuro, a él mi esperanza, mi alegría, mi vida y la culminación de este trabajo y lo que representa.

A *Holman* por ser mi compañero inseparable de cada día, por brindarme su amor, comprensión y apoyo incondicional para la culminación de esta nueva etapa.

A mis padres *Carmenza* y *Siervo Tulio*, pilares fundamentales en mi vida, por siempre estar a mi lado cuando más los necesito, por mostrarme en cada momento su apoyo incondicional, gracias por mostrarme que todo lo que me proponga lo puedo lograr, que con un poco de esfuerzo nada es imposible sin importar el tiempo y el espacio, con mucho amor y cariño, les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento a todo el sacrificio puesto para que yo pueda estudiar, se merecen esto y mucho más.

A mi hermanito *Arturo*, por ser el apoyo incondicional, por ser mi guía y que con su amor me ha enseñado a salir adelante. Gracias por tu paciencia, gracias por preocuparte por tu hermanita, por ser mi ejemplo a seguir, por compartir tu vida, por enseñarme a nunca desfallecer, pero sobre todo gracias por estar en otro momento tan importante de mi vida.

A mi director de tesis *Alfredo*, por su paciencia y dedicación permanente. Y a todas aquellas personas que hicieron parte fundamental para la realización de este trabajo.

A todos ustedes dedico el producto de mi esfuerzo, con amor

*Leidy Galvis*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios porque sin el nada de esto hubiera sido posible.

A mis padres Carmenza y Siervo, quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica. Me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, su tenacidad y lucha interminable han hecho de ellos un gran ejemplo a seguir por mí y por mi hermano y sin ellos jamás hubiera podido conseguir lo que hasta ahora, gracias por todo su amor.

A mi hermano Arturo quien es mi mejor amigo y ha estado conmigo siempre que lo necesito, por ser mi compañía, mi apoyo, mi ejemplo y fuerza para salir adelante.

A Holman Cardozo y a mi hijo Andrés Santiago por ayudarme a encontrar el lado dulce y no amargo de la vida, a ti hijo por cada sonrisa y amor que me regalas, pues tu eres el causante de mi anhelo por salir adelante y por hacerme la mujer más feliz, no solo es mi triunfo, si no el nuestro como familia, los amo.

A mis tíos Venancio y Rosa Elvira por su paciencia, sus ánimos, atenciones y ayuda incondicional durante estos años.

Me gustaría agradecer sinceramente a mi director de Tesis, Alfredo López, su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como ingeniera de alimentos. Él ha inculcado en mí un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no podría tener una formación completa. A su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración, así como sentirme en deuda con él por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado este trabajo de grado.

A mis amigos Lina López, Silvia y David, quienes en este último semestre me brindaron su apoyo incondicional y sacaron sonrisas en momentos de estrés.

Además cabe agradecer a la Universidad de la Salle y a cada uno de los docentes del programa de Ingeniería de Alimentos por los consejos recibidos a lo largo de los últimos años, que de una u otra manera han aportado su granito de arena a mi formación.

A todos ustedes, muchas gracias por todo.

## RESUMEN

En el presente trabajo se realiza una revisión sistemática descriptiva de la presencia de *L. monocytogenes* en hortalizas con énfasis en brócoli y coliflor. Estas hortalizas constituyen un alimento importante por el alto valor nutricional, su rapidez y fácil preparación. Sin embargo su seguridad se ha visto afectada por presencia de patógenos como *L. monocytogenes*, constituyendo problemas graves para empresas alimentarias debido a la dificultad que presenta su control. El síndrome causado por este patógeno se denomina listeriosis, es poco frecuente pero de consecuencias graves y se ha reportado mortalidad promedio de 20 a 30 % en población susceptible como mujeres embarazadas y ancianos. Debido a que rara vez tiene programas de vigilancia para capturar conocimiento de casos de listeriosis, generalmente este síndrome se considera inusual. Los pocos casos presentados poseen poca documentación, además se suma su difícil diagnóstico y obtención de datos epidemiológicos representativos, debido a que rara vez son reportados y no es una enfermedad de notificación obligatoria. Para realizar este estudio se efectuó la revisión de documentos y literatura científica que se relacionan directamente con el problema de investigación, además de la cadena productiva de la “granja a la mesa”. La información epidemiológica de listeriosis se encuentra principalmente en países desarrollados, mientras que en países en desarrollo ésta información es escasa, posiblemente a limitaciones que presentan los sistemas de vigilancia epidemiológica. Al final se evidenció que Colombia posee poca información en el tema, por tanto, es complicado dimensionar la problemática a nivel nacional. Se recomienda generar estudios e información acerca de riesgos del patógeno en brócoli y coliflor, para establecer medidas de salud pública. Además es importante que durante la cadena de producción se mantenga control sanitario aplicando Buenas Prácticas agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), sistemas de Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos (HACCP siglas del inglés) y correcta trazabilidad del producto, con fin de identificar eficazmente la fuente de contaminación del producto y evitar posibles infecciones alimentarias.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INTRODUCCION .....	10
OBJETIVOS.....	12
1. MARCO DE REFERENCIA .....	13
1.1. HORTALIZAS .....	13
1.2. HORTALIZAS CRUCIFERAS .....	14
1.3. MICROBIOLOGIA DE HORTALIZAS .....	15
1.4. REVISION SISTEMATICA DE LA LITERATURA .....	16
1.5. REVISION NARRATIVA.....	16
1.6. PEERFIL DE RIESGO .....	16
1.7. EVALUACION DE RIESGOS .....	17
1.8. IDENTIFICACION DEL PELIGRO .....	17
1.9. CARACTERIZACION DEL PELIGRO .....	18
1.10. EVALUACION DE LA EXPOSICION .....	18
1.11. CARACTERIZACION DEL RIESGO .....	18
1.12. ESTADO DEL ARTE .....	18
1.13. MARCO LEGAL.....	21
2. METODOLOGÍA.....	24
2.1. REVISIÓN DE LA INFORMACIÓN .....	24
2.2. ANALISIS DE LA INFORMACION .....	25
2.3. GENERACION DE RECOMENDACIONES.....	26
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
3.1. IDENTIFICACION DEL PELIGRO .....	27
3.1.1. Listeria.....	27
3.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	28
3.1.3. Brócoli.....	36
3.1.4. Coliflor .....	36
3.1.5. Alimentos asociados al problema .....	37
3.2. CARACTERIZAR EL PELIGRO QUE REPRESENTA <i>L. monocytogenes</i> PRESENTE EN BRÓCOLI Y COLIFLOR.....	40
3.2.1. Listeriosis .....	40
3.2.2. Brotes y prevalencia en países desarrollados .....	41
3.2.3. Brotes y prevalencia en países en desarrollo .....	43
3.2.4. Presentación de brotes y prevalencia en Colombia.....	44
3.3. RECOMENDACIONES PARA LA DISMINUCIÓN DE POSIBLES RIESGOS DE <i>L. monocytogenes</i> EN BRÓCOLI Y COLIFLOR.....	45

3.3.1.	Manejo poscosecha .....	47
3.3.2.	Almacenamiento .....	50
3.3.3.	Recibo de materia prima.....	51
3.3.4.	Pre-enfriamiento .....	51
3.3.5.	Selección y clasificación .....	52
3.3.6.	Adecuación de materia prima .....	52
3.3.7.	Lavado y desinfección.....	53
3.3.8.	Enjuague .....	53
3.3.9.	Secado: .....	54
3.3.10.	Envasado	54
3.3.11.	Almacenamiento .....	55
3.3.12.	Distribución y comercialización .....	56
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		58
BIBLIOGRAFÍA .....		60
ANEXOS.....		75

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Aislamientos de <i>L. monocytogenes</i> resistentes a antibióticos .....	33
Tabla 2. Etapas de pre cosecha.....	47



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las hortalizas .....	14
Figura 2. Diagrama de flujo para la producción de hortalizas como Brócoli y Coliflor a nivel industrial.....	45

## GLOSARIO

**Crucíferas.** Es una de las familias más importantes, ya que comprende al género *Brassica*, consta de una gran variedad de especies que el hombre ha cultivado hasta lograr una profusión de formas diferentes, la mayoría de ellas comestibles.

**Análisis de Riesgo.** Es un proceso que consta de tres componentes: evaluación de riesgos, gestión de riesgo y comunicación del riesgo.

**Evaluación de riesgos.** Es un nuevo instrumento para el análisis de la inocuidad de los alimentos con base científica que consta de las siguientes fases: identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo.

**Estimación del riesgo.** La información resultante de la caracterización del riesgo.

**Peligro.** Agente biológico, químico o físico presente en el alimento, o bien la condición en que este se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud.

**Riesgo.** Es una función de la probabilidad de que se produzca un efecto adverso para la salud y la gravedad de este efecto, consiguiente a uno o más peligros presentes en los alimentos.

**Inocuidad.** Es un conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos para asegurar que, una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud.

**Buenas Prácticas Agrícolas.** Consiste en la aplicación del conocimiento disponible a la utilización sostenible de los recursos naturales básicos para la producción, en forma benévola, de productos agrícolas alimentarios y no alimentarios inocuos y saludables, a la vez que se procuran la viabilidad económica y la estabilidad social.

**Revisión sistemática.** Son un diseño de investigación observacional y retrospectivo, que sintetiza los resultados de múltiples investigaciones.

**Revisión narrativa.** Es un tipo de revisión realizada por expertos en un tema, el o los autor (es) no declaran los métodos que utilizaron para obtener y seleccionar la información.

**Población susceptible.** Grupo de personas que se encuentran en estado de desprotección o incapacidad frente a una amenaza a su condición psicológica, física y mental, entre otras.

## INTRODUCCION

Dentro de los mayores problemas de salud pública que existen actualmente se encuentran las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) las cuales pueden afectar toda la población, es así como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) están preocupadas por el aumento en la incidencia de estas enfermedades, donde diversos agentes biológicos, físicos y químicos pueden estar involucrados. Entre los agentes biológicos se encuentra *L. monocytogenes*, causante del síndrome llamado listeriosis. Esta patología puede ser invasiva o no invasiva. La no invasiva causa diarrea febril esporádica, los pacientes se convierten en portadores asintomáticos, que también presentan náuseas, cefalea, fiebre, entre otros y para la tipo invasiva es un síndrome gestacional y neonatal, su sintomatología se presenta en las madres con fiebre, escalofríos artromialgias, lumbalgia, tos, cefalea, y para el feto puede producir muerte neonatal y prematuridad (Tovar y Castillo, 2005).

En el 2013, la incidencia media anual de listeriosis en Estados Unidos fue de 0,26 casos por cada 100.000 personas, aunque la tasa anual de infección es tres veces más alta en mayores de 70 años y 17 veces más alta en embarazadas. A diferencia de otras infecciones transmitidas por alimentos tiene una alta tasa de mortalidad de alrededor del 23% para población susceptible y de ahí la importancia de continuar con las investigaciones relacionadas a este microorganismo (CDC, 2013)

El interés de este síndrome se debe al impacto clínico, la alta tasa de mortalidad y el efecto económico derivado de los brotes asociados con el consumo de alimentos. La transmisión de la listeriosis vía alimentaria fue demostrada por primera vez en 1981 durante un brote en Canadá, este se produjo por el consumo de ensalada de coles, ya que habían sido conservados en refrigeración por un periodo prolongado, factor que originó el crecimiento de *L. monocytogenes*, los coles fueron cultivados en campos que habían pastado ovinos cuya materia fecal contaminó la tierra con el patógeno (Michanie, 2008). Este microorganismo se ha aislado de leche cruda en un 45% (Schöbitz, Marin, Horzella y Carrasco, 2001), en carne de cerdo 19.5% (Rivera *et al.*, 2006), 60% de aves de corral y en hortalizas un 30% destacándose dentro de ellas las crucíferas (Tovar y Castillo, 2005).

La industria alimentaria ha experimentado un aumento en el consumo de hortalizas en los últimos años, debido a razones de índole social y nutricional. Las hortalizas son fuentes de fibra, vitaminas y minerales. A esto se suma la importancia que tiene su inclusión en la dieta como componente hipocalórico, la obesidad junto con el sedentarismo, se han convertido en hábitos de vida en los países industrializados y tercermundistas causando graves problemas

para la salud. Este interés por una nutrición equilibrada, tiene como fundamento el tiempo que se dispone para cocinar, por lo tanto, las hortalizas constituyen una alternativa de consumo rápida, haciendo que sean más susceptibles como vehículo de contaminación para microorganismos patógenos (Carrasco, 2007). Según el ministerio de Agricultura en Colombia en el año 2010, la producción de crucíferas fue: coliflor 9.154t, brócoli 10.148t, repartidas especialmente en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia, Norte de Santander y Nariño. En el 2013 la producción fue de 10,959t, con un rendimiento del 211,973fc (Faostat, 2015).

En Colombia, los reportes de listeriosis son escasos; sin embargo se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila), las enfermedades transmitidas por alimentos ocasionadas hasta la semana 16 de 2010, del cual se informó cuatro brotes de listeriosis (Muñoz, Vargas, Otero, Diaz y Guzman, 2011). Las falencias en los sistemas de vigilancia epidemiológicos dificultan conocer la situación real en cuanto a la incidencia y prevalencia de la listeriosis y *L. monocytogenes* en alimentos. Debido a todo esto, dichos riesgos establecen un problema grave, por tal motivo, la realización de una revisión sistemática descriptiva sobre la presencia de *L. monocytogenes* en brócoli y coliflor, permite documentar y contextualizar la problemática orientando la toma de decisiones a medidas de prevención e identificar si hay la necesidad de realizar un perfil de riesgos (FAO, 2007).

En este estudio se recopiló información pertinente de investigaciones reportadas en los últimos 10 años en el ámbito nacional e internacional, sobre la presencia de *L. monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea*, var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), documentando la situación mundial en cuanto a la problemática que representa la presencia de este patógeno en dichas crucíferas.

## OBJETIVOS

### General

Elaborar una revisión sistemática descriptiva sobre la presencia de *L. monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea*, var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) a través de investigaciones reportadas en los últimos 10 años en el ámbito nacional e internacional.

### Específicos

- Identificar el peligro causado por *L. monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea*, var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).
- Caracterizar el peligro que representa *L. monocytogenes* presente en brócoli (*Brassica oleracea*, var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).
- Proponer recomendaciones para la disminución de posibles riesgos de *L. monocytogenes* en brócoli (*Brassica oleracea*, var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).

## 1. MARCO DE REFERENCIA

Pueden existir riesgos sanitarios en la industria alimentaria, donde cualquier alimento de consumo diario podría actuar como vehículo de transmisión de enfermedades producidas por microorganismos patógenos entre ellos *L. monocytogenes*.

Los alimentos considerados de alto riesgo para contraer listeriosis son aquellos considerados listos para el consumo o los que no van a tener algún proceso de cocción antes de ser consumidos y que aparentemente son aptos para el consumo directo. Entre ellos se encuentran las hortalizas.

A continuación, se hará un breve recuento de algunas definiciones importantes para el desarrollo de esta investigación.

### 1.1. HORTALIZAS

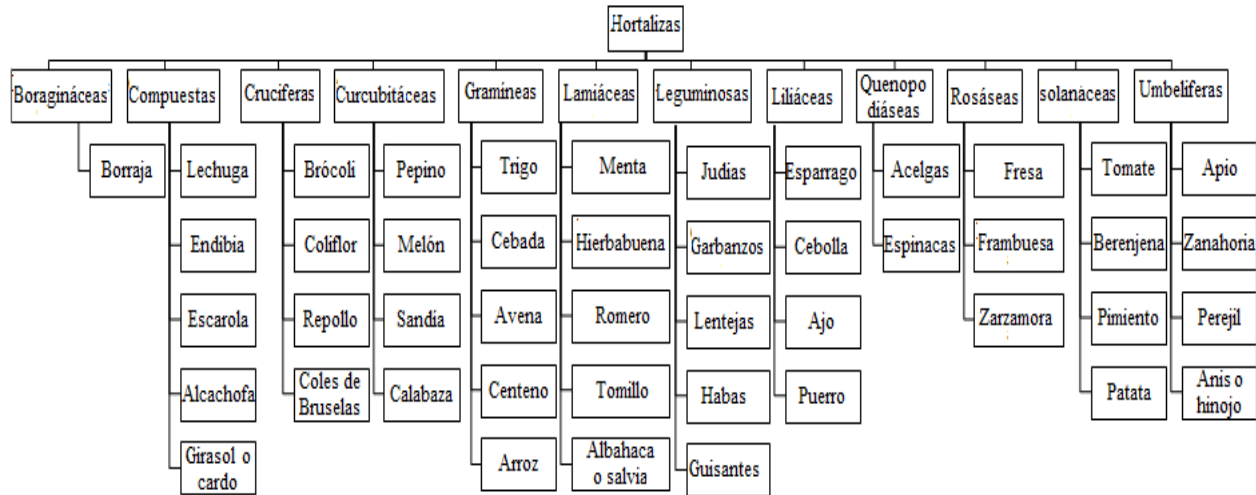
Según el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (2005) las hortalizas son plantas herbáceas o subleñosas, destinadas a la alimentación humana que pueden ser consumidas frescas o sin pasar por un proceso industrial previo; en general, sus productos son muy perecederos, sin embargo, tienen un valor nutritivo y un alto contenido de minerales y vitaminas, bajo contenido en proteínas y grasas.

Las características de las hortalizas como alimentos son:

- Poseen bajo valor calórico.
- Son ricos en minerales y vitaminas.
- Son autótrofos.
- Sus células se organizan en tejidos.
- Son ricos en fibra y en carbohidratos complejos.
- Poseen un rico sabor.

En la figura 1 que se presenta a continuación, se relacionan los tipos de hortalizas y su respectiva clasificación.

**Figura 1.** Clasificación de las hortalizas



**Fuente:** Elaboración propia

## 1.2. HORTALIZAS CRUCIFERAS

Las crucíferas son originarias de los acantilados costeros al norte del Mediterráneo desde la actual Grecia hasta Siria. Fueron domesticadas a partir de una especie ancestral denominada (*Brassica oleracea*). El repollo y las coles fueron las primeras variedades en ser domesticadas, aproximadamente en el 2.500 A.C. La coliflor fue domesticada hace poco tiempo, y el brócoli fue domesticado a finales del siglo pasado (Cardenas y Gustabo, 2012).

Las hortalizas crucíferas como la coliflor, el brócoli, el repollo y las coles de Bruselas son una buena fuente de vitamina C, ácido fólico, hierro, calcio, beta caroteno y fibra, como se relaciona en la Tabla 1, donde se pueden apreciar las composiciones nutricionales de las principales crucíferas (Florez, Segura y Ortiz, 2010). Una característica de las plantas crucíferas es la síntesis de compuestos ricos en azufre, como los glucosinolatos, los cuales son una serie de compuestos del metabolismo secundario de las plantas y que recientemente se ha descubierto su capacidad para prevenir algunas formas de cáncer de los seres humanos (Lara, 2010). Estas hortalizas y algunas plantas comestibles son la fuente de todos ellos para la dieta humana, de los cuales se han identificado más de 100 compuestos diferentes, estos se encuentran distribuidos en toda la planta, aunque su concentración depende del tipo de tejido (Florez, Segura y Ortiz, 2010).

Según las estadísticas del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en el año 2009 la producción mundial de coliflor y brócoli fue de 22, 226,957t. Este periodo indica que

China es el principal productor de brócoli y coliflor seguido de Estados Unidos (Oficina Comercial del Ecuador en Reino Unido, 2012). El principal uso de estas crucíferas es culinario, se utiliza en ensaladas y en otros tipos de preparaciones como sopas y tortas. Sin embargo cuando se consume en fresco es necesaria una adecuada cadena de frío o un proceso de congelación simple (Florez, Segura y Ortiz, 2010).

### 1.3. MICROBIOLOGIA DE HORTALIZAS

Existen diferentes factores que contribuyen a la contaminación de hortalizas por microorganismos causantes de enfermedades patógenas en humanos, algunos de los factores que se consideran de riesgo en la calidad microbiológica de las hortalizas frescas incluyen el uso de agua contaminada, procesos inadecuados en los campos de cultivo, practicas deficientes de desinfección, condiciones inapropiadas durante empaque, higiene deficiente de los manipuladores y mal manejo durante su almacenamiento y transporte. Unido a esto muchos microorganismos patógenos tienen la capacidad de sobrevivir por largos periodos de tiempo, a procesos de desinfección y multiplicarse durante el almacenamiento en estas hortalizas frescas (Campos y Manzano, 2007).

La flora microbiana de hortalizas reside en su superficie, como consecuencia de su contacto con el suelo, aire, agua y animales. El pH de estos alimentos suele ser neutro, por lo que entre su micro flora son más frecuentes las bacterias que las levaduras. La posibilidad de supervivencia o multiplicación por patógenos aumenta por el alto contenido de humedad y nutrientes en las hortalizas frescas, la ausencia de un procedimiento letal para eliminarlos y la posibilidad de que se verifiquen temperaturas durante todos los procesos del producto (OMS, 2007).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2007), algunos de los patógenos microbiológicos asociados con frutos y hortalizas frescas son *Salmonella* spp, *Shigella* spp, cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*. Algunos de estos patógenos están asociados al entorno agrícola, mientras que otros pueden proceder de trabajadores infectados o agua contaminada como se había mencionado anteriormente.

Las hortalizas tienen un periodo de conservación limitado, siendo más sensibles a la acción microbiana según avanza su maduración. Los distintos tipos de alteración de las hortalizas se deben a la acción de los géneros *Erwinia* y *Xanthomonas*, y para las hortalizas almacenadas las especies de mohos (Rosario, Pascual y Calderon, 2000).



#### **1.4. REVISION SISTEMATICA DE LA LITERATURA**

Son una forma de investigación que recopila y proporciona un resumen sobre un tema específico (orientado a responder una pregunta de investigación). En las revisiones sistemáticas el centro de estudio no son pacientes sino los estudios clínicos disponibles en los recursos electrónicos (bases de datos-metabuscadores, literatura gris, etc) (Aguilera, 2014).

Existen dos tipos de revisiones sistemáticas (cualitativas o cuantitativas). Las revisiones cuantitativas también pueden presentar la evidencia de forma descriptiva, pero la gran diferencia versus la revisión cualitativa radica principalmente en el uso de técnicas estadísticas para combinar “numéricamente” los resultados frente a un estimulador puntual, también denominado “metaanálisis” (Aguilera, 2014).

#### **1.5. REVISION NARRATIVA**

Son un tipo de revisión que se caracteriza por ser de una forma “más o menos exhaustiva”; son realizadas por “expertos en un tema” el o los autores no declaran los métodos que utilizaron para obtener, seleccionar la información. Por lo tanto son ideales para poder responder preguntas “básicas” (consideradas estas como las que se refieren a “aspectos” generales de una condición. Las revisiones narrativas, según la jerarquización de la evidencia, se encuentran en el último eslabón de la pirámide (expuestas a la posibilidad de presentar un elevado riesgo de sesgo, principalmente por su subjetividad y nula metodología) (Aguilera, 2014).

#### **1.6. PEERFIL DE RIESGO**

Consiste en la recopilación de información pertinente sobre una cuestión y puede adoptar varias formas. Su principal objetivo es ayudar a tomar nuevas medidas. Es el paso previo para ayudar a determinar a los gestores de riesgos si hay la necesidad de una evaluación de riesgos. Un perfil de riesgo típico incluye una breve descripción de los siguientes aspectos: situación producto o artículo implicado; información sobre los conductos a través de las cuales los consumidores están expuestos al peligro; posibles riesgos asociados con dicha exposición; opiniones de los consumidores sobre los riesgos y distribución de los posibles riesgos entre los diferentes segmentos de la población (FAO y OMS, 2007).

## **1.7. EVALUACION DE RIESGOS**

Proceso con base científica que consta de las siguientes etapas: i) identificación del peligro, ii) caracterización del mismo, iii) evaluación de la exposición y iv) caracterización del riesgo (Instituto Nacional de Salud, 2011).

## **1.8. IDENTIFICACION DEL PELIGRO**

Es un proceso predominante cualitativo orientado a establecer la identidad de los microorganismos o las toxinas microbianas motivo de preocupación en los alimentos. Puede incluir información sobre el peligro en cuestión, así como los datos pertinentes conexos. El objetivo de esta etapa es recabar y evaluar la información acerca de las propiedades tóxicas de microorganismos patógenos que sean causal de algún daño biológico a los consumidores de determinado alimento (Vega, 1985).

En esta primera fase consiste en gran parte de una evaluación cualitativa del riesgo y en especial un examen preliminar de la información, porque en esta fase se recopilará la información disponible ya sea investigaciones epidemiológicas, estudios de vigilancia, evidencia clínica y microbiología, enfermedades agudas o crónicas, población de riesgo entre otros, debido a que servirá de marco de referencia con que se analizará con más detalles en las etapas posteriores, con el fin de determinar si hay suficiente evidencia para considerar si la sustancia o en este caso el factor biológico es un efecto adverso para la salud (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2005).

La identificación del peligro puede venir de diferentes fuentes, ya sean sectores de salud pública, industria alimentaria, científicos, legisladores, consumidores, etc. Es importante que exista un elevado grado de comunicación entre los gestores y los evaluadores del riesgo para así asegurar un entendimiento común del problema y del alcance de la información a tener en cuenta. Cualquier información útil para una futura toma de decisión deberá ser discutida al inicio de la evaluación, con el fin de guiar la dirección y selección de la información y asegurar de que se plantean cuestiones correctas a lo largo de la evaluación de riesgos (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2005).

Según la FAO (2007) hay estudios epidemiológicos recientes que ilustran el valor de la identificación de los microorganismos transmisión alimentaria hasta el nivel del genotipo al evaluar los riesgos.

## **1.9. CARACTERIZACION DEL PELIGRO**

La FAO/OMS (2004) lo define como un método que proporciona una descripción de los efectos adversos para la salud que se pueden derivar de la ingestión de un microorganismo. Cuando se dispone de datos, la caracterización del peligro debe incluir información cuantitativa sobre la relación dosis-respuesta y la probabilidad de resultados adversos.

El objetivo de esta etapa es proporcionar una descripción de la gravedad y duración de los efectos adversos que puede resultar la ingestión del peligro. Si es posible obtener los datos necesarios se realizara la evaluación de la relación dosis-respuesta. En esta etapa se debe tener en cuenta la información relacionada al peligro como: naturaleza, si se puede desarrollar fuera del organismo humano, factores de virulencia, dosis infectiva, atributos del alimento que puedan modificar la patogenicidad, esto en cuanto al microorganismo, para el ser humano se debe tener en cuenta el tiempo transcurrido de ingesta y aparición de síntomas, factores genéticos, características individuales (edad, nutrición, salud, embarazo, etc) (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2005).

### **1.10. EVALUACION DE LA EXPOSICION**

Evaluación cualitativa o cuantitativa de la ingestión probable de agentes biológicos, químicos y físicos mediante los alimentos, así como de la exposición procedente de otras fuentes (Instituto Nacional de Salud, 2011).

### **1.11. CARACTERIZACION DEL RIESGO**

Es la integración de las tres etapas anteriores para obtener una estimación del riesgo (es decir, una estimación de la verosimilitud y la gravedad de los efectos adversos para la salud que se producirían en una población determinada, con las correspondientes incertidumbres), a fin de obtener una estimación de la probabilidad y gravedad de los efectos adversos que podrían presentarse en una población (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2005).

### **1.12. ESTADO DEL ARTE**

En esta sección, luego de haber hecho una revisión de algunos trabajos previos relacionados y debido a las características generales de este patógeno, como su capacidad de ser ubicuo y la habilidad de ser psicótrofo, se ha podido detectar su presencia en diferentes alimentos

incluyendo las hortalizas, en diversos países, lo cual permitirá establecer un punto de partida para la realización de una revisión sistemática descriptiva de literatura sobre la presencia de *L. monocytogenes* en crucíferas como brócoli y coliflor.

A continuación, se presentan cada uno de los artículos relacionados, en forma resumida, contextualizando cada uno de los factores importantes de dichos trabajos

El Instituto Nacional de Salud hizo un estudio de evaluación de riesgo durante el proceso de producción del queso fresco que se comercializa en la ciudad de Bogotá y en los departamentos de Antioquia y Nariño, para la determinación e identificación de *L. monocytogenes*, cuyo resultado evidenció una prevalencia del 26,6%, presentándose principalmente en queso campesino, queso doble crema y cuajada; según la evidencia descrita en el documento se puede concluir que todas las etapas de la cadena presentan riesgo de contaminación debido a las características de ubicación del microorganismo. Sin embargo, la eficacia de los procesos de limpieza y desinfección son vitales para determinar la presencia o ausencia del microorganismo en el producto final, para ello es necesario implementar medidas preventivas y permitir la orientación de las acciones de inspección, vigilancia y control, usando los recursos de manera eficiente y protegiendo de esta manera la salud pública, reduciendo el riesgo de ETA. No obstante, no es posible estimar el riesgo de enfermarse por *L. monocytogenes* asociado al consumo de queso fresco debido a que Colombia no cuenta con información suficiente sobre el consumo, así como recuentos del microorganismo en leche cruda y en queso, datos de dosis/respuesta ni modelos de crecimiento específicos para el queso en estudio.

En cuanto a los alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de Bogotá, se realizó un estudio descriptivo transversal con componente analítico, en el cual se analizaron 600 alimentos, 300 de delicatessen y 300 de plazas de mercado. De las 600 muestras analizadas, se obtuvieron 68 positivas para *L. monocytogenes*, de estas 26 procedieron de delicatessen y 42 de plazas de mercado. El serotipo aislado con mayor frecuencia fue 4b en 53 aislamientos. Los quesos frescos y los quesos madurados mostraron mayor contaminación de *L. monocytogenes* que el resto de los alimentos de estudio, reafirmando que estos son vehículos de transmisión del microorganismo, convirtiéndolos de alto riesgo. Se requieren programas para implementar la normativa sobre vigilancia, reducción y control de este microorganismo con miras hacia la prevención de las enfermedades transmitidas por alimentos (Muñoz, Vargas, Otero, Diaz y Guzman, 2011).

En cuanto a la presencia en hortalizas, se determinó la frecuencia de *L. monocytogenes* en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga y rabanito, expendidos en mercados de Trujillo, Perú”, donde se evaluaron 240 muestras de diferentes mercados dando, como resultado que *L.*

*monocytogenes* estuvo presente en tomate 10,4%, zanahoria 31,3%, espinaca 23,0%, lechuga 29,2% y rabanito 33,3%. Como conclusión se determinó que las principales fuentes de contaminación fueron los manipuladores y los puestos de venta de hortalizas que presentaban condiciones higiénicas sanitarias no aceptables y por esto *L. monocytogenes* presentó una alta frecuencia en las hortalizas que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo, Perú (Perez y Chavez, 2012).

Carrasco (2007) estudió el análisis del riesgo microbiológico de *Listeria monocytogenes* en ensaladas de IV Gama en España. Donde la evaluación de la exposición constituyó la parte más compleja, pues se modelaron la concentración y prevalencia de *L. monocytogenes* a lo largo de la cadena “de la huerta a la mesa”. Se escogió el modelo dosis-respuesta Weibull-Gamma para caracterizar el microorganismo y con ello se calculó el número de casos al año en la población de bajo y alto riesgo para varios escenarios de prevalencia inicial del patógeno en lechuga. Obteniendo que el número de casos al año para varios escenarios de prevalencia inicial del microorganismo varió entre  $2 \times 10^1$ -  $9 \times 10^2$  y  $6 \times 10^4$  –  $3 \times 10^6$  para la población de bajo y alto riesgo, respectivamente. La mediana de cada rango disminuyó hasta valores de  $4 \times 10^{-2}$  y  $2 \times 10^2$  para las respectivas poblaciones, suponiendo el cumplimiento del criterio microbiológico  $\leq 100$  UFC/g a lo largo de la vida comercial del producto. Las posibles causas de la presencia de este patógeno posiblemente fueron la temperatura de almacenamiento doméstico, tiempo de almacenamiento doméstico en el momento de consumo. De las cuatro medidas de gestión analizadas para su disminución, la inyección de gases durante el empaquetado de las ensaladas ( $\text{CO}_2 \approx 5,5\%$ ,  $\text{O}_2 \approx 3\%$  y balance de  $\text{N}_2$ ) fue la más efectiva para la reducción del número de casos, seguido por un almacenamiento doméstico en refrigeración = 4 días, y una disminución del consumo de ensaladas de IV gama por parte de la población de alto riesgo (disminución del 50% de la probabilidad de consumo).

En alimentos listos para consumo se realizó una evaluación de riesgos para el microorganismo *Listeria monocytogenes* (FAO/OMS, 2004) con el objeto responder a la solicitud del comité del CODEX sobre higiene de los alimentos con el fin de elaborar unas directrices sólidas para el control de *L. monocytogenes* en alimentos y además responder a las necesidades de los países miembros para adaptar esta evaluación de riesgo y de esta forma puedan usarlo como soporte para apoyar las decisiones de gestión de riesgos y llevar a cabo sus propias evaluaciones. Esta evaluación fue realizada con el fin de abordar algunas preguntas como: ¿Cuál es el riesgo de enfermarse gravemente por infección de *L. monocytogenes* presente en alimentos cuando el número de microorganismos está en el intervalo de ausencia en 25g hasta 1000 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo por mililitro, o no supera, en el momento del consumo, los niveles especificados?, ¿Cuál es el riesgo de enfermarse seriamente al que están sujetos los consumidores de diferentes grupos de población vulnerables (personas mayores, lactantes, mujeres embarazadas y personas con

inmunodeficiencia) en relación con el de la población general? Y por último ¿cuál es el riesgo de enfermar gravemente por infección de *L. monocytogenes* presente en alimentos en los cuales puede proliferar y en alimentos en los que no prolifera en condiciones específicas de almacenamiento y vida útil?

La evaluación de riesgos comprende las etapas de Identificación de los peligros, caracterización de los peligros, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo y adoptando un enfoque cuantitativo donde se utilizaron modelos matemáticos para estimar el riesgo por unidad de consumo y el riesgo para una población en un año correspondiente. Los autores limitaron el estudio a 4 alimentos listos para consumo (leche, helados, pescado ahumado en frío y productos cárnicos fermentados), en punto de venta al por menor y a su efecto subsiguiente en la salud pública en el momento de su consumo, todo esto con el fin de proporcionar ejemplos de las técnicas de evaluación de riesgos microbiológicos y poder responder a las preguntas planteadas anteriormente. Dando como resultado que la gran mayoría de los casos de listeriosis se producen como resultado del consumo de grandes cantidades de *Listeria* y de alimentos cuyo nivel de contaminación con el patógeno supera el límite vigente, cualquiera que fuere. El modelo pronostica asimismo una probabilidad baja de contraer este síndrome tras el consumo de cantidades pequeñas de *L. monocytogenes*. La eliminación de los niveles más altos de contaminación con *L. monocytogenes* en el momento del consumo del alimento influye en gran medida en el número de casos de este síndrome pronosticados, por lo tanto se concluye que aunque los datos disponibles se consideran suficientes, la evaluación de riesgos podría mejorarse con datos adicionales y de mejor calidad para cada factor de evaluación, por otro lado las medidas de control que reducen la frecuencia de contaminación reducen de forma proporcional la incidencia de la enfermedad, siempre que la proporción de alimentos con niveles altos de contaminación se reduzca en una medida similar y que la inmensa mayoría de los casos de listeriosis están asociados al consumo de alimentos que no cumplen las normas vigentes relativas a la presencia de este patógeno en alimentos (FAO/OMS, 2004).

### **1.13. MARCO LEGAL**

- **Resolución 2674 de 2013 expedida por el Ministerio de Salud y Protección Social.** Requisitos sanitarios que deben cumplir las personas naturales y/o jurídicas que ejercen actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos y materias primas de alimentos.

- **Decreto 3075 de 1997 (243) expedido por el Instituto Nacional de Vigilancia de medicamentos y Alimentos (INVIMA).** Regula los aspectos relacionados con las buenas prácticas de manufactura que se deben observar en las plantas procesadoras de alimentos y espacios destinados a la preparación de alimentos.
- **Norma Técnica Colombiana 1291 (ICONTEC, 1977).** Establece la terminología, los requisitos y los sistemas de clasificación de las frutas y hortalizas destinadas a ser consumidas en estado fresco.
- **Norma Técnica Colombiana 5422 (ICONTEC, 2007).** Establece los requisitos que deben cumplir los empaques y embalajes utilizados en la comercialización de frutas, hortalizas y tubérculos frescos, con el propósito de conservar su calidad, protegerlos de agentes contaminantes y prevenir la contaminación del medio ambiente.
- **Norma Técnica Colombiana 4486 (ICONTEC, 1998).** Presenta la terminología morfológica y estructural de frutas y verduras.
- **Documento CONPES 3514 de 2008.** Política nacional fitosanitaria y de inocuidad para las cadenas de frutas y otros vegetales.
- **Resolución 00224 de 2007 expedida por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo.** Requisitos mínimos que deben cumplir los empaques de los productos agrícolas para consumo humano que se importen, se produzcan y se comercialicen en el territorio nacional.
- **CODEX ALIMENTARIUS, 1981,** Norma del Codex para brócoli congelado (CODEX STAN 110-1981). Donde se define el producto, el proceso, las prácticas de manipulación, la presentación del producto, los factores esenciales de composición y calidad del producto, etiquetado y envasado.
- **CODEX ALIMENTARIUS, 1981,** Norma del Codex para coliflores congeladas (CODEX STAN 111-1981). Donde se define el producto, el proceso, las prácticas de manipulación, la presentación del producto, los factores esenciales de composición y calidad del producto, etiquetado y envasado
- **Resolución 719 de 2015 expedido por el INVIMA.** Por la cual se establece la clasificación de alimentos para consumo humano de acuerdo con el riesgo en salud pública.

- **Resolución 14712 de 1984 expedida por el Ministerio de Salud.** Se reglamenta lo relacionado con producción, procesamiento, transporte, almacenamiento y comercialización de vegetales como frutas y hortalizas elaboradas.



## **2. METODOLOGÍA**

La revisión sistemática descriptiva es basada en la evidencia, por lo tanto se requiere la recopilación de información pertinente sobre la presencia de *L. monocytogenes* en brócoli y coliflor con el fin de ayudar a tomar nuevas medidas para determinar si hay necesidad de realizar un perfil de riesgos, para ello se llevara a cabo una revisión sistemática narrativa teniendo en cuenta los siguientes pasos

### **2.1. REVISIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Para el cumplimiento del primer objetivo planteado en el documento se realizará una recopilación de aquella información que cumpla con los criterios de inclusión que incluyen: artículos científicos de revistas indexadas, investigaciones epidemiológicas, estudios de vigilancia, evidencia clínica y microbiológica, entre otros (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2005). Según Hernández, Fernández y Baptista (2006) debido a que todos los años en el mundo publican artículos en revistas, periódicos, libros etc, es evidente que se debe seleccionar los documentos más importantes, recientes y oficiales que se relacionen directamente con el planteamiento del problema. Lo anterior con el fin de crear un marco de referencia que servirá para etapas posteriores, por lo tanto, se lleva a cabo la recopilación siguiendo tres tipos de fuentes básicas:

El primero corresponde a las fuentes primarias que son documentos que proporcionan datos de primera mano, en ellos se encuentran resultados de estudios como libros, antologías, artículos, monografías, tesis, entre otros.

El segundo concierne a las fuentes secundarias que son listas, compilaciones y resúmenes de referencias o fuentes primarias publicadas, las cuales expresan brevemente artículos, libros, tesis, y otros documentos especializados.

En cuanto al tercero son las fuentes terciarias consisten en documentos donde se encuentran registradas referencias a otros documentos y que comprenden nombres, títulos de revistas u otras publicaciones.

Para realizar la recopilación de lo anterior se consultarán primero las fuentes terciarias y secundarias, con el fin de localizar más fácilmente las fuentes primarias; por ello iniciaremos la búsqueda consultando las bases de datos de la Universidad de La Salle, entre ellas se encuentran:

- Scopus: Es una base de datos que permite una visión multidisciplinaria de la ciencia que integra fuentes relevantes para el desarrollo de investigaciones; en ella se encuentran referencias bibliográficas con más de 18000 títulos de 5000 editoriales internacionales, siendo actualizada su plataforma diariamente.
- Science Direct: esta base de datos permite garantizar la calidad del contenido y sus publicaciones debido a que están supervisadas por consejos editoriales. En ella se relacionan más de 12 millones de artículos y capítulos de libros, 2,500 títulos de revistas y más de 30,000 libros electrónicos, un reciente número de revistas de acceso abierto sin costo y archivos digitales desde el año 1823.
- Proquest: esta plataforma facilita la consulta a 32 bases de datos con 13000 revistas en formato digital en cualquier campo del conocimiento.
- E-Brary: facilita el acceso a 35000 libros digitales en todos los campos del conocimiento.

La consulta de fuentes primarias asegura un entendimiento del problema y del alcance de la información, se identifica la aproximación que se quiere, como se quiere estimar el riesgo, teniendo en cuenta si es por exposición, por año, de un individuo, de la población o por un segmento determinado de la misma; esto ayudara a dar dirección y selección correcta de la información (FAO y OMS, 2007).

## **2.2. ANALISIS DE LA INFORMACION**

En este objetivo se realiza una evaluación cualitativa o cuantitativa de la naturaleza de los efectos nocivos para la salud relacionados con agentes biológicos que están presentes en los alimentos objeto de estudio.

Para ello se elaborará una descripción del peligro microbiológico en el alimento o alimentos implicados teniendo en cuenta factores de virulencia, dosis infectiva, tiempo transcurrido entre ingesta y aparición de síntomas, factores genéticos, características individuales de susceptibilidad del individuo, descripción de la gravedad, y duración de los efectos adversos que pueden resultar de la ingestión del peligro (FAO y OMS, 2007).

### **2.3. GENERACION DE RECOMENDACIONES**

Se plantea generar recomendaciones para la disminución de los posibles riesgos que pueda presentar *L. monocytogenes* en crucíferas, proponiendo medidas para mitigar la exposición de la población a dicho riesgo (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria 2005). Para ello se abordará la cadena de producción, donde se identificarán y clasificarán las etapas, entre las cuales intervienen: producción primaria, transporte, envasado y distribución, con el fin de identificar las características del producto y el peligro que podría repercutir en la disponibilidad, viabilidad e información sobre posibles medidas de control de riesgos y de las posibles lagunas de información que permitan indicar la necesidad o no de realizar un perfil de riesgos (FAO y OMS, 2007).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la mayoría de países en desarrollo, se ha evidenciado una alta incidencia en problemas de salud pública, entre ellos los transmitidos por los alimentos como la listeriosis causada por especies de *Listeria* spp, ampliamente distribuidas en la naturaleza, siendo *L. monocytogenes* la especie frecuentemente involucrada en brotes, además de esto es un patógeno con una tasa de mortalidad alta en población susceptible.

#### 3.1. IDENTIFICACION DEL PELIGRO

Para dar cumplimiento al primer objetivo se realizó la revisión sistemática descriptiva para identificar las características generales y de prevalencia del microorganismo así como de la matriz alimentaria en este caso brócoli y coliflor.

##### 3.1.1. Listeria

El género *Listeria* (*Phylum firmicutes*) comprende un grupo de bacterias gram-positivas, no formadoras de esporas (Rosimin, Kim, Joo, Suh y Kim, 2016), son cocobacilos en forma de barra de 0,5-2  $\mu\text{m}$  de largo por 0,5  $\mu\text{m}$  de grueso (Reguera, Nieto, González, Ortiz y Rodríguez, 1995), con la capacidad de ser facultativo. Dentro de este género se reconocen taxonómicamente seis especies estrechamente relacionadas: *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria seeligeri* y *Listeria grayi* (Rosimin, Kim, Joo, Suh y Kim, 2016). Durante los últimos 6 años, aplicando el método de la norma ISO 11290-1, se han aislado nuevas especies de este género (Barre *et al.*, 2016). Las colonias son pequeñas de 1 a 2 mm tras uno o dos días de incubación, son lisas y presentan de 1 a 5 flagelos peritricos que les confieren movilidad a 28°C (Alonso y Poveda, 2008).

En los años 80 se reconoce este género como un agente causal del síndrome transmitido por alimentos llamado listeriosis (González y Suárez, 2007) este se encuentra ampliamente distribuido en muchos entornos diferentes y puede ser recuperado de una variedad de animales y diversos ambientes (incluidas las fuentes acuáticas y no acuáticas) al igual que en distintos puntos del procesamiento y almacenamiento de alimentos (Nufer, Stephan y Tasara, 2007). La principal especie relacionada a este síndrome es *L. monocytogenes*.

### 3.1.2. *Listeria monocytogenes*

- **Características de crecimiento y sobrevivencia**

Es un bacilo gram positivo, anaerobio facultativo, no formador de esporas (Wonderling, Wilkinson y Bayles, 2004). Este organismo es psicrotrofo y crece dentro de un rango de temperatura de 0° a 45°C, siendo su temperatura óptima 37°C. Su crecimiento se da con una actividad de agua superior a 0,92 (Sánchez y Palencia, 2010). *L. monocytogenes* puede crecer a pH entre 4,4 y 9,6 (Muñoz, 2012). La naturaleza ubicua de esta patógeno, así como la capacidad de crecer a temperaturas muy bajas, altas concentraciones de sal, calor extremo y en entornos de bajo pH, hacen que la contaminación de la línea de procesamiento de alimentos pueda suceder en cualquier etapa (Strydom, Vorster, Gouwns y Witthuhn, 2016).

Una forma de modelar el crecimiento de esta patógeno en los alimentos es a través de la microbiología predictiva, herramienta útil para evaluar el potencial de desarrollo de *L. monocytogenes* en productos listos para el consumo (Huang, 2016), este se simula ampliamente por modelos matemáticos, mediante un conjunto de ecuaciones diferenciales con el fin de describir la interacción de los efectos de la temperatura, la actividad de agua, antimicrobianos (Sánchez y Palencia, 2010), predecir cambios en la población de *Listeria* en función del nivel de contaminación y las características del entorno de la matriz donde se encuentre (Mishara, Guo, Buchanan, Shaffner y Pradhan, 2016).

En cuanto a la sobrevivencia, *L. monocytogenes* es relativamente resistente al calor si se encuentra en concentraciones elevadas del orden de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/mL, pero en bajos niveles se destruye a temperaturas de pasteurización (71°C por 15s) (Michanie, 2004), también es capaz de sobrevivir durante largos periodos en condiciones muy complicadas, como las temperaturas de refrigeración utilizadas para la conservación de alimentos (Castro *et al.*, 2016).

Una característica importante de *L. monocytogenes* es su capacidad para formar biopelículas en superficies como el acero inoxidable, plástico, policarbonato y otros materiales que se encuentran en contacto directo con el alimento (Cadena, 2011). La formación de estas biopelículas comprende dos fases: en la primera se da la adsorción de la patógeno a la superficie, (fase potencialmente reversible), y en la segunda se da una adherencia debido a la producción de polisacáridos extracelulares y es irreversible (Carrillo, Redondo y Arias, 2010). Estas biopelículas representan una estrategia de supervivencia para el microorganismo que se encuentran en ella, pues proporciona una protección contra los mecanismos de erradicación microbiana (Cadena, 2011), ya que los microorganismos que se encuentran dentro de la biopelículas se encuentran protegidos, lo que los hace tolerantes a los detergentes

y desinfectantes y por lo tanto difíciles de eliminar (Castro *et al.*, 2016) también ayuda al acceso de nutrientes, lo que permite que al interior se desarrolle un ambiente favorable para que las células sobrevivan bajo condiciones desfavorables (Asad y Opal, 2008). Además, puede adherirse a superficies previamente colonizadas por otras bacterias y formar biopelículas de especies mixtas (Oleszewska, Zhao y Dyle, 2016).

Se puede presentar contaminación cruzada en superficies que hayan sido tratadas con algún bactericida (Oleszewska, Zhao y Dyle, 2016). Por lo tanto existe la necesidad de identificar agentes anti-biopelículas seguros y eficaces a partir de fuentes naturales como por ejemplo los compuestos fenólicos y flavonoides derivados de plantas, con el fin de reducir la prevalencia de *L. monocytogenes* (Sivaranjani *et al.*, 2016).

- **Inactivación e inhibición del crecimiento**

Existen diversos métodos para la limitación del crecimiento de *L. monocytogenes* como los tratamientos térmicos (Molina, Mercado y Carrascal, 2009) combinados con sales (Li, Huang y Hwang, 2013), ultra altas presiones (Briñez, 2006), agua electrolizada oxidadora (Casadiego, cuartas, Mercado y Carrascal, 2004), entre otras.

El tratamiento térmico es el método de inactivación tradicional mediante la inhibición de la actividad de las proteínas y enzimas intracelulares para dañar las membranas celulares y ácidos nucleicos (Xuan *et al.*, 2016), para este caso se pueden emplear 61,7°C durante 35min; 70°C durante 2min; 78°C durante 15s o 80°C durante 5s son suficientes para su inactivación (Sánchez *et al.*, 2009).

Para el uso de ultra altas presiones los estudios han demostrado que los microorganismos como *L. monocytogenes* se inactivan cuando se exponen a presiones entre 400 y 600 MPa durante varios minutos sobre la superficie de los vegetales (Stratakos *et al.*, 2016). Recientemente el uso de agua electrolizada se ha empleado como un desinfectante en la descontaminación y conservación de alimentos, con una fuerte actividad bactericida (Xuan *et al.*, 2016).

Otra forma de inactivarlos es a través de procesos de antagonismo. En estudios realizados por Mousa-Boudjema *et al.*, (2004), se comprobó que aproximadamente el 94% de las cepas de bacterias lácticas mostraban alguna actividad antagonista frente a *L. monocytogenes* debido a la producción de bacteriocinas. Sin embargo, un inconveniente con el uso de estas sustancias, es la aparición de mutantes resistentes, como se ha observado en el empleo de la bavaricina A y la nisina (Sánchez *et al.*, 2009).

La combinación de métodos no térmicos con tratamientos antimicrobianos puede aumentar el efecto letal de los procesos no térmicos, reduciendo la severidad o el tiempo de exposición a estos, preservando las propiedades fisicoquímicas y el valor nutricional de los alimentos (Severino *et al.*, 2014). A manera de ejemplo, la radiación ionizante puede eliminar con eficacia *L. monocytogenes* al ser capaz de penetrar en las áreas protegidas de los productos frescos y congelados (superficie, debajo de ella y en el interior); sin embargo, el grado en que se encuentra la biopelícula puede influir en la sensibilidad a la radiación de las bacterias, sean estas nativas no patógenas o contaminantes patógenos (Bari *et al.*, 2005).

- **Factores de virulencia**

La vía de entrada de *L. monocytogenes* en el organismo en la mayoría de las formas más naturales de listeriosis es la vía oral. La ingestión del alimento con cantidades suficientemente altas de este microorganismo provoca en gran número de casos una infección subclínica, a veces solo apreciable por una ligera elevación de la temperatura corporal.

La listeriosis se presenta a menudo como gastroenteritis febril, tal patogenicidad está determinada por atributos propios de la bacteria como los del huésped. Esta combinación determina el estado de salud de los individuos infectados. Los avances en las técnicas de biología molecular han permitido identificar diversos factores de virulencia implicados en procesos clave del ciclo intracelular de este patógeno (Larrain y Carvajal, 2008).

A continuación se relacionan algunos de los factores de virulencia de *L. monocytogenes*:

- ✓ **Respuesta al estrés.** El fenómeno llamado “endurecimiento al estrés” o “respuesta adaptativa al estrés”, se refiere a la capacidad del microorganismo de generar mayor resistencia a factores letales después de la adaptación a las tensiones ambientales, lo cual puede contrarrestar la eficacia de los métodos de conservación y comprometer la inocuidad alimentaria (Godinez, 2014).

*Listeria monocytogenes* se adapta a condiciones de estrés gracias a la absorción y la acumulación de moléculas llamadas solutos compatibles, sin embargo, bajo ciertas condiciones de estrés, los solutos compatibles son insuficientes para contrarrestar los efectos negativos del estrés y por lo tanto las células deben utilizar mecanismos adicionales para sobrevivir o adaptarse (Wonderling, Wilkinson y Bayles, 2004).

Una serie de estudios han confirmado la implicación de la expresión del factor sigma, genes dependientes en tal resistencia al estrés (Giotis, Blair y

McDowell, 2007). Los mecanismos por los cuales *L. monocytogenes* sobrevive bajo estas fuertes condiciones de estrés físico y químico no se entienden completamente (Harvey, Keenan y Gilmour, 2007), sin embargo algunos estudios han determinado que el regulador de estrés es el factor  $\sigma^B$ , que juega un papel importante, tanto en la sobrevivencia de *L. monocytogenes* al ser expuesta a un estrés ambiental, como en la regulación de la transcripción de genes de virulencia, tales como: *prfA*, *bsh*, *inlA* y *inlB*<sup>54</sup>. Otro importante regulador es VirR, sistema que pertenece a uno de los 17 sistemas de dos componentes presentes en *L. monocytogenes*. VirR/VirS controla positivamente la transcripción de 17 genes<sup>54</sup>. VirR es responsable de la activación del gen *dltA* involucrado en la D-alanilación de los ácidos lipoteicoicos y en la virulencia de *Listeria*. Además, está involucrado en la activación del gen *mprF*, el cual está implicado en la modificación de fosfolípidos y proporciona resistencia a péptidos antimicrobianos catiónicos (Vera, González, Dominguez y Bello, 2013).

- ✓ **Adherencia e invasión.** *L. monocytogenes* es un parásito intracelular facultativo que entra en el hospedador de forma primaria a través del intestino (López, Suárez, Chico-calero, Navas y Martínez Suárez, 2006). Cuando *L. monocytogenes* se encuentra en el tracto gastrointestinal y una vez llega a el intestino, crece eficazmente dentro de los enterocitos y mononucleares, lo cual permite que parte de su población alcance la circulación sanguínea y se disemine por vía hematogena. El ciclo comienza con la adhesión a la superficie de la célula eucariota y la subsecuente penetración de la bacteria dentro de la célula hospedadora mediante fagocitosis (López, Suárez, Chico-calero, Navas y Martínez Suárez, 2006). Se ha logrado estudiar *in vitro*, debido principalmente a que la bacteria es capaz de reproducirse en el interior de macrófagos y células intestinales indiferenciadas (Ireton y Cossart, 1997).

La susceptibilidad del hospedero juega un papel importante en la presentación de este síndrome luego de la exposición a *L. monocytogenes* (Torres, Sierra, Pouton, Carrascal y Mercados, 2005), la estrategia básica de los patógenos intracelulares para poder sobrevivir el mayor tiempo posible en la célula infectada, se basa en no extraer de la célula hospedera una cantidad excesiva de nutrientes esenciales para su metabolismo, de lo contrario, la célula hospedera se quedara sin nutrientes y morirá, haciendo que las bacterias pierdan su nicho de crecimiento. Más aún, las bacterias intracelulares han desarrollado mecanismos para utilizar productos de desecho o no



indispensables en el metabolismo de la célula hospedera para su desarrollo (Larrain y Carvajal, 2008).

Mediante el desarrollo de cepas mutantes, *L. monocytogenes* se demostró que es capaz de utilizar fuentes de carbono alternativas (eje: glucosa fosforilada), o también fuentes alternativas de nitrógeno, durante su replicación en células epiteliales y que la vía de las pentosas y no la glicolisis es la vía predominante para metabolizar los azúcares en los tejidos del hospedero (Larrain y Carvajal, 2008).

En cuanto a la invasión una de las propiedades más llamativas de este patógeno es su capacidad para entrar en las células no fagocitas a través de la acción de dos de sus proteínas de superficie (Disson y Lecuit, 2013), llamadas internalina (InlA) que es una proteína de la pared celular bacteriana anclado covalentemente que se une a E-cadherina (Pizarro Cerdá, Charbit, Enninga, Lafont y Cossart, 2016) y InlB es una segunda molécula de la superficie bacteriana débilmente unida a ácidos lipoteicoicos que pueden interactuar con la molécula huésped (Pizarro Cerdá, Charbit, Enninga, Lafont y Cossart, 2016). La habilidad de *Listeria* spp, para colonizar y crecer en un amplio rango de ecosistemas se correlaciona con la presencia de 331 genes que codifican para diferentes proteínas de transporte (Torres *et al.*, 2005).

Otras proteínas que se encuentran involucradas en el proceso son: ActA que es un ácido-amino 639, y la p60 que es la proteína más secretada de todos los aislamientos de *L. monocytogenes*, pero ésta también se encuentra en las superficies de este patógeno. La p60 es la responsable de la invasión intestinal y la supervivencia *in vivo* de *L. monocytogenes* (Duque y Varon, 2006).

- **Resistencia a agentes antimicrobianos**

En la actualidad, aún es difícil comprender la alta letalidad de *L. monocytogenes*, considerando que las cepas son susceptibles a gran parte de los antibióticos. La efectividad de los agentes antimicrobianos se ve reflejada en la acción contra la célula al interior de la bacteria; a pesar de la buena actividad *in vitro* que exhiban, solo un grupo de agentes antimicrobianos logra ser efectivo (Vera, González, Dominguez y Bello, 2013). Pese a que su resistencia es muy ocasional, excepto en lo tocante a las tetraciclinas. Se ha comprobado que el microorganismo puede adquirir genes de resistencia procedentes de *Enterococcus* spp. *Streptococcus*, entre *Listeria* spp y otros, lo cual llega a aportarle tolerancia a otros

antibióticos como la gentamicina, estreptomina, eritromicina y sulfametoxazol (Ireton y Cossart, 1997).

La aparición de resistencia a los antibióticos de los agentes bacterianos se ha convertido en un importante problema de salud pública. Una tasa creciente de la resistencia antimicrobiana en *Listeria* spp había sido reportado en muchos países desarrollados y en desarrollo (Gurler, Pamuk y Yildirim, 2015), sin embargo, el primer reporte de resistencia a antibióticos se hizo en 1988, mediante un aislado clínico de un paciente con meningitis el cual demostró poseer resistencia al cloranfenicol, eritromicina, estreptomina, y tetraciclina (Kovacevic, Sagert, Wozniak, Gilmour y Allen, 2013).

La penicilina y ampicilina son los agentes preferidos pero debido a la actividad bactericida retardado contra *Listeria*, la mayoría de los expertos sugieren la adición de gentamicina a la ampicilina para el tratamiento de la listeriosis. La combinación de ampicilina con gentamicina ha sido el tratamiento preferido en la parte clínica (Fernandez *et al.*, 2012).

Diferentes autores han descrito aislamientos de *L. monocytogenes* resistentes a antimicrobianos de elección y de no elección, los cuales se pueden observar en Tabla 1.

**Tabla 1.** Aislamientos de *L. monocytogenes* resistentes a antibióticos

Lugar	Año	Resistencia	Referencias
Francia	1990	Cloranfenicol, eritromicina y tetraciclina	Poyart <i>et al.</i> (1990)
España	1996	Cefotaxima, cefoxitina, tobramicina, amikacina, cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina	Rota <i>et al.</i> (1996)
España	2001	Tetraciclina	Vela <i>et al.</i> (2001)
España	2004	Tetraciclina	Hernández y Godoy (2004)
Colombia	2008	Rifampicina, clindamicina, azitromicina y eritromicina	Ruíz <i>et al.</i> (2011)
Grecia	2009	Tetraciclina	Filioussis <i>et al.</i> (2009)
Francia	2010	Tetraciclina y fluoroquinolonas	Morvan <i>et al.</i> (2010)

Fuente: Niño (2012)

Con relación al desarrollo de resistencia, desde hace tiempo se conoce un factor de gran importancia que es la capacidad de este patógeno para adaptarse a condiciones ambientales adversas, de modo que la exposición de *Listeria* a niveles subletales de un agente antimicrobiano, facilita la adaptación y la adquisición de resistencia al antibiótico, incluyendo la resistencia cruzada con otros agentes antimicrobianos (Ruiz, Poutou y Carrascal, 2008).

Una gran cantidad de estudios se han centrado en la resistencia de cepas de *L. monocytogenes* aisladas de diferentes fuentes de agentes antimicrobianos, desinfectantes y metales pesados. Sin embargo no se sabe mucho acerca de la resistencia a estos compuestos, especialmente aislados del ambiente de plantas de procesamiento de alimentos (Korsak y Szuplewska, 2016).

En cuanto a los desinfectantes, estos han sido de gran valor para la sociedad durante más de 100 años, proporcionando numerosos beneficios para el control de microorganismos patógenos (Kastbjerg y Gram, 2012). Se han encontrado numerosos estudios que han demostrado un aumento de la tolerancia que *L. monocytogenes* posee hacia los compuestos de amonio cuaternario (Moretro *et al.*, 2016) y la respuesta a diferentes concentraciones de NaCl y condiciones ácidas en términos de tiempo de retardo y tasa de crecimiento (Magalhães *et al.*, 2016). Además estudios previos han demostrado que *L. monocytogenes* son susceptibles a los desinfectantes comerciales aplicados en concentraciones recomendadas por el fabricante (Magalhães *et al.*, 2016), de igual forma este patógeno ha venido mostrando resistencia a más de 10 desinfectantes de superficies cuando se emplea la técnica de superficie que la de suspensión, esto se debe a que, con la técnica de superficie, el desinfectante entra en contacto con el microorganismo en una sola dirección mientras que en suspensión rodea el microorganismo lo que favorece su acción. Una de las causas de esta tolerancia es el contacto por tiempos prolongados de este microorganismo a los desinfectantes, por tal razón se recomienda la rotación de los mismos para disminuir la adaptabilidad del microorganismo a los desinfectantes (Ruiz, Poutou y Carrascal, 2008).

- **Fuentes de contaminación**

Los mecanismos de contaminación se refieren al proceso de traslado de gérmenes hasta el alimento, la contaminación surge por la manipulación de trabajadores que no se ajustan a las prácticas sanitarias, el lavado en contenedores que no han sido correctamente desinfectados y la disponibilidad de una adecuada calidad microbiológica del agua, estas son condiciones obligadas para evitar el ingreso de gérmenes patógenos durante el riego (Fernandez Escartin y Peña Cabriales, 2011).

*L. monocytogenes* ha sido aislada de diferentes sitios ambientales, como suelo, plantas, barro, pasto, heces humanas y animales, una gran variedad de alimentos y aguas de arroyos (Alcayaga y Hott, 2008), mediante un estudio realizado por Lyautey *et al.*, (2007) se encontró *L. monocytogenes* en aguas de las cuencas del río del sur de Ontario Canadá, por lo tanto hubo una relación significativa entre la presencia de este patógeno y la proximidad a una granja de productos lácteos y tierra cultivada, lo que representa un problema de salud pública relacionado con el uso del suelo agrícola. El riego, las actividades de cosecha, el manejo pos cosecha y el empaquetado implica el uso de agua con la cual el alimento entra en contacto directo. El hecho de que no se realice un adecuado manejo del agua, desinfección y almacenamiento pueden traer consecuencias que se ven reflejadas en brotes de enfermedades (Fernandez Escartin y Peña Cabriales, 2011).

Las superficies pueden ser otra fuente de contaminación, ya que al haberse realizado un muestreo de *L. monocytogenes* en cocinas de 35 hogares elegidos al azar, encontrando siete de estar contaminados. Ellos fueron aislados con un hisopo de los refrigeradores, paños de cocina y de dos cubos de basura. Al parecer los paños de cocina podrían ser una fuente importante de estos organismos en el hogar (Cox *et al.*, 1989).

Los operarios es una distinta fuente de contaminación. En un estudio llevado a cabo por Muñoz, Chaves, Rodríguez y Realpe (2013), donde determinaron la prevalencia de *L. monocytogenes* en manipuladores de alimentos de empresas dedicadas a la producción de derivados lácteos y cárnicos, en 10 departamentos en Colombia, encontraron que 138 (10,4 %) manipuladores de alimentos resultaron positivos para *L. monocytogenes* hallando asociación estadísticamente significativa entre la presencia del microorganismo y “no conocer el concepto de contaminación cruzada” así como con “no practicar procedimientos de limpieza y desinfección adecuados”. Resultado similar al encontrado en los análisis directos en alimentos lácteos y cárnicos en Colombia que oscilan entre el 10 % y el 16 %.

Otra fuente de contaminación es en la industria alimentaria donde las máquinas cortadoras pueden actuar como sitios de anidamiento de *L. monocytogenes* y este organismo puede adherirse rápidamente a otras superficies de preparación de alimentos, por ejemplo, superficies de acero inoxidable (Overney, Chassaing, Carpentier, Guillier y Firmesse, 2016). También se encuentran los manipuladores como fuente de contaminación importante, en la literatura científica abundan registros de brotes de listeriosis en los que el factor decisivo fue una persona que los ha contaminado a través de las manos (Guzewich y Ross, 1999). El uso de agua potable y el constante lavado de manos es condición indispensable para garantizar la inocuidad de los productos (Fernandez Escartin y Peña Cabriales, 2011).

### **3.1.3. Brócoli**

Es una crucífera nativa de Asia occidental y de las costas de mediterráneo en Europa, el brócoli tiene alto valor nutricional y medicinal, por sus propiedades antivirales y su alto contenido de cromo. Recientes investigaciones demostraron que la presencia en la hortaliza de una sustancia anticancerígena denominada sulfurafano que también se puede encontrar en la coliflor, las repollitas, las cebollas de rama y las habichuelas. El brócoli es bastante resistente, y las variedades purpuras y blancas con tallos son muy útiles, ya que maduran de forma muy temprana, cuando no hay muchas otras hortalizas frescas disponibles (Duran, 2013).

Según Flórez, Segura y Ortiz (2010) esta crucífera tiene un aporte vitamínico que confiere un excelente valor nutricional, es una fuente importante de provitamina A (beta carotenos), vitaminas C y ácido fólico, lo que contribuye al mantenimiento de tejidos corporales y está catalogada como la hortaliza con mayor valor nutritivo por unidad de peso de producto comestible.

En Colombia, para que se dé el cultivo del brócoli, los departamentos de Cundinamarca, Antioquia, Boyacá, Nariño y Norte de Santander son los más apropiados, debido a que son departamentos de piso térmico frío, con temperaturas promedio entre 15 y 17 °C. Sin embargo en la sabana de Bogotá es la región de mayor producción de brócoli en el país ya que se presenta una temperatura promedio de 14°C, con dos temporadas secas y dos húmedas, es decir que presenta condiciones climáticas adecuadas para este cultivo (Flórez, Segura y Ortiz, 2010).

### **3.1.4. Coliflor**

Según Maroto, Pomares y Baizauli, (2007) la coliflor es una hortaliza proveniente del mediterráneo que se ha vuelto popular en todo el mundo. Pertenece a la familia *Cruciferae*, siendo el nombre científico de la coliflor el de *Brassica oleracea* var. *Botrytus*. Es una planta herbácea, vivaz, de tallo vigoroso de hasta 50cm de altura, poco ramificada y con hojas grandes, alargadas, lampiñas y de color verde claro. Las flores, agrupadas en inflorescencias, son grandes y amarillas. El cáliz posee cuatro sépalos y la corola cuatro pétalos alternos. El conjunto de estas inflorescencias blancas o de amarillo pálido, o es lo que se denomina pella, la cual se encuentra rodeada y protegida por las hojas (Quintero, 1983).

Presenta un bajo contenido en calorías, aunque este pueda cambiar dependiendo de la variedad empleada y de las condiciones de cultivo, sin embargo son ricas en minerales y presentan elevados contenidos en glucosinolatos, especialmente isotiocionato de alilo y butilo. Tiene mucho contenido de agua, folatos, fibras y también muchas vitaminas de los grupos B y C, cualidades que la convierten en un vegetal ideal para ser consumido en cualquier época del año y de múltiples maneras, lo cual la hace útil para el colágeno, los huesos y ayudan a prevenir algunas enfermedades degenerativas y estimula el sistema inmunológico y todo esto gracias a su capacidad antioxidante (Duran, 2013).

- **Consumo de brócoli y coliflor**

Las frutas y hortalizas frescas son componentes esenciales de la dieta humana y existe evidencia considerable de la salud y beneficios nutricionales asociado con el consumo de frutas frescas y hortalizas. De acuerdo a la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (Ensin, 2010) en Colombia entre el 2006 y 2010 el promedio de consumo es de 1,16t por 1000 habitantes, puesto que solo se consume una vez por semana. Según un estudio realizado por Galindo, (2015) para determinar el número de porciones que se consumen semanalmente de Brocoli en Bogotá D.C., en personas entre edades de 15 a 39 años, se definió una porción de 140 a 150g.

En cuanto a otros países como España, el consumo de frutas y verduras recién cortadas sigue siendo baja (1-1,5kg por persona por año) en comparación con el resto de Europa (Reino unido 12kg; Francia 6kg; Italia, 4kg y Alemania, Bélgica y países bajos con más de 3kg) y EE.UU. (30 kg por persona). Sin embargo, en España este mercado está mostrando un incremento anual de ventas de alrededor de 20% con 53,465t vendidas en 2006 (Abadias, Usall, Anguera, Solsona y Viñas, 2008).

### **3.1.5. Alimentos asociados al problema**

La contaminación de alimentos con *L. monocytogenes* es común y existe evidencia de que una alta proporción de los casos del síndrome en humanos son adquiridos por ingestión de alimentos contaminados (Harvey, Keenan y Gilmour, 2007) y se produce en casi todas las materias primas alimentarias esporádicamente. Además muchos alimentos listos para el consumo han extendido la vida útil mediante técnicas de conservación de alimentos como la refrigeración lo que proporciona tiempo para el crecimiento de *L. monocytogenes* en un número elevado (Kramarenko *et al.*, 2013). Por lo tanto los alimentos refrigerados proporcionan un ambiente ideal para este patógeno.

En el caso de la leche se ha demostrado que este microorganismo puede sobrevivir a algunos procesos de pasteurización cuando existen cargas anormalmente altas del patógeno en la leche cruda. Además, se ha localizado *L. monocytogenes* dentro de las células de la especie bovina, debido a que éstas les han podido servir como protección frente el tratamiento térmico (Swaminathan y Gerner-Smidt, 2007). Otra ruta es por la no pasteurización de la leche o por la mezcla de leche pasteurizada con leche cruda como fue demostrado por Linnan *et al.*, (1988, Citado por Swaminathan y Gerner-Smidt, 2007). En el caso de la contaminación de los vegetales, este patógeno puede llegar fácilmente debido a las operaciones de corte o tajado, lo cual aumenta el daño de los tejidos causando liberación de contenidos intracelulares, lo que puede soportar e incrementar la actividad de este microorganismo patógeno (González - Aguilar *et al.*, 2009).

Sin embargo uno de los alimentos más importantes en los cuales se ha determinado la presencia de *Listeria* son las crucíferas en especial el brócoli y coliflor ya que por su origen, en el medio ambiente abierto, inevitablemente estas hortalizas se exponen a una diversidad de fuentes de contaminación a lo largo de todo el proceso de producción partiendo desde la cosecha, lavado con agua contaminada y el manejo inadecuado de las condiciones higiénicas de quienes manipulan el producto (Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas, FAO, 2003), corte, empaque y envío, lo que pueden crear contaminación adicional (Mishara, Guo, Buchanan, Shaffner y Pradhan, 2016).

En el caso del suelo donde la transmisión de *L. monocytogenes* en granjas se inicia con su contaminación y las cosechas, por animales silvestres o heces utilizadas como fertilizantes (Nightingale *et al.*, 2004). Por otro lado, debido a su resistencia a condiciones medioambientales, *L. monocytogenes* es capaz de multiplicarse y sobrevivir por períodos de tiempo de dos años o más, fuera de hospederos mamíferos, facilitando su diseminación (Nightingale *et al.*, 2004; Gray, Freitag y Boor, 2006).

En cuanto a la contaminación a través del agua, *Listeria* comúnmente se encuentra en aguas de desecho, fluviales, afluentes y hasta en plantas de tratamiento de aguas servidas (Curtis, Franceschi y De Castro, 2002). La presencia de microorganismos en el agua de ríos, arroyos e incluso lagos, puede atribuirse a aguas servidas por parte de las poblaciones ribereñas ubicadas aguas arriba. Las aguas subterráneas tampoco garantizan la inocuidad ya que pueden estar contaminadas por cámaras sépticas o depósitos de residuos domiciliarios (FAO, 2003).

Cuando las hortalizas se exponen a contaminación, las bacterias muestran clara tendencia a adherirse casi sobre cualquier superficie, el problema surge cuando ante la presencia de agua se inicia un proceso de síntesis de polímeros que se traducirán en la formación de

biopelículas, por lo tanto, es necesario identificar claramente el o los puntos de contaminación durante el proceso para este alimento (Muñoz, Vargas, Otero, Díaz y Guzmán, 2011).

Se ha encontrado *Listeria* spp. en vegetales que están contaminados con tierra (Curtis, Franceschi y De Castro, 2002), estos alimentos se contaminan fundamentalmente en sus partes externas, sean raíces, u hojas (Fernandez y Peña, 2011). Por lo tanto las plantas bajas o rastreras como las hortalizas de hoja (brócoli y coliflor), están más expuestas a la contaminación por el suelo, agua de riego y animales con patógenos como *L. monocytogenes*, que las de alto porte, en ese sentido el brócoli y el coliflor son susceptibles de contaminarse con ésta. Asimismo, se ha indicado que aunque algunos microorganismos hacen parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria (humanos, animales de producción, domésticos o salvajes) es otra fuente de contaminación del suelo con éstos (FAO, 2003).

Tzoc y Pinedo (2010), llevaron a cabo un estudio en Tegucigalpa y Comayagua (Honduras) asociado a la presencia de *L. monocytogenes* en diferentes alimentos incluidos derivados lácteos y hortalizas. En ese trabajo solo el 1% de las muestras de lácteos y ninguna de las muestras de hortalizas resultaron positivas para este microorganismo. Sin embargo ellos resaltan la diferencia de estos resultados, con los altos porcentajes obtenidos en otros países de la región (entre 20-30%), dependiendo de las condiciones de venta (principalmente empaclado y refrigeración). Esto debido a que la *L. monocytogenes* es un patógeno cuyo hábitat normal es el suelo, por lo cual su presencia en hortalizas que crecen cerca del suelo como brócoli, coliflor, lechuga, repollo y espinaca es bastante frecuente.

De otro lado, en 2002 se determinó la presencia de *Listeria* en 120 muestras de vegetales con procesamiento mínimo (*ready-to-use*). El género *Listeria*, se evidenció en el 25% de las muestras en estudio: 30% correspondió a *L. monocytogenes*. Estos resultados permiten reafirmar la importancia del control microbiológico de los vegetales para el aseguramiento de la calidad de los mismos (Curtis, Franceschi y De Castro, 2002).

En otro trabajo realizado en productos mínimamente procesados, se mencionó que las ensaladas empacadas, presentan una incidencia variable de *L. monocytogenes* que va desde el 1,8%, reportado en el norte de Londres, 4,5% en Suiza, hasta el 60%, reportado en Estados Unidos. Independientemente de este patrón tan variable, las ensaladas de vegetales frescos cada día toman mayor importancia como posibles fuentes de contaminación sobre todo teniendo en cuenta que la dosis infectante no está bien determinada y por otro lado, por la capacidad de este microorganismo para sobrevivir y crecer en vegetales crudos (Arias y Antillon, 2000).



### **3.2. CARACTERIZAR EL PELIGRO QUE REPRESENTA *L. monocytogenes* PRESENTE EN BRÓCOLI Y COLIFLOR.**

La caracterización de la listeriosis se limitó a una descripción de las manifestaciones del síndrome y un resumen de la información epidemiológica de los brotes y prevalencia de *L. monocytogenes* con el fin de identificar la relación entre este patógeno y las crucíferas especialmente brócoli y coliflor.

#### **3.2.1. Listeriosis**

Es un síndrome que se contrae consumiendo alimentos como carne, vegetales crudos y lácteos contaminados por la bacteria *Listeria monocytogenes*; este síndrome afecta a los recién nacidos que generalmente adquieren la infección por vía vertical, a través de la placenta o del canal de parto infectado, (Sánchez y Palencia, 2010) también afecta a mujeres embarazadas y con algún tipo de inmunodepresión, fundamentalmente celular como neoplasias hematológicas, tratados con corticoides, cirrosis hepática entre otras enfermedades (Zamora Lopez, Pulian Morais, Rodríguez Tato y García Campello, 2015). A pesar de que la listeriosis es de rara presentación, comparada con otras enfermedades transmitidas por alimentos según Muñoz *et al.*, (2011), presenta una mortalidad alta, con un promedio de 20 a 30 % en población susceptible.

Se han encontrado dos formas en que se desarrolla este síndrome, la no invasiva e invasiva. La no invasiva es una forma clínica más habitual. Aparentemente es una causa infrecuente de diarrea febril esporádica, pues el inóculo necesario para causar este síndrome varía notablemente dependiendo de la cepa y de la situación del huésped (Sánchez y Palencia, 2010), en la mayor parte afecta a personas ancianas y a personas inmunodeprimidas (Muñoz, 2012). Aproximadamente 24 h después de la ingesta del alimento contaminado los pacientes o bien se convierten en portadores asintomáticos o sufren deposiciones acuosas, náuseas, vómitos, cefalea, artromalgias y fiebre, síntomas que suelen limitarse en dos días, salvo que padezcan algún tipo de inmunodepresión (FAO, 2004).

En cuanto a la listeriosis de tipo invasora es un síndrome gestacional y neonatal, altamente peligrosa en el embarazo ya que infecta el feto o el niño recién nacido, dando origen a abortos espontáneos, muerte fetal o enfermedad y muerte neonatal (Muñoz, 2012). En las gestantes que experimentan un inmunocompromiso relativo fisiológico, la forma más frecuente de presentación es la fiebre sin foco aparente y con pocos síntomas acompañantes, la mayoría experimentan entre 2 y 6 semanas después de la infección un síndrome pseudogripal leve

(Antolin, Gutierrez, Segoviano, López y Ciguenza, 2008), con fiebre, escalofríos, artromialgias, lumbalgia, tos, cefalea, mareo, o síntomas gastrointestinales (Noriega, Ibañez y González, 2008). La gravedad de la listeriosis radica en el tercer trimestre y suele seguirse de aborto, muerte fetal intrauterino, mayor tasa de cesáreas, prematuridad, sepsis y muerte neonatal (Antolin, Gutierrez, Segoviano, López y Ciguenza, 2008).

La listeriosis se considera un síndrome reemergente, los patógenos de animales silvestres contribuyen al incremento de estas como amenaza para la salud pública. Las emergencias de estas y otras enfermedades humanas ocurren cuando los gérmenes de los hospedadores pueden saltar y mutar en la especie humana (Monsalve y Mattar, 2009). Los factores de expansión de estas enfermedades están relacionados con la evolución microbiana, cambios antrópicos en la vida silvestre, crecimiento demográfico, cambios ambientales (como agricultura, producción ganadera, deforestación y cambio climático) (Liu, Cao y Zhua, 2014) y la mayor tasa de contacto entre seres humanos, vida silvestre y animales domésticos es posible que hayan conducido a la aparición de nuevas enfermedades en humanos y animales, también surgen de los mecanismos de transmisión de ciertas patologías, que inicialmente fueron originadas desde una especie animal, en la cual la zoonosis a humanos aparece como un evento raro. Esta se da por un salto del patógeno al hombre, que es poco frecuente, pero que perpetua el síndrome temporal o permanente (Monsalve y Mattar, 2009). En Colombia existen pocos datos sobre la epidemiología de la listeriosis debido a que no se diagnostica con frecuencia y por lo tanto, presenta sub-registro epidemiológico. Uno de los estudios epidemiológicos más conocidos fue realizado en 1994 en un hospital de tercer nivel (Cali, Valle) en el cual se informó sobre 19 casos clínicos de listeriosis (Crespo *et al.*, 1999).

La información epidemiológica en cuanto a la listeriosis se encontró principalmente en países desarrollados, mientras que en los países en desarrollo esta información no es suficiente, esto se debe posiblemente a las limitaciones que presentan los sistemas de vigilancia epidemiológica en los diferentes países.

Este síndrome transmitido por alimentos (ETA) presenta una tasa de mortalidad de 30%. Aun cuando en 1953 se reconoció la participación de un alimento en la transmisión de la enfermedad, no fue sino hasta 1983 que se comunicó el primer brote de listeriosis relacionado a alimentos (Alcayaga y Hott, 2008)

### **3.2.2. Brotes y prevalencia en países desarrollados**

*L. monocytogenes* es la tercera causa principal de muerte por intoxicación alimentaria en los Estados Unidos. El Centro para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC)

estiman que cerca de 1,600 personas se enferman de *Listeriosis* cada año y que al menos el 90% de las personas son o mujeres embarazadas y sus recién nacidos, las personas mayores de 65 años, o personas con sistemas inmunes debilitados.

Los brotes más importantes de listeriosis en humanos estuvieron relacionados comenzaron con el consumo de vegetales en 1981 en Canadá, donde hubo 18 muertos por consumo de ensalada de coles contaminadas con este patógeno (Vilar, 2007).

El Departamento de Agricultura (USDA) en octubre de 2013, informó el retiro de más de 5.000 libras de ensaladas de la marca Taylor Farms que contenían brócoli y coliflor, luego que descubrieran la contaminación en al menos 25 estados del oeste y sureste del país incluyendo Connecticut, Delaware, Maryland, Massachusetts, Nueva Jersey, Nueva York y Vermont (Food Safety News, 2013). En Connecticut se encontró *L. monocytogenes* en 2 mujeres embarazadas, donde se asoció este síndrome al consumo de grandes cantidades de coliflor y otros alimentos (Riedo *et al.*, 1994).

En 2016, se informó de un brote en múltiples estados de los Estados Unidos, debido a la ensalada envasada contaminada con *L. monocytogenes* causando 19 casos de listeriosis, (Mishara, Guo, Buchanan, Shaffner y Pradhan, 2016), por tal razón en abril de 2016 se retiraron 11 productos vegetales congelados en los cuales se incluyeron hortalizas como brócoli y coliflor producidas por la empresa: Alimentos Congelados de Pasco, debido a la posible contaminación con *L. monocytogenes*. La evidencia epidemiológica del laboratorio indicó que las verduras congeladas eran una fuente probable de este brote. La CDC informa que de los más de 350 productos de consumo vendidos bajo marcas separadas de la misma empresa, 42 fueron retirados del mercado, así como al menos otros 100 productos preparados por otras empresas (CDC, 2013).

Los brotes de listeriosis se han asociado con el consumo de productos alimenticios listos para el consumo. El número de casos de este síndrome en la Unión Europea aumento un 19,1% en 2009 (n=1,645) en comparación con el 2008, y se mantuvo casi al mismo nivel en 2012 (n=1,624). En consecuencia, en Europa, la listeriosis ha causado gran preocupación por la salud pública debido a su alta mortalidad (15-30% con cerca de 198 muertes en 2012). (Abdollahzadeh, Ojagh, Hosseini, Irajian y Ghaemi, 2016). La dosis infecciosa de listeriosis sigue siendo poco clara, sin embargo de acuerdo con los datos epidemiológicos se sospecha que es alta, ya que, el nivel de contaminación en los alimentos responsables de los casos de listeriosis son típicamente  $>10^4$  UFC/g. La infección también puede ser causada por un consumo diario prolongado de *L. monocytogenes* (Kramarenko *et al.*, 2013). En Suiza entre el 2013 -2014 se reportó un brote causado por el consumo de ensaladas contaminadas con *L. monocytogenes*, la causa de contaminación del producto se relaciona con un problema de

higiene en la planta de producción; al entrevistar a los pacientes identificaron haber consumido ensaladas verdes listas para comer (Mishara, Guo, Buchanan, Shaffner y Pradhan, 2016).

En un estudio realizado en 1979 tuvo lugar un brote en Boston (EE.UU.) el cual afectó a 20 pacientes adultos de 8 hospitales. Aunque el alimento implicado no se estableció analíticamente, todos los enfermos habían ingerido hortalizas crudas (Dominguez, S.F.). Otro estudio realizado en Florida (EEUU) se detectó en 63 ensaladas de verduras que sirven en 31 instalaciones de servicio de alimentos *L. monocytogenes* y otros patógenos, estas ensaladas se adquirieron de cadenas de restaurantes de comida rápida y restaurantes (Lin, Cheng y Cheng, 1996).

Un estudio realizado en Ontario (Canadá), determinó la calidad microbiológica de hortalizas listas para su consumo incluyendo brócoli y coliflor, encontrando que el aumento de los niveles de *L. monocytogenes* estaban asociados con el abuso de la temperatura, en general se detectó este patógeno en un 10,8% de las muestras de hortalizas almacenadas durante 11 días a 10°C (Odumeru *et al.*, 1997).

### **3.2.3. Brotes y prevalencia en países en desarrollo**

Aunque en los países en desarrollo la notificación es escasa, se han diagnosticado algunos casos, como por ejemplo en Chile donde se presentaron 10 casos de infección por *L. monocytogenes*, siete de los cuales ocurrieron en mujeres embarazadas y en tres pacientes inmunodeprimidos. Estos casos, se deben al aumento en exposición a alimentos contaminados con este patógeno derivado de los cambios de hábitos de alimentación en la población, o de factores asociados a la preparación de alimentos (Noriega, Ibañez y González, 2008). Sin embargo, cuando es una bacteria ubicua y con gran resistencia a condiciones extremas, de este síndrome existen pocos reportes en la población general. No obstante, aún existen muchos vacíos en la comprensión de la relación dosis respuesta de la listeriosis humana y del papel que juega la virulencia de la cepa implicada, así como su interacción con el hospedador (Alcayaga y Hott, 2008).

En San Pablo (Brasil) se han realizado estudios sobre la prevalencia de *L. monocytogenes* en vegetales listos para el consumo entre ellos brócoli y coliflor, donde determinaron que en el 31% de las muestras seleccionadas se encontraba presente este patógeno, concluyendo que los vegetales listos para el consumo pueden ser vehículos de *L. monocytogenes* (Santa Ana, Igarashi, Landgraf, Destro y Franco, 2012).

En Trujillo (Perú) se determinó la frecuencia de *L. monocytogenes* y el comportamiento de los factores de riesgo de contaminación en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga; durante los años 2010 y 2011 se trabajaron 240 muestras con la finalidad de evaluar la calidad sanitaria de las hortalizas, encontrando que *L. monocytogenes* estuvo presente en tomate 10,4%, zanahoria 31,3%, espinaca 23,0%, lechuga 29,2% y rabanito 33,3% (Pérez y Chávez, 2012).

En Costa Rica en el 2010 se realizó un estudio donde se evaluó la calidad bacteriológica de lechugas comercializadas en San José, se analizaron 30 muestras de lechuga, de las cuales se logró aislar 1 cepa de *L. monocytogenes*. Lo que concluye que el hecho de que el consumo del producto sea en crudo y sin una adecuada limpieza y desinfección presenta un riesgo para la salud del consumidor (Monge, Chaves y Arias, 2011).

Otro estudio realizado en la Habana (Cuba) en hortalizas confirma que aislaron *L. monocytogenes* en lechuga, berro y espinaca, donde el 53% de las muestras de agua con las cuales fueron regadas durante el cultivo presentaron una calidad microbiológica inaceptable (Puig y otros, 2014). En Cuba en el 2014 se realizó un estudio en fincas suburbanas y puntos de ventas particulares en donde se encontró la presencia de *L. monocytogenes* en un 64,7% en muestras de lechuga, col acelga, col china y espinaca (Montes , 2014).

Por lo tanto, todos estos resultados acerca de estudios en diferentes hortalizas proporcionan una valiosa información de base que puede apoyar en las decisiones de seguridad alimentaria, así mismo y a pesar de la ubicuidad de este microorganismo y el hecho de que los vegetales parecen ser un buen sustrato para el crecimiento de este patógeno, confirman que en la mayoría de las hortalizas disponibles en el mercado son aptas para el crecimiento de *L. monocytogenes*, por lo anterior es importante continuar realizar más estudios referentes a la presencia de este microorganismo en brócoli y coliflor.

#### **3.2.4. Presentación de brotes y prevalencia en Colombia**

Los países en desarrollo como Colombia tienen falencias en la vigilancia de ETA, dificultando conocer la situación del país en cuanto a la vigilancia para los casos de listeriosis, en general este síndrome se considera inusual, ya que, se presentan casos esporádicos de los cuales se tienen poca documentación, a esto se suma su difícil diagnóstico, adicionalmente dado que no se presenta como una ETA y la obtención de datos epidemiológicos representativos, debido a que rara vez son reportados y que no es una enfermedad de notificación obligatoria (Todd y Notermans, 2011).

Según estudios previos sobre la presencia de *L. monocytogenes* en diferentes alimentos, efectuados por el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del INVIMA, citados por Muñoz y Díaz (1998) se demostró que este microorganismo es muy frecuente. Por lo tanto se incluyó como un indicador de inocuidad en la vigilancia de los alimentos que son de su competencia en el país, vigilancia rutinaria ejercida por las entidades territoriales que le remiten los aislamientos de *L. monocytogenes*. En el año 2000, se creó la Red Nacional de Vigilancia Microbiológica de *L. monocytogenes*, a la cual pertenecen todos los laboratorios de salud pública de los departamentos y del distrito capital del país siendo obligatorio el envío de sus aislamientos al laboratorio de referencia del INVIMA para su confirmación y serotipificación (Muñoz *et al.*, 2012).

El único brote reportado se encontró en un estudio realizado por Crespo *et al.*, (1999) en la Fundación Clínica Valle del Lili (FCVL) donde se efectuó el seguimiento de casos de listeriosis a 19 pacientes, de los cuales 5 murieron a causa de esta enfermedad y uno se debió al consumo de hortalizas.

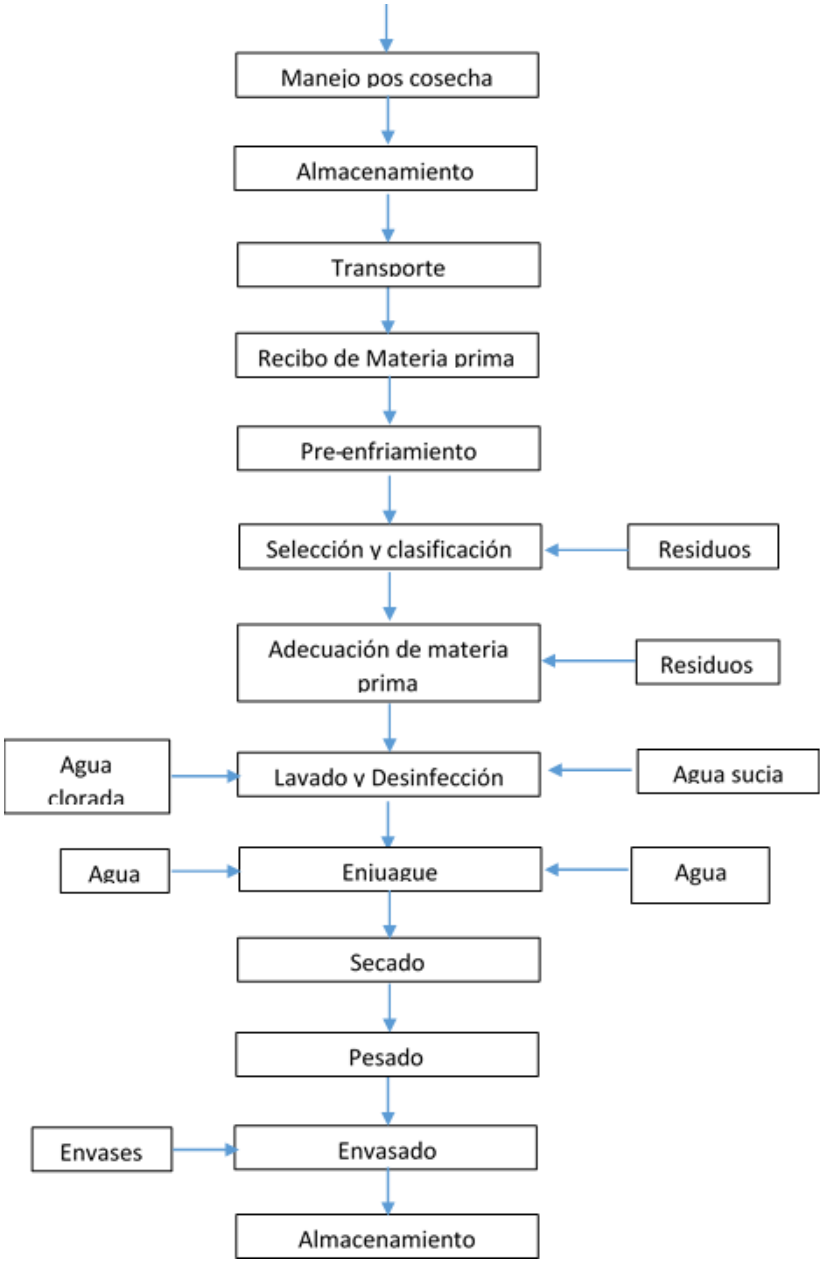
### **3.3. RECOMENDACIONES PARA LA DISMINUCIÓN DE POSIBLES RIESGOS DE *L. monocytogenes* EN BRÓCOLI Y COLIFLOR.**

El consumo de las frutas y vegetales está aumentando a nivel mundial de forma marginal debido al cambio de comportamientos de consumo de alimentos listos para el consumo incluyendo ensaladas, verduras mixtas y frutas y verduras congeladas. Para el consumidor moderno, estos productos son necesarios para mantener una dieta saludable. Sin embargo son muy perecederos y su vida útil es más corta (Ben-Fadhel *et al.*, 2016). A pesar de que es más preocupante la carga de contaminación en el punto de consumo, datos útiles se pueden recoger en pre cosecha y en toda la cadena alimentaria (Todd y Notermans, 2011). Por lo tanto el propósito de esta parte final es suministrar información sobre los factores que contribuyen al riesgo de ocurrencia durante la cadena de producción de brócoli y coliflor y las recomendaciones para disminuir el riesgo.

La naturaleza ubicua de *Listeria*, su amplia variedad de reservorios y fácil supervivencia a condiciones extremas hacen que su control en las diferentes etapas de la cadena productiva del brócoli y coliflor sea compleja. La reducción de la incidencia del síndrome de listeriosis tiene una relación con la reducción de la prevalencia de este patógeno en la producción primaria y con la prevención de la contaminación cruzada en la cadena alimentaria. Por lo tanto el manejo del riesgo de listeria en brócoli y coliflor ha sido abordado desde una perspectiva integral que abarca la mayor parte de la cadena de la granja a la mesa. Considerando la problemática anteriormente expuesta a continuación se plantean las

recomendaciones para cada una de las etapas, teniendo en cuenta el siguiente diagrama de flujo de la Figura 2.

**Figura 2.** Diagrama de flujo para la producción de hortalizas como brócoli y coliflor a nivel industrial



**Fuente:** Adaptado de Aguerri (2014).

### 3.3.1. Manejo poscosecha

Se derivan diferentes etapas relacionadas a continuación en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Etapas de poscosecha

<b>Etapas</b>	<b>Riesgo</b>
Lote de producción	Contaminación fecal por animales
Fertilizantes	Bacterias patógenas en orgánicos
Riego	Patógenos
Cosecha	Contaminación fecal, patógenos en contenedores y herramientas.

**Fuente:** Adaptado de FAO, (2003)

- **Lote de producción**

La transmisión de *L. monocytogenes* en granjas se inicia con la contaminación del suelo y cosechas, por animales silvestres o heces utilizadas como fertilizantes (Nightingale *et al.*, 2004). Igualmente la presencia de animales en el lote donde se desarrolla el cultivo también puede ser considerada una causa de contaminación. La mano de obra y las condiciones higiénicas a las que los operarios y trabajadores rurales están expuestos constituyen otra posible fuente de contaminación (FAO, 2003).

Por otro lado, debido a su resistencia a condiciones medioambientales, *L. monocytogenes* es capaz de multiplicarse y sobrevivir por períodos de tiempo de dos años o más, fuera de hospederos mamíferos, facilitando su diseminación (Nightingale *et al.*, 2004).

Se ha encontrado *Listeria* en vegetales que están contaminados con tierra (Curtis, Franceschi y De Castro, 2002). Asimismo, se ha indicado que aunque algunos microorganismos hacen parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria (humanos, animales de producción, domésticos o salvajes) es la principal fuente de contaminación del suelo con éstos (FAO, 2003).

- ✓ **Recomendación:** el uso exclusivo del terreno para el cultivo de estas hortalizas y mantener animales alejados de los cultivos, así mismo el lavado frecuente de manos para aquellas personas que tengan contacto directo con las hortalizas, así como implementos y vestimenta apropiada solo para el área del cultivo (Ministerio de Salud, 2013), esto debido a que la contaminación



cruzada de compostaje, aguas de inundación, pueden quedar en la vestimenta y por lo tanto entrar en contacto con las hortalizas, este uniforme de trabajo debe encontrarse limpio y de un color que permite identificar la suciedad o posibles focos de infección, preferiblemente blanco o color claro para evitar la proliferación del microorganismo durante todo el procesamiento.

- **Fertilizantes**

Se ha encontrado *Listeria* en vegetales que están contaminados con estiércol cuando éste es usado como fertilizante (Curtis, Franceschi y De Castro, 2002).

- ✓ **Recomendación:** el uso de compostaje en hilera a temperaturas superiores a 55°C (Zerbatto, Abramovich, Groppelli, Pizarro y Modini, 2013). Para reducir los riesgos en el uso de estiércol, es necesario someterlo a un proceso de degradación y descomposición; las bacterias y hongos fermenta el material orgánico y lo va estabilizando en la forma de humus, el alto calor que se genera del proceso de fermentación reduce los riesgos de contaminación biológica. Otro método para el control del crecimiento de microorganismos es la dieta que se le suministra al animal (Rojas, 2012).

- **Riego**

Las hortalizas como el brócoli y el coliflor son cultivos que necesitan de gran cantidad de agua, el número total de riegos durante su proceso vegetativo esta entre 6 y 8 días. Durante el riego se puede encontrar riesgo de contaminación con *L. monocytogenes*, patógeno ubicuo que se puede encontrar en el agua de riego, el suelo y fertilizantes utilizados en las granjas y en materia vegetal en descomposición por lo que la presencia de este patógeno en las verduras es un riesgo continuo.

En algunos países desarrollados las aguas residuales son utilizadas para la irrigación de cultivos, según Kalavrouziotis, Robolas , Koukoulakis y Papadopoulos, (2008) citando a Wang (1993) se riegan aproximadamente  $1,33 \times 10^6$  ha con aguas residuales parcialmente procesadas, también en México alrededor de 70,000 ha se riegan con aguas residuales procesadas. Esta agua además de la presencia de metales pesados, es un portador de bacterias, virus, protozoos y nematodos, el problema de la contaminación microbiana se agrava con las hortalizas porque muchos de ellos están siendo consumidas crudas. La presencia de este patógeno en el agua de ríos, arroyos e incluso lagos, puede atribuirse a aguas servidas por parte de las poblaciones ribereñas ubicadas aguas arriba. Las aguas subterráneas tampoco

garantizan la inocuidad ya que pueden estar contaminadas por cámaras sépticas o depósitos de residuos domiciliarios (FAO, 2003)

- ✓ **Recomendación:** algunos estudios realizados por Castro *et al.*, (2009) se ha evidenciado la presencia de microorganismos en aguas residuales tratadas tal como la *Listeria*, mientras que en aguas de cuencas presentan una buena calidad microbiológica, ya que los microorganismos se encuentran por debajo de los límites máximos permitidos, por lo tanto no se recomienda la mezcla de aguas residuales tratadas con aguas de cuencas. En el estudio realizado en lagunas por Botero *et al.*, (2002), demostró que el 90% de las muestras no cumplían con el requisito establecido por la OMS, para aguas residuales a ser empleadas con fines de irrigación. Debido a la continua presencia de patógenos presentes en estas aguas, en California según Moscoso (1995) se establecieron criterios para la recuperación de aguas residuales y el uso en cultivos, estableciendo que los efluentes deben ser desinfectados, oxidados, coagulados, clarificados y filtrados hasta lograr que el promedio de coliformes no exceda de 2,2 por 100mL hasta 7 días. El uso de agua potable durante el riego y en cualquier otra etapa de la cadena alimenticia, con el fin de disminuir los riesgos de contaminación por *L. monocytogenes*, debido a que este patógeno comúnmente se encuentra en aguas de desecho, fluviales, afluentes y hasta en plantas de tratamiento de aguas servidas (Silva, Torres y Madera, 2008).

El uso de aguas residuales en agricultura es una alternativa para incrementar la producción agrícola y controlar la contaminación ambiental, sin embargo puede constituir un problema sanitario debido a los numerosos patógenos que pueden estar presentes en ellas. Existen algunas restricciones o riesgos potenciales que se deben tener en cuenta durante el uso de aguas residuales tratadas, puesto que aparte de su contaminación microbiológica, también existe la bioacumulación de elementos tóxicos, la salinización e impermeabilización del suelo y el desbalance de nutrientes del mismo. La combinación apropiada de diferentes componentes permitirá un resultado óptimo para cada condición específica que se maneje, por ello es importante contar con la información sobre las características del efluente a ser utilizado y el área que se pretende habilitar (Moscoso, 1995).

- **Cosecha**

En esta etapa del proceso intervienen factores antes y después de la recolección. Antes de la recolección las frutas y verduras se ven muy afectadas por enfermedades bacterianas y fúngicas de poscosecha y otros procesos de degradación patológica (Ben-Fadhel *et al.*, 2016). Estas enfermedades afectan a la planta cuando sus características fisiológicas y su potencial productivo se ven afectados por la acción de organismos patógenos. Estos incrementan su actividad cuando las condiciones ambientales son favorables y aprovechan la susceptibilidad de la planta. Las enfermedades inician su proceso con la penetración del organismo patógeno a través del tejido externo de la planta, las estomas o heridas, seguida de un conjunto de reacciones químicas en la célula. Por lo tanto se recomienda evacuar del suelo el exceso de humedad mediante la construcción de canales, zanjas de drenajes o camas, sembrar en suelos libres de patógenos, usar coberturas sobre la superficie del suelo con el propósito de protegerlo de factores adversos que puedan ser causa de una contaminación cruzada, desinfectar el material vegetal para evitar la propagación de microorganismos patógenos, hacer manejo y control mecánico o manual de malezas o arvenses, desinfectar herramientas usadas en las labores de cosecha y establecer un lugar a la entrada del lote para la desinfección del calzado de las personas que van a ingresar puesto que genera contaminación cruzada y el crecimiento del patógeno en suelo y/o las hortalizas, y conocer la calidad sanitaria del agua utilizada en el riego, para evitar la contaminación del cultivo (Corpoica, 2006).

- ✓ **Recomendación:** durante el procedimiento de recolección se debe garantizar la integridad del producto para evitar los daños y preservar su inocuidad, adoptando las medidas necesarias para prevenir su contaminación por este agente microbianos que puede ser incorporadas a través de diversas fuentes como los trabajadores, utensilios, recipientes y herramientas de cosecha (Ben-Fadhel *et al.*, 2016).

### 3.3.2. Almacenamiento

Este almacenamiento consiste en realizar un pre- enfriamiento para retirar el calor de campo en los productos. Durante el almacenamiento en pos cosecha es importante tener en cuenta la temperatura, ya que es la mejor herramienta para evitar el desarrollo microbiano. Puesto que la cadena de frío debe mantenerse durante todos el proceso y hasta que el producto sea consumido. La temperatura determina la velocidad de las reacciones químicas. Cuando la temperatura aumenta de 0 a 10°C, la respiración se incrementa sustancialmente por 2 o 3 y cuando la respiración aumenta los sustratos son consumidos rápidamente con la consecuente

pérdida de calidad y vida media del producto (Lemoine, 2009). Así mismo el aumento de la temperatura también acelera el desarrollo microbiano.

- ✓ **Recomendación:** mantener temperaturas de refrigeración menores de 2°C, ya que esto retarda la maduración, pudrición, se conserva la apariencia y prolonga la vida útil de producto. Otro aspecto a tener en cuenta en esta etapa que debido a que este patógeno es ubicua, es fundamental la limpieza y desinfección del sitio de almacenamiento.

### 3.3.3. Recibo de materia prima

En esta etapa es fundamental realizar una inspección visual para controlar características como color, olor, textura, temperatura de llegada, y otras. Es recomendable efectuar una evaluación y control de los proveedores para garantizar que la materia prima fue producida y recolectada en forma adecuada y respetando períodos de carencia.

Este tipo de productos no tiene ninguna transformación fisicoquímica por lo que la calidad final del producto delimita casi exclusivamente la calidad inicial de la materia prima, por lo tanto es importante verificar que el producto suministrado cumple con la calidad requerida para el procesamiento, teniendo en cuenta su color, consistencia, tamaño, presencia de insectos o manchas (Aguerri, 2014).

- ✓ **Recomendación:** este producto deberá encontrarse entero, y lo suficientemente firme, su aspecto debe ser fresco, se deben encontrar sanos sin ningún tipo de podredumbre o daños mecánicos que no lo hagan aptos para el consumo humano, no debe contener olores ni sabores extraños (IICA, 2007). En esta etapa también es muy importante mantener los equipos y utensilios limpios, en los cuales se hace el recibo de las hortalizas, debido a que puede existir contaminación cruzada y por ende la contaminación y el crecimiento por *L. monocytogenes* no solo en los utensilios, si no en la matriz alimentaria.

### 3.3.4. Pre-enfriamiento

Cuando hay que almacenar la materia prima durante un período prolongado (mayor a un día) antes de su transformación, es necesario hacerlo a temperaturas de refrigeración.

**Recomendación:** esa temperatura de almacenamiento debería estar entre -1 a 6°C con el fin de controlar el crecimiento y multiplicación de *L. monocytogenes*.

### 3.3.5. Selección y clasificación

El objetivo de esta operación es obtener un producto final que cumpla con un estándar de calidad uniforme al momento de su comercialización. Consiste en realizar una selección y clasificación relacionadas con diversos factores: tamaño, forma, color, firmeza, magulladuras, superficies cortadas, alteración y solidez. Aquellos vegetales de menor tamaño, sobre maduros o defectuosos deberían separarse de los que presenten características aceptables, ya que los productos alterados pueden perjudicar la calidad del resto. Por tal razón estos productos hortofrutícolas se vuelven tan susceptibles a la contaminación por *L. monocytogenes*, ya que este microorganismo se encuentra en el ambiente, lo que puede generar una contaminación y proliferación mucho más rápida de este patógeno, si la hortaliza está expuesta a causa de algún daño mecánico, lo que imposibilita su buena calidad (Cardenas y Gustabo, 2012).

- ✓ **Recomendación:** es importante mantener una selección exhaustiva de cada producto y su constante higiene tanto del manipulador como de los utensilios y maquinaria dispuesta para este proceso.

### 3.3.6. Adecuación de materia prima

Durante esta etapa, se genera un estrés mecánico a las hortalizas mediante el proceso de corte pelado, corte y trituración, la superficie del producto está expuesta al aire y a la posible contaminación con bacterias, levaduras y mohos. La barrera epidérmica protectora se rompe, lo que aumentará la disponibilidad de nutrientes y proporcionar áreas de superficie de gran tamaño que pueden facilitar el crecimiento microbiano como el de *L. monocytogenes* y así disminuir la vida útil del producto, (Ramos, Miller, Brandao, Teixeira y Silvia, 2013) por lo que aumenta la tasa de respiración, utilizan la reserva de energía y aumentan la producción de etileno (Ben-Fadhel *et al.*, 2016). Por lo tanto, es un punto de contaminación importante ya que *listeria* se encuentra en la superficie de los alimentos y debido a las características del brócoli y coliflor puede crecer y sobrevivir por mucho más tiempo.

Otra fuente de contaminación en la industria alimentaria son las maquinas cortadoras que pueden actuar como sitios de anidamiento de *L. Monocytogenes*, ya que, este organismo puede adherirse rápidamente a otras superficies de preparación de alimentos como por

ejemplo, superficies de acero inoxidable (Overney, Chassaing, Carpentier, Guillier y Firmesse, 2016) y formar biopelículas para su supervivencia. Es importante recordar que el cortado causa daños mecánicos y modificaciones metabólicas y fisiológicas que a su vez pueden ocasionar el rápido deterioro del tejido vegetal.

- ✓ **Recomendación:** es necesario que durante esta etapa se enfríe el producto hasta 4°C durante y después del cortado. En cuanto a los equipos y utensilios que se utilicen se debe lavar y desinfectar minuciosamente y correctamente el equipo.

### 3.3.7. Lavado y desinfección

Esta etapa de producción es importante, tiene como objetivo separar y eliminar las sustancias extrañas eventualmente presentes en las hortalizas (ramitas, estacas, insectos, arena, tierra, etc). Es la única en donde se mitiga el impacto microbiano.

- ✓ **Recomendación:** la FDA recomienda el tratamiento de semillas que brotan con 20,000 mg/l de cloro libre de hipoclorito de calcio o un tratamiento antimicrobiano equivalente, estudios realizados por Kim, Kim y Song, (2009) indican que los tratamientos con ácido fumarico se pueden utilizar como obstáculo para mejorar la seguridad microbiana en alimentos como el brócoli y coliflor con un menor impacto ambiental a diferencia del tratamiento con cloro. En otro estudio realizado por Navarro, Artes, Gómez, Nuñez y Martinez, (2014) indican que EW (agua electrolizada) y NEW100 (Agua electrolizada acida) podrian ser seleccionado como un tratamiento de desinfeccion apropiado para brócoli y coliflor, que además mantienen las propiedades de estos productos.

### 3.3.8. Enjuague

Esta etapa es para eliminar los restos del desinfectante. Esta operación puede realizarse en forma manual o mecánica.

- ✓ **Recomendación:** el agua debe ser potable y la temperatura de la misma sea de 4°C aproximadamente para mantener la cadena de frío.

### 3.3.9. Secado

Operación esencial para garantizar un tiempo de vida útil aceptable de los productos. Dependiendo de las características del vegetal y del volumen de producción puede realizarse un secado centrífugo, o un secado convectivo por aire frío seco. Esto con el fin de disminuir la actividad de agua de estas hortalizas, que pueden generar un ambiente propicio para el crecimiento de *L. monocytogenes*, pues este patógeno tiene la facultad de sobrevivir con una actividad de agua superior a 0,92 (Sánchez y Palencia, 2010).

- ✓ **Recomendación:** el uso de nuevas tecnologías genera beneficios en el producto final, ya que evita daños en el mismo, alguna de estas tecnologías son la energía ultrasónica utilizada en procesos de secado debido a vibraciones de alta amplitud que son capaces de aumentar los procesos de transferencias de calor y masa, de esta manera es posible eliminar la humedad sin calentar considerablemente el producto (Esminger, 1988). Un estudio realizado por Jambrak, Mason, Paniwnyk y Lelas, (2007) demostró que las propiedades de rehidratación resultaron ser las mejores para muestras liofilizadas como la coliflor, por lo que el comportamiento de rehidratación de alimentos de origen vegetal también se puede mejorar mediante el uso de ultrasonido.

### 3.3.10. Envasado

En esta etapa se busca proteger el producto terminado de daños físicos, químicos o microbiológicos durante su almacenamiento, distribución y comercialización.

Para el diseño de los envases, en general se utilizan películas plásticas poliméricas o puede utilizarse la tecnología de envasado en atmósfera modificada, que consiste en reemplazar el aire atmosférico por una mezcla de gases, generalmente  $N_2$ ,  $O_2$  y  $CO_2$ . Esto permite reducir la velocidad de respiración, la actividad metabólica, la pérdida de humedad del producto y la prevención del crecimiento de microorganismos

En este contexto estudios realizados por Ayala-zavala (2008) donde evaluó el efecto de una alta humedad relativa (HR) en un paquete de verduras sobre la proliferación microbiana, los autores confirmaron que la actividad de agua ( $a_w$ ) aumentó con la humedad relativa y por lo tanto llevando a un aumento de la proliferación y propagación de microorganismos causantes de deterioro en los empaques.

Por otro lado *L. monocytogenes* tiene la capacidad de formar biopelículas en superficies como el acero inoxidable, plástico, policarbonato y otros materiales que se encuentran en contacto directo con el alimento (Cadena , 2011). Dentro de las principales causas de contaminación se presenta de los empaques con agua, o tierra. Para contrarrestar la supervivencia de este patógeno se recomienda el uso de películas bioactivas y el esterilizado apropiado de los empaques.

Se han realizado muchas investigaciones para desarrollar estrategias de envasado, que son capaces de controlar la descomposición microbiológica de productos perecederos como el brócoli y la coliflor. El brócoli se utilizó como modelo de alimento para la aplicación de biopelículas con agentes antimicrobianos evaluando frente a bacterias como *L. monocytogenes* transmitidas por los alimentos durante su almacenamiento a 4°C, comprobando durante este estudio que las películas con agentes antimicrobianos tienen un efecto significativo contra este microorganismo (Takala, Dang, Salmieri, Khan y Lacroix, 2013).

- ✓ **Recomendación:** durante el envasado se recomienda evitar la recontaminación con material extraño y con material de empaque. Los productos que estén destinados al consumidor final se deben envasar con las instrucciones adecuadas para su almacenamiento en su etiqueta, teniendo en cuenta la Resolución del INVIMA 333 del 2011.

### 3.3.11. Almacenamiento

La mayoría de hortalizas son almacenadas a temperaturas de congelación y refrigeración, por lo tanto son susceptibles a la contaminación por *L. monocytogenes*, debido a que es capaz de sobrevivir durante largos periodos en condiciones muy complicadas, como las temperaturas de refrigeración utilizadas para la conservación de alimentos (Castro *et al.*, 2016).



Sin embargo a temperaturas de congelación se ha demostrado que la calidad de los alimentos congelados está relacionada con el tamaño y ubicación de los cristales de hielo, que a su vez depende en gran medida del tiempo de congelación o la velocidad de la misma, debido a que los grandes cristales de hielo presentes en los tejidos de los alimentos congelados causan daño mecánico y la pérdida por goteo resulta generando mala calidad del producto. Se han realizado varios estudios en los cuales demuestran que la congelación asistida por ultrasonido en brócoli y coliflor mantiene la microestructura, firmeza, conservándolo de mejor forma (Xin, Zhang y Adhikari, 2014).

- ✓ **Recomendación:** según Gómez, Aguayo, Escalona y Artes, (2009) las principales técnicas de preservación aplicados para prevenir o retrasar el deterioro son el almacenamiento de refrigeración y envasado con atmosfera modificada, en combinación con tratamientos químicos (soluciones antimicrobianas, acidulantes, antioxidantes etc). Otro método que se puede aplicar es la irradiación gamma, un estudio realizado por Vaishnav, Adiani y Variyar, (2015) en coliflor, señala que los parámetros sensoriales, de calidad y la vida útil de esta matriz no se vieron afectados por la irradiación a 0,5 kGy y almacenamiento a 4°C hasta 21 días. Por lo tanto se recomienda el uso de los métodos de conservación con el fin de disminuir el riesgo de contaminación por este importante patógeno. La venta y la llegada de estos productos al consumidor son las últimas etapas en donde un producto puede contaminarse y generar un riesgo para la salud. Por lo tanto es importante la higiene del producto antes de consumir y la del manipulador son de vital importancia para disminuir riesgos, otro factor es evitar la entrada de animales a lugares de preparación de alimentos ya que estos pueden ser vehículos de contaminación cruzada.

### 3.3.12. Distribución y comercialización

En esta etapa, al igual que durante el almacenamiento, se debe garantizar la integridad de la cadena de frío. Si esto no se cumple el producto perderá calidad y tendrá menor vida útil, debido a su contaminación con patógenos como *L. monocytogenes*. Durante el transporte los camiones o vehículos de transporte del producto terminado deben tener uno uso exclusivo para este fin. Si el alimento requiere de frío, el camión debe ser isoterma, con indicadores de temperatura exteriores que garanticen el cumplimiento de las temperaturas exigidas. El operario debe llevar un registro donde consten los lotes y la temperatura entre otros datos. La carga debe ir estibada y permitiendo una buena circulación del aire en su interior (Larios,

2011). La venta y la preparación hogareña son la últimas etapas en donde un producto puede contaminarse, se reitera aquí todo lo mencionado referido a la higiene personal y la implementación de las buenas prácticas de manufactura por parte del consumidor (FAO, 2003). Según Domínguez (S.F.) en varias ocasiones el 20-25% de los frigoríficos domésticos presentan temperaturas > de 10°C, con lo que los alimentos que contienen no alcanzan temperaturas de refrigeración en su punto de enfriamiento más tardío. Por lo tanto, la refrigeración domestica proporciona un ambiente donde *L. monocytogenes* compite con éxito, contra los microorganismos mesofilos, por ello es importante concientizar al consumidor del buen manejo de la temperatura a las hortalizas.

- ✓ **Recomendación:** concientizar tanto al consumidor como a los manipuladores de alimentos es importante para que sigan las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Practicas de Producción (BPP) y Sistemas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos (HACCP por sus siglas en ingles) en la industria. En cuanto al transporte es importante que se mantenga la temperatura del producto hasta el lugar de venta para evitar contaminación cruzada, también se debe realizar la limpieza y desinfección apropiada en el medio de transporte, con el fin de evitar la prevalencia de *L. monocytogenes*

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Aunque en la actualidad se reconoce a *L. monocytogenes* como un patógeno de gran importancia en las enfermedades transmitidas por los alimentos, la escasa información dificulta conocer la problemática a nivel nacional en términos de inocuidad. Sin embargo considerando los datos epidemiológicos de presencia del microorganismo en alimentos y como agente causal de brotes reportados en otros países y el auge en el consumo de hortalizas como brócoli y coliflor, es importante adelantar investigaciones nacionales que permitan identificar su impacto en la salud pública, considerando que estos alimentos pueden ser vehículo de este patógeno en el país.

El efecto potencial negativo implicado a la salud, puede apreciarse en término de la incidencia de esta ETA y la severidad que se han asociado a su consumo, causando preocupación a nivel mundial a productores de alimentos, consumidores y autoridades sanitarias. Lamentablemente pocos países disponen de programas de epidemiología sobre el estudio de brotes de enfermedad microbiana resultantes del consumo de alimentos. La oportuna intervención permite tomar medidas de control adecuadas y tomar decisiones a tiempo sin que se afecta la salud de las personas. Con el fin de identificar los alimentos y agentes patógenos que con mayor frecuencia afectan a la población en el país.

Durante la revisión sistemática descriptiva se encontraron en países desarrollados como EEUU y Canadá siete brotes que se derivan del consumo de brócoli y coliflor contaminadas con *L. monocytogenes*, en suiza se encontró un brote causado por el consumo de ensaladas contaminadas con este patógeno; mientras que en los países en desarrollo se encontraron estudios donde se aisló el patógeno de hortalizas entre ellas brócoli y coliflor en países como Chile, Brasil, Perú, Costa Rica y Cuba.

Como se evidencia a lo largo de la revisión sistemática descriptiva existe muy poca información en el tema objeto para Colombia, por lo tanto no es posible dimensionar la problemática a nivel nacional, debido a falencias en vigilancia de ETA dificultando conocer la situación del país en cuanto a casos de listeriosis, sin embargo existe un brote reportado en la Fundación Clínica Valle de Lili, donde se realizó seguimiento a 19 pacientes, de los cuales cinco murieron y uno fue a causa del consumo de hortalizas.

Los resultados aquí encontrados, acerca de estudios en diferentes hortalizas, proporcionan una valiosa información de base que puede apoyar en las decisiones de seguridad alimentaria, y partiendo de la experiencia de otros países es importante seguir generando estudios e

información complementaria acerca de los riesgos de *L. monocytogenes* y la presencia de este microorganismo en brócoli y coliflor, para poder establecer medidas de salud pública.

Es importante que durante toda la cadena de producción se mantenga un control sanitario aplicando las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas de Producción (BPP) y los sistemas de Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos (HACCP por sus siglas en inglés) y la correcta trazabilidad del producto, con el fin de identificar más eficazmente la fuente de contaminación del producto, teniendo en cuenta la Resolución 719 de 2015 expedida por el INVIMA, para las hortalizas mínimamente procesadas.

Durante la elaboración de esta revisión se identificaron las necesidades de información relacionadas con datos epidemiológicos, por esto se recomienda también hacer estudios durante la fase de procesamiento para detectar el microorganismo en las diferentes etapas del proceso y considerar a *L. monocytogenes* dentro de los mecanismos de control. Estas medidas deben estar dirigidas hacia la prevención. En las granjas se recomienda realizar el seguimiento y estudios periódicos que permitan detectar el agente microbiológico, estructurando un sistema de vigilancia a lo largo de toda la cadena productiva de la “granja a la mesa”. Además se recomienda realizar estudios, en alimentos perecederos y listos para el consumo como brócoli y coliflor, donde se usen como materia prima, ya que son alimentos en los cuales *L. monocytogenes* tiene mayor probabilidad de supervivencia y en consecuencia posiblemente afectar la salud de los consumidores.

Se recomienda a nivel industrial tener barreras sanitarias al ingreso de los lugares de procesamiento, manteniendo un control riguroso en la vestimenta del personal, higiene constante durante el proceso manteniendo el lavado de manos, debido a que este patógeno ingresa en la vestimenta, el calzado, las manos de los operarios, como también en los utensilios, el equipamiento y los materiales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., & Viñas, I. (31 de Marzo de 2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, *123*(1-2), 121-129. Recuperado el 22 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0168160507007222>
- Abdollahzadeh, E., Ojagh, S. M., Hosseini, H., Irajian, G., & Ghaemi, E. A. (7 de junio de 2016). Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. *LWT - Food Science and Technology*, *73*, 205-211. Recuperado el 19 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0023643816303528>
- Aguerri, I. (2014). ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL CONSUMO DE PRODUCTOS DE IV GAMA EN PAMPLONA. Pamplona: Universidad Publica de Navarra. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de <http://academic-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/15402/629258.pdf?sequence=1>
- Aguilera, R. (2014). Carta al director. *21*(6), 359-360. Chile: Universidad Santiago de Chile.
- Alcayaga, S., & Hott, B. (2008). *Listeria* y listeriosis: un desafío de los nuevos tiempos. *Rev Chil Salud Pública; Vol 12*, (3): 188-195.
- Alonso, L. X., & Poveda, J. A. (Diciembre de 2008). Estudio Comparativo en tecnicas de recuento rapido en el Mercado y placas Petrifilm TM y 3M TM para el analisis de alimentos. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis230.pdf>
- Asad, S., & Opal, S. (2008). Bench to bedside review: quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *Critical Care Medicine*, *12*, 236. Recuperado el 29 de Octubre de 2016
- Barre, L., Angelidis, A., Boussaid, D., Decourelles Brasseur, E., Manso, E., & Gnanou Besse, N. (28 de september de 2016). Aplicability of the en ISO 11290-1 standard method for *Listeria monocytogenes* detection in presece of new *Listeria* species. *International Journal of Food Microbiology*, *238*, 281-287. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Ben-Fadhel, Y., Saltaji, S., Khlifi, M., Salmieri, S., Dang, K., & Lacroix, M. (11 de October de 2016). Active edible coating and  $\gamma$ -irradiation as cold combined treatments to assure the safety of broccoli florets (*Brassica oleracea* L.). *International Journal of Food Microbiology*, *241*, 30-38. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Botero, L., Zambrano, J., Oliveros, C., Leon, D., Sarcos, M., & Martinez, M. (2002). Calidad microbiologica del agua de un sistema de lagunas de estabilizacion a ser empleada en

- irrigacion. *Facultad de Agronomia*, 19(4), 312-323. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/11996/11985>
- Cadena, E. E. (2011). Estudio de la formacion de biopeliculas de *L. monocytogenes* EDGe sobre superficies de vidrio y acero inoxidable y su control. *Estudio de la formacion de biopeliculas de L. monocytogenes EDGe sobre superficies de vidrio y acero inoxidable y su control*. Santiago de Queretaro: Universidad Autonoma de Queretaro. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/1649/1/RI001175.pdf>
- Campos, M., & Manzano, W. (2007). Evaluacion de metodos de desinfeccion para hortalizas que se consumen en crudo. San Salvador: Universidad de El Salvador. Obtenido de [http://ri.ues.edu.sv/2015/1/Evaluaci%C3%B3n\\_de\\_m%C3%A9todos\\_de\\_desinfecci%C3%B3n\\_para\\_hortalizas\\_que\\_se\\_consumen\\_en\\_crudo.pdf](http://ri.ues.edu.sv/2015/1/Evaluaci%C3%B3n_de_m%C3%A9todos_de_desinfecci%C3%B3n_para_hortalizas_que_se_consumen_en_crudo.pdf)
- Cardenas, Z., & Gustavo, A. (2012). Manual para el cultivo de hortalizas. Bogotá D.C.: Produmedios.
- Carrasco, E. (2007). Analisis de riesgo microbiologico de *Listeria monocytogenes* en ensaladas de IV gama. España: Universidad de Cordoba.
- Carrillo, G., Redondo, M., & Arias, M. L. (junio de 2010). Capacidad de formación de biopelículas de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas a partir de queso tierno de origen costarricense. *Scielo*, 60(2). Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222010000200010](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000200010)
- Castro, K., Moura, N., Fernandes, A., Faustino, M., Simoes, M., Calveiro, J., . . . Neces, M. (14 de octubre de 2016). Control of *Listeria innocua* biofilms by biocompatible photodynamic antifouling chitosan based materials. *Dyes and Pigments*. Recuperado el 19 de octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0143720816307525>
- Castro, L., Gortares, P., Mondaca, I., Meza, M., Balderas, J., Lopez, J., & Lares, F. (2009). patogenos emergentes como restriccion para el reuso de las aguas residuales municipales tratadas de Cd. Obregon, Sonora. *Latinoamericana de Recursos Naturales*, 5(1), 9-21. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de <http://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v5-n1-2-patogenos-emergentes-como-restriccion-para-el-reuso-de-las-aguas-residuales-municipales.pdf>
- CDC. (2013). *Centers for Disease Control and Prevention*. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de Centers for Disease Control and Prevention: <http://www.cdc.gov/listeria/statistics.html>
- CODEX ALIMENTARIUS. (1981). Norma del Codex para brocoli congelado.

- CODEX ALIMENTARIUS. (1981). Norma del Codex para Coliflores congeladas .
- Corpoica. (2006). El cultivo de las crucíferas brócoli, coliflor, repollo, col china. Obtenido de [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos\\_factores\\_de\\_produccion\\_nov\\_2014.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2014.pdf)
- Cox, L., Kleiss, T., Cordier, J., Cordellana, C., Konkell, P., Pedrazzini, C., . . . Siebenga, A. (March de 1989). *Listeria* spp. in food processing, non-food and domestic environments. *Food Microbiology*, 6(1), 49-61. Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0740002089800371>
- Crespo, M. d., Velez, J. D., Castañeda, C., Hoyos, F., Lopez, M. L., & Salazar, J. C. (1999). Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel . *Colombia Médica Vol. 30 N° 2*, 30: 89-98.
- Disson, O., & Lecuit, M. (December de 2013). In vitro and in vivo models to study human listeriosis: mind the gap. *Microbes and Infection*, 15(14-15), 971-980. Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S1286457913002128>
- Documento conpes 3514. (s.f.).
- Dominguez, M. (s.f.). Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmision alimentaria. 181-218. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1112/1129>
- Duque , D. C., & Varon, C. (Mayo de 2006). Estudio preliminar de la obtencion y evaluacion de los componentes de un inmunoensayo en la identificacion de *Listeria monocytogenes* en ganado Bovino. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana . Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis242.pdf>
- Duran, F. (2013). Seguridad Alimentaria Cultivando Hortalizas frescas disponible. Bogotá, Colombia : Grupo Latino.
- E-Brary*. (s.f.). Recuperado el 20 de Abril de 2016, de <http://biblioteca.pucp.edu.pe/recurso-electronico/ebrary/>
- El Diario. (Octubre de 2013). *Nuevo brote de listeria en brócoli afecta a EEUU*. Recuperado el 29 de 10 de 2016, de <http://eldiariiony.com/2013/10/29/nuevo-brote-de-listeria-en-brocoli-afecta-a-eeuu/>
- Esminger, D. (1988). Acoustic and electroacoustic methods of dewatering and drying. *Drying Technology*, 6, 473-499.
- FAO. (2003). Manual para la preparacion y venta de frutas y hortalizas del campo al mercado. 151.

- FAO. (2003). Manual Para la Preparacion y Venta de Frutas Y Hortalizas: Del Campo Al Mercado. 208. FAO.
- FAO. (2007). Organizacion de las naciones unidas para la agricultura y la alimentacion. *Instrumentos de la FAO sobre la bioseguridad.*, 95. Obtenido de <https://books.google.com.co/books?id=9PwT1qhzWd0C&pg=PA95&dq=evaluacion+de+riesgos+pdf&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjzKAhXF8CYKHfGyCZIQ6AEIMjAD#v=onepage&q=evaluacion%20de%20riesgos%20pdf&f=false>
- FAO y OMS. (2007). Guia para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos. *Analisis de riesgo relativos a la inocuidad de los alimentos*, 87, 20.
- FAO/OMS. (2004). Evaluacion de riesgos en *L. monocytogenes* en alimentos listos para el consumo . Roma, Italia: Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias .
- Faostat. (2015). *Organizacion de las naciones unidas para la alimentacion y la agricultura*. Recuperado el enero de 2016, de <http://faostat3.fao.org/home/S>
- Fernandez Escartin, E., & Peña Cabriales, J. (2011). *Riesgos microbianos en la produccion de alimentos frescos en areas urbanas y periurbanas de america latina*. Mexico D.C.: Cinvestav.
- Fernandez Guerrero, M., Torres, R., Mancebo, B., Gonzalez Lopez, J., Gorgolas, M., Jusdado, J., & Roblas, R. (July de 2012). Antimicrobial treatment of invasive non-perinatal human listeriosis and the impact of the underlying disease on prognosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(7), 690-695. Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S1198743X14645699>
- Filioussis, G., Johansson, A., Frey, J., & Perreten, V. (2009). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control*, 20, 314-317.
- Florez, R., Segura, M., & Ortiz, J. (2010). Brocoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica): produccion y manejo pos cosecha. Bogotá , Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Food Safety News. (2013). Taylor Farms Recalls Broccoli Salads for Listeria Risk. Recuperado el 11 de 12 de 2016, de <http://www.foodsafetynews.com/2013/10/taylor-farms-recalls-broccoli-salads-for-listeria-risk/#.WE3Vn7LhDIU>
- Fundacion Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (Julio de 2005). Que es la Evaluacion de riesgos?
- Galindo , G. P. (2015). Habitos de consumo de frutas y hortalizas en personas de 15 a 30 años, habitantes de Bogotá. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.



- Recuperado el 11 de 12 de 2016, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/50014/1/1012325896-2015.pdf>
- Giotis, E., Blair, I., & McDowell, D. (15 de december de 2007). Morphological changes in *Listeria monocytogenes* subjected to sublethal alkaline stress. *International Journal of Food Microbiology*, 120(3), 250-258. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S016816050700462X>
- Godinez, A. (Diciembre de 2014). Incidencia y Distribucion de *Listeria monocytogenes* en una planta procesadora de hortalizas congeladas: Impacto de las características del patogeno en su capacidad para prevalecer en el ambiente. Santiago de Queretano: Universidad Autonoma de Queretano. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/2555/1/RI001486.pdf>
- Gomez, P., Aguayo, E., Escalona, V., & Artes, F. (March de 2009). Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 287-296.
- Gonzalez, A. (s.f.). *El compost el fertilizante organico del futuro*. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_Agri/Agri\\_1995\\_758\\_768\\_771.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Agri/Agri_1995_758_768_771.pdf)
- Gonzalez, B., & Suarez, M. (2007). *Listeria y Listeriosis*. *Seguridad alimentaria*, 57-68. Recuperado el 27 de Octubre de 2016, de <http://www.colvema.org/PDF/5667Listeria.pdf>
- Gormeley, F., Little, C., Grant, K., Pinna, E., & McLauchlin, J. (April de 2010). The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: A UK wide study with a focus on *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 27(2), 243-249. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0740002009002512>
- Gurler, Z., Pamuk, S., & Yildirim, Y. (2 de Marzo de 2015). The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 79-83. Recuperado el 22 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0168160514005728>
- Guzewich, J., & Ross. (1999). *Evaluation of risks related to microbiological contamination of ready-to-eat food by food preparation workers and the effectiveness of interventions to minimize those risks*. Center for Food Safety and Applied Nutrition.

- Harvey, J., Keenan, K., & Gilmour, A. (june de 2007). Assessing biofilm formation by *Listeria monocytogenes* strains. *Food Microbiology*, 24(4), 380-392. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com.hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0740002006001365>
- Hernandez, B., & Godoy, J. (2004). Resistencias a antibióticos en *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica* aislados de alimentos de origen animal. *Revista salud ambiental*, 4, 42-46.
- Hernandez, R., Fernandez, C., & Baptista, P. (2006). *Metodologia de la investigacion* (4 ed.). Bogotá: McGraw Hill. Recuperado el 15 de 11 de 2016
- Huang, L. (29 de june de 2016). Dynamic kinetic analysis of growth of *Listeria monocytogenes* in a simulated comminuted, non-cured cooked pork product. *Food Control*, 71, 160-167. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- ICA. (s.f.). Buenas Practicas Agricolas. *Ministerio de agricultura y desarrollo rural*. Obtenido de <http://www.ica.gov.co/getattachment/b51b85e3-7824-44f7-858d-c0af5a653568/Publicacion-3.aspx>
- ICONTEC. (s.f.). Norma Tecnica Colombiana 1291.
- ICONTEC. (s.f.). Norma tecnica Colombiana 4486.
- ICONTEC. (s.f.). Norma Tecnica Colombiana 5422.
- IICA . (2007). Guía Práctica de Exportación de BROCOLI a los Estados Unidos. Managua, Nicaragua. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de <http://www.sidalc.net/repdoc/A4956e/A4956e.pdf>
- Instituto Nacional de Investigaciones Agricolas. (2005). *El cultivo de las hortalizas en Venezuela* (3ra ed.). Maracay. Obtenido de [http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/noperiodicas/pdf/Manual\\_hortalizas.pdf](http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/noperiodicas/pdf/Manual_hortalizas.pdf)
- Instituto Nacional de Salud. (2011). *METODOLOGIA PARA LAS EVALUACIONES DE RIESGO MICROBIOLÓGICAS*. Bogotá D.C.: UN.
- INVIMA. (2015). Resolucion 719 .
- INVIMA. (s.f.). Decreto 3075.
- Ireton, K., & Cossart, P. (1997). Host-Pathogen Interactions During Entry and ActinBased movement of *Listeria monocytogenes*. *Genet*, 31, 113-138.
- Jambrak, A. R., Mason, T., Paniwnyk, L., & Lelas, V. (July de 2007). Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 88-97.
- Japon, J. (1983). Cultivo extensivo de la coliflor. *Hojas divulgadas*, 7. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1983\\_07.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1983_07.pdf)

- Jeong, D., & Frank, J. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* at 10 °C in biofilms with microorganisms isolated from meat and dairy processing environments. *Journal of Food Protection*, 53, 224-227. Recuperado el 7 de Noviembre de 2016
- Kalavrouziotis, I., Robolas, P., Koukoulakis, P., & Papadopoulos, A. (April de 2008). Effects of municipal reclaimed wastewater on the macro- and micro-elements status of soil and of *Brassica oleracea* var. *Italica*, and *B. oleracea* var. *Gemmifera*. *Agricultural Water Management*, 95(4), 419-426. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Kastbjerg, V., & Gram, L. (1 de Noviembre de 2012). Industrial disinfectants do not select for resistance in *Listeria monocytogenes* following long term exposure. *International Journal of Food Microbiology*, 160(1), 11-15. Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0168160512004825>
- Kim, Y., Kim, M., & Song, K. (November de 2009). Efficacy of aqueous chlorine dioxide and fumaric acid for inactivating pre-existing microorganisms and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on broccoli sprouts. *Food Control*, 20(11), 1002-1005. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Korsak, D., & Szuplewska, M. (26 de Agosto de 2016). Characterization of nonpathogenic *Listeria* species isolated from food and food processing environment. *International Journal of food Microbiology*, 238, 274-280. Recuperado el 19 de octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0168160516304354>
- Kovacevic, J., Sagert, J., Wozniak, A., Gilmour, M., & Allen, K. (junio de 2013). Antimicrobial resistance and co-selection phenomenon in *Listeria* spp. recovered from food and food production environments. *Food Microbiology*, 34(2), 319-327. Recuperado el 22 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0740002013000038>
- Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P., & Elias, T. (March de 2013). *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control*, 30(1), 24-29. Recuperado el 01 de Noviembre de 2016
- Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P., & Elias, T. (March de 2013). *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control*, 30(1), 24-29. Recuperado el 03 de Noviembre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512003799>
- Lara, F. (2010). Incidencia de enfermedades calidad poscosecha y contenido de glucosinolatos en brocoli. , Mexico: Instituto.

- Larios, J. D. (2011). manual del curso de manipulador de frutas y hortalizas. Consejería de Agricultura y Agua. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016, de file:///C:/Users/Rosa%20Elvira%20Galvis/Downloads/6179-Sumario%20Manual%20del%20curso%20de%20manipulador%20de%20frutas%20y%20hortalizas%20(1).pdf
- Larrain, D., & Carvajal, J. (2008). Los aspectos fisiopatológicos y moleculares involucrados en el traspaso de *Listeria monocytogenes* a través de la barrera placentaria . *Escuela de medicina* , 33(1). Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de <http://publicacionesmedicina.uc.cl/Boletin/20081/AspectosFisiopatologicos.pdf>
- Lemoine , M. L. (Marzo de 2009). EFECTO DE LA APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS LIMPIAS SOBRE LA PROLONGACIÓN DE LA VIDA POSTCOSECHA DE BRÓCOLI MÍNIMAMENTE PROCESADO. Universidad Nacional de La Plata.
- Lin, C.-M., Cheng, S., & Cheng, F. (1996). The appearance of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* and *E. coli* O157: H7. Vegetable salads. *Food Control*, 7(3), 135-140.
- Liu, Q., Cao, L., & Zhua, X.-Q. (2014). Major emerging and re-emerging zoonoses in China: a matter of global health and socioeconomic development for 1.3 billion. *International Journal of Infectious Diseases*, 25, 65-72. Recuperado el 01 de Noviembre de 2016
- Lopez, V., Suarez, M., Chico-calero, I., Navas, J., & Martinez Suarez, J. (2006). *Listeria monocytogenes* en alimentos ¿son todos los aislamientos igual de virulentos? *Argentina de Microbiología*, 38, 224-334. Recuperado el 26 de Octubre de 2016
- Lyautey, E., Lapen, D., Wilkes , G., McCleary, K., Pagotto, F., Tyler, K., . . . Toppi, E. (September de 2007). Distribution and Characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolates from. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 73(17), 5401-5410. Recuperado el 01 de Noviembre de 2016
- Magalhães, R., Ferreira, V., Brandão, T., Casquete , R., Almeida , G., & Teixeira, P. (Agosto de 2016). Persistent and non-persistent strains of *Listeria monocytogenes*: A focus on growth kinetics under different temperature, salt, and pH conditions and their sensitivity to sanitizers. *Food Microbiology*, 57, 103-108. Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0740002015301179>
- Maroto, J., Pomares, F., & Baizauli, C. (2007). *El cultivo de la coliflor y el brocoli* . Madrid: Mundi-prensa.
- Michanie, S. (2008). *Listeria monocytogenes*: La bacteria emergente de los 80. Ganados y Carne.
- Ministeria de Proteccion Social, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud. (2010). *Encuesta Nacional de la Situacion Nutricional en*

- Colombia. Bogotá D.C. Recuperado el 11 de 12 de 2015, de <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/Descargas1/Resumenfi.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2009). Mis Buenas Practicas Agricolas. Colombia: YERIMPRESOS.
- Ministerio de agricultura y desarrollo rural y el ministerio de industria y comercio . (2007). Resolucion 00224.
- Ministerio de agricultura y desarrollo rural y el ministerio de industria y comercio. (2007). Resolucion 00224.
- Ministerio de Salud. (1984). Resolucion 14712.
- Ministerio de Salud. (2013). RESOLUCIÓN 2674. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Normal.jsp?i=54030>
- Ministerio de salud y proteccion social. (2013). Resolucion 2674.
- Mishara, A., Guo, M., Buchanan, R., Shaffner, D., & Pradhan, A. (11 de June de 2016). Development of growth and survival models for Salmonella and Listeria monocytogenes during non-isothermal time-temperatura profiles in leafy greens. *Food Control* , 71, 32-41. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Monge, C., Chaves, C., & Arias, M. (2011). Comparación de la calidad bacteriológica de la lechuga (*Lactuca sativa*) producida en Costa Rica mediante cultivotradicional, orgánico o hidropónico. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 61(1), 69. Recuperado el 15 de 11 de 2016
- Monsalve, s., & Mattar, S. (2009). Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emeergentes y reemergentes. . *Rev.MVZ Córdoba* 14(2), 1762-1773.
- Montes , N. (2014). Identificaction of microbiological treets in fresh vegetabbles. *La calera*, 14(23), 109-110. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <file:///C:/Users/43111026/Downloads/2078-3329-1-SM.pdf>
- Moretro, T., Schirmer, B., Heir, E., Fagerlund, A., Hjemli, P., & Langsrud, S. (21 de October de 2016). Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of Listeria monocytogenes in the food industry. *International Journal of Food Microbiology* . Recuperado el 25 de Octubre de 2016, de <http://hemeroteca.lasalle.edu.co/login?url=http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160516305621>
- Morvan, A., Moubareck, C., Leclercq, A., Herve-Bazin, M., & Bremont, S. (2010). Antimicrobial Resistance of Listeria monocytogenes Strains Isolated from Humans in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(6), 728-731.
- Moscoso, J. (1995). Aspectos tecnicos de la agricultura con aguas residuales . *Centro panamericano de Ingenieria Sanitaria y Ciencias del Ambiente*. Obtenido de <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsair/e/repindex/rep184/vleh/fulltext/acrobat/moscoso5.pdf>

- Muñoz, A. (20 de 04 de 2012). Distribucion de serotipos de *Listeria monocytogenes* aisaldo de alimentos, Colombia 2000-2009. *Biomedica*, 32(3), 709. Recuperado el 26 de Octubre de 2016
- Muñoz, A., Vargas, M., Otero, L., Diaz, L., & Guzman, V. (2011). presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena. *Biomedica*, 31, 429.
- Navarro, J., Artes, F., Gomez, P., Nuñez, M., & Martinez, G. B. (January de 2014). Neutral and acidic electrolysed water kept microbial quality and health promoting compounds of fresh-cut broccoli throughout shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21, 74-81. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Nightingale , K., Schukken , Y., Nightingale , C., Fortes , E., Ho , A., Her , Z., . . . Wiedmann , M. (2004). Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Appl Environ*, 70(8), 4458. Recuperado el 15 de 11 de 2016
- Niño, L. J. (2012). Estudio de resistencia antimicrobiana en cepas de *Listeria monocytogenes*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11794/NinoJimenezLeydiJohana2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Noriega, M., Ibañez, S., & Gonzalez , P. (2008). *Listeria monocytogenes*: Informe de un aumento de casos en mujeres embarazadas y revision de la literatura. *chile infect*, 25, (5): 342-349.
- Nufer, U., Stephan, R., & Tasara, T. (August de 2007). Growth characteristics of *Listeria monocytogenes*, *Listeria welshimeri* and *Listeria innocua* strains in broth cultures and a sliced bologna-type product at 4 and 7°C. *Food Microbiology*, 24(5), 444-451. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Odumeru , J., Mitchell, S., Alves, D., Lynch, J., Yee, A., Wang, S., . . . Farber, J. (1997). Evaluation of microbiological quality of ready-to-use Vehicles for health-care food services. *Journal of Food Protection*, 60(8), 883-1012.
- Oficina Comercial del Ecuador en Reino Unido. (2012). PERFIL DE BROCOLI. Ecuador: Instituto de de promoción de exportaciones e inversiones.
- Oleszewska, M., Zhao, T., & Dyle, M. (16 de June de 2016). Inactivation and induction of sublethal injury of *Listeria monocytogenes* in biofilm treated with various sanitizers. *Food Control* , 70, 371-179. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- OMS. (2007). Frutas y hortalizas frescas. Roma: Codex Alimentarius. Obtenido de [https://books.google.com.co/books?id=q\\_LefvdAOAMC&pg=PA179&dq=microbiologia+de+hortalizas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwii-dSRweDJAhUHbSYKHbiFCsYQ6AEIJTAC#v=onepage&q=microbiologia%20de%20hortalizas&f=false](https://books.google.com.co/books?id=q_LefvdAOAMC&pg=PA179&dq=microbiologia+de+hortalizas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwii-dSRweDJAhUHbSYKHbiFCsYQ6AEIJTAC#v=onepage&q=microbiologia%20de%20hortalizas&f=false)

- Overney, A., Chassaing, D., Carpentier, B., Guillier, L., & Firmesse, O. (26 de Agosto de 2016). Development of synthetic media mimicking food soils to study the behavior of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 7-14. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Perez, E., & Chavez, M. (2012). Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga y rabanito, expendidos en mercados de Trujillo, Perú. *Ciencia y Tecnología*, 8(22).
- Pizarro Cerdá, J., Charbit, A., Enninga, J., Lafont, F., & Cossart, P. (July de 2016). Manipulation of host membranes by the bacterial pathogens *Listeria*, *Francisella*, *Shigella* and *Yersinia*. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Recuperado el 27 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S1084952116302142>
- Poyart C., e. a. (1990). Transferable plasmid mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet*, 335(14), 22-226.
- Proquest*. (s.f.). Recuperado el 20 de Abril de 2016, de <http://www.proquest.com/LATAM-ES/>
- Puig, Y., Leyva, V., Rodriguez, A., Carrera, J., Molejon, P., Perez, Y., & Dueñas, O. (2014). Microbiological quality of vegetables and factors associated with contamination in growing areas in Havana. *habana ciencias médicas*, 13(1). Recuperado el 15 de 11 de 2016, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2014000100013&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2014000100013&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Quintero, J. (1983). Cultivo extensivo de la coliflor. Madrid, España.
- Ramos, B., Miller, F., Brandao, T., Teixeira, P., & Silvia, C. (October de 2013). Fresh fruits and vegetables—An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 20, 1-15.
- Reguera, J., Nieto, J., Gonzalez, Z., Ortiz, R., & Rodriguez, A. (1995). Infección alimentaria por *Listeria Monocytogenes*. *Bol Pediatr*, 36, 215-224. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de [http://www.sccalp.org/documents/0000/1085/BolPediatr1995\\_36\\_215-224.pdf](http://www.sccalp.org/documents/0000/1085/BolPediatr1995_36_215-224.pdf)
- Riedo, F., Pinner, R., de Lourd, M., Cartter, M., Graves, L., Reeves, M., . . . Broome, C. (1994). A Point-Source Foodborne Listeriosis Outbreak: Documented Incubation Period And Possible Mild Illness. *The Journal of Infectious Diseases*, 170(3), 693-696.
- Rivera, F., Wesley, I., Hurd, S., Simones, D., Sosa, A., & Rivera, S. (2006). DETERMINACION MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Listeria* spp Y *Listeria monocytogenes* EN CERDAS A NIVEL DE UNA PLANTA BENEFICIADORA EN EEUU. *Revista científica*, 15(3), 297-307. Recuperado el 11 de 12 de 2016, de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28454/2/art11.pdf>

- Rojas, L. A. (2012). DETERMINACIÓN DE BACTERIAS EN EL BIOL PRODUCIDO POR BIODIGESTORES APARTIR DE ESTIERCÓL DERUMIANTES Y MONOGASTRICOS. Secretaria de educacion publica subsecretaria de educacion superior direccion general de educacion superior tecnologica.
- Rosario, M., Pascual, A., & Calderon, V. (2000). Metodologia analitica para alimentos y bebidas. 2. Madrid: Microbiologia alimentaria. Obtenido de [https://books.google.com.co/books?id=9EIfkks8uxMC&pg=PR17&dq=definici%C3%B3n+de+Microbiolog%C3%ADa+de+hortalizas&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjXh\\_SQ75vLAhWC1x4KHREOBiWQ6AEIHTAA#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=9EIfkks8uxMC&pg=PR17&dq=definici%C3%B3n+de+Microbiolog%C3%ADa+de+hortalizas&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjXh_SQ75vLAhWC1x4KHREOBiWQ6AEIHTAA#v=onepage&q&f=false)
- Rosimin, A. A., Kim , M.-J., Joo, I.-S., Suh, S.-H., & Kim, K.-s. (junio de 2016). Simultaneous detection of pathogenic Listeria including atypical Listeria innocua in vegetables by a quadruplex PCR method. *LWT - Ciencia y Tecnologia de Alimentos*, 69, 601-607. Recuperado el 10 de octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S002364381630086X>
- Rota, C., Yanguela, D., Carraminana, J., Arino, A., & Herrera, A. (1996). High prevalence of multiple resistance to antibiotics in 144 Listeria isolates from Spanish dairy and meat products. *Journal of Food Protection*, 59, 938-943.
- Ruiz, Z., Neuque, M., Poutou, R., Carrascal, A., & Mattar, S. (2011). Antimicrobial Susceptibility of Listeria monocytogenes Food Isolates from Different Cities in Colombia. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(8), 913-919.
- Ruiz, Z., Poutou, R. A., & Carrascal, A. K. (15 de 09 de 2008). Resistencia antimicrobiana y a desinfectantes de Listeria spp. *NOVA*, 6(10). Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de <http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/120/239>
- Santa ana, A., Igarashi, M. C., Landgraf, M., Destro, M. T., & Franco, B. (Abril de 2012). Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of Listeria monocytogenes isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 155(1-2), 1-9. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160512000037>
- Schöbitz, R., Marin, M., Horzella, M., & Carrasco , E. (Julio de 2001). PRESENCIA DE Listeria monocytogenes EN LECHE CRUDA Y QUESOS FRESCOS ARTESANALES. *Agro sur*, 29(2), 114-119. Recuperado el 10 de Diciembre de 2016, de [http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0304-88022001000200004&script=sci\\_arttext](http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0304-88022001000200004&script=sci_arttext)
- Science Direct*. (s.f.). Recuperado el 20 de Abril de 2016, de [http://www.americalatina.elsevier.com/sul/es/science\\_direct\\_periodicos.php?E=S&I=es](http://www.americalatina.elsevier.com/sul/es/science_direct_periodicos.php?E=S&I=es)



- Scopus*. (s.f.). Recuperado el 20 de Abril de 2016, de <http://www.americalatina.elsevier.com/corporate/es/scopus.php>
- Silva, J., Torres, P., & Madera, C. (2008). Domestic wastewater reuse in agriculture. A review. *Agronomia Colombiana*, 19(41), 40-46. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n2/v26n2a20>
- Sivaranjani, M., Gowrishankar, S., Kamaladevi, A., Karutha Pandian, S., Balamurugan, K., & Veera Ravi, A. (16 de Agosto de 2016). Morin inhibits biofilm production and reduces the virulence of *Listeria monocytogenes* - An in vitro and in vivo approach. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 73-82. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Stratakos, A., Linton, M., Tassema, G., Skjerdal, T., Patterson, M., & Koidis, A. (March de 2016). Effect of high pressure processing in combination with *Weissella viridescens* as a protective culture against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat salads of different pH. *Food Control*, 61, 6-12. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0956713515301997>
- Strydom, A., Vorster, R., Gouwens, P. A., & Witthuhn, C. R. (April de 2016). Successful management of *Listeria* spp. in an avocado processing facility. *Food Control*, 62, 208-215. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0956713515302656>
- Takala, P., Dang, K., Salmieri, S., Khan, R., & Lacroix, M. (October de 2013). Antibacterial effect of biodegradable active packaging on the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in fresh broccoli stored at 4 °C. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 499-506. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Todd, E., & Notermans, S. (September de 2011). Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 22(9), 1484-1490. Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S0956713510002422>
- Torres, K., Sierra, S., Pouton, R., Carrascal, A., & Mercados, M. (june de 2005). Pathogenesis of *Listeria monocytogenes* microorganism zoonotic emergent. *MVZ Cordoba*, 10(1), 122-268. Recuperado el 26 de Octubre de 2016
- Tovar, G., & Castillo, I. (2005). *Listeria*. una aproximación práctica al microorganismo. *Digital Universitaria UNAM*, 6(4).
- Vaishnav, J., Adiani, V., & Variyar, P. S. (September de 2015). Radiation processing for enhancing shelf life and quality characteristics of minimally processed ready-to-cook (RTC) cauliflower (*Brassica oleracea*). *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 50-55.

- Vega, S. (1985). Evaluacion epidemiologica de riesgos causados por agentes quimicos ambientales. *ECO/OPS/OMS*.
- Vela, A., Fernandez, J., Vazquez, J., Latre, M., & Blanco, M. (2001). Molecular typing by pulsed-field gel electrophoresis of Spanish animal and human *Listeria monocytogenes* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 840-843.
- Vera, A., Gonzalez, G., Dominguez, M., & Bello, H. (4 de junio de 2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Revista Chilena de Infectologia*, 30(4). Obtenido de [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182013000400010](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000400010)
- Vilar, M. J. (2007). *Desarrollo del analisis de peligros y puntos de control critico en explotaciones de vacuno lechero en Galicia. Estudio epidemiologico de patogenos zoonoticos*. Universidad Santiago de Compostela.
- Wonderling, L., Wilkinson, B., & Bayles, D. (Julio de 2004). The htrA(degP) Gene of *Listeria monocytogenes* 10403S is essential for optimal growth under stress conditions. *American Society for Microbiology*, 70(4), 1935-1943. Recuperado el 25 de Octubre de 2016, de <http://aem.asm.org/content/70/4/1935.full>
- Xin, Y., Zhang, M., & Adhikari, B. (May de 2014). Effets de la congélation assistée par ultrasons sur la vitesse de congélation et la qualité de brócoli ( *Brassica oleracea* L. var. *Botrytis* L.) colgante de la congélation par immersion. *International Journal of Refrigeration*, 41, 82-91. Recuperado el 5 de Noviembre de 2016
- Xuan, X.-T., Ding, T., Li, J., Ahn, J.-H., Zhao, Y., Chen, S. G., . . . Liu, D.-H. (18 de june de 2016). Estimation of growth parameters of *Listeria monocytogene* after sublethal heat and slightly acidic electrolyzed water (SAEW) treatment. *Food Control*, 71. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Zamora Lopez, J., Pulian Morais, V., Rodriguez Tato, R., & Garcia Campello, M. (21 de October de 2015). Invasive listeriosis in Pontevedra province, Spain: Target of epidemiological surveillance? *Medicina Clinica*, 145(8), 366-368. Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/hemeroteca.lasalle.edu.co/science/article/pii/S2387020616001157>
- Zerbatto, M., Abramovich, L., Gropelli, E., Pizarro, A., & Modini, L. (2013). Inactivación de *Cryptosporidium* spp. en estiércol de ganado vacuno por un sistema de compostaje. *FABICIB*, 17, 33-41. Recuperado el 15 de 11 de 2016, de <file:///C:/Users/Rosa%20Elvira%20Galvis/Downloads/4306-10943-1-PB.pdf>



## ANEXO

**Tabla.** Composición nutricional de las crucíferas en 100g de producto comestible fresco

	Nutriente	Unidad	Brócoli	Coliflor	Repollo	Col	Col de Bruselas	Col china
Composición	Agua	g	89.3	92.07	92.18	84.46	86	94.39
	Energía	kcal	34	25	25	50	43	16
	Proteínas	g	2.82	1.92	1.28	3.3	3.38	1.2
	Lípidos totales	g	0.37	0.28	0.1	0.7	0.3	0.2
	Cenizas	g	0.87	0.76	0.64	1.53	1.37	0.98
	Carbohidratos por diferencia	g	6.64	4.97	5.8	10.2	8.95	3.23
	Fibra dietaria total	g	2.6	2	2.5	2	3.8	1.2
	Azúcares totales	g	1.7	1.91	3.2	0	2.2	1.41
Minerales	Ca	mg	47	22	40	135	42	77
	Fe	mg	0.73	0.42	0.47	1.7	1.4	0.31
	Mg	mg	21	15	12	34	23	13
	P	mg	66	44	26	56	69	29
	K	mg	316	299	170	447	389	238
	Na	mg	33	30	18	43	25	9
	Zn	mg	0.41	0.27	0.18	0.44	0.42	0.23
	Cu	mg	0.049	0.039	0.019	0.29	0.07	0.036
	Mn	mg	0.21	0.155	0.16	0.774	0.337	0.19
	F	mcg	0	1	1	0	0	0
Vitaminas	Se	mcg	2.50	0.60	0.30	0.90	1.60	0.60
	Vitamina C	mg	89.20	48,20	36,60	120,00	85,00	27,00
	Tiamina	mg	0,07	0,05	0,06	0,11	0,14	0,04
	Riboflavina	mg	0.12	0,06	0,04	0,13	0,09	0,05
	Niacina	mg	0.64	0,51	0,23	1000,0	0,75	0,40
	Acido pantoténico	mg	0,57	0,67	0,21	0,09	0,31	0,11
	Vitamina B-6	mg	0.18	0,18	0,12	0,27	0,22	0,23
	Folato total	mcg	63,00	57,00	43,00	29,00	61,00	79,00
Colina total	mg	18,70	44,30	10,70	0,00	19,10	7,60	

	Betaina	mg	0,10	0,00	0,40	0,00	0,80	0,30
	Vitamina A, RAE	mcg_RAE	31,00	0,00	5,00	769,00	38,00	16,00
	Caroteno, Beta	mcg	361,00	0,00	42,00	9226,0	450,00	190,00
	Caroteno, alfa	mcg	25,00	0,00	33,0	0,00	6,00	1,00
	Vitamina A	IU	623,00	0,00	98,00	15376,0	754,00	318,00
	Luteína zeaxantina	mcg	1403,0	1,00	30,00	39550,0	1590,00	48,00
	Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0,78	0,08	0,15	0,00	0,88	0,12
	Vitamina k (filoquinona)	mcg	101,60	15,50	76,00	817,00	177,00	42,90
Lípidos	Ácidos grasos saturados totales	g	0,04	0,06	0,30	0,90	0,06	0,04
	Ácidos Grasos mono-insaturados totales	g	0,01	0,02	0,00	0,05	0,02	0,02
	Ácidos grasos poli-insaturados totales	g	0,04	0,02	0,00	0,34	0,15	0,00
Aminoácidos	Triptófano	g	0,03	0,02	0,01	0,04	0,04	0,01
	Treonina	g	0,09	0,08	0,04	0,15	0,12	0,04
	Isoleucina	g	0,08	0,07	0,03	0,20	0,13	0,07
	Leucina	g	0,13	0,11	0,04	0,23	0,15	0,07
	Lisina	g	0,14	0,22	0,04	0,20	0,15	0,07
	Metionina	g	0,04	0,02	0,01	0,03	0,03	0,01
	Cistina	g	0,028	0,02	0,011	0,044	0,022	0,013
	Fenilalanina	g	0,117	0,065	0,032	0,169	0,098	0,035
	Tirosina	g	0,05	0,051	0,019	0,117	0	0,023
	Valina	g	0,125	0,125	0,042	0,181	0,155	0,053
	Arginina	g	0,191	0,086	0,075	0,184	0,203	0,067
	Histidina	g	0,059	0,056	0,022	0,069	0,076	0,021
	Alanina	g	0,104	0,116	0,042	0,166	0	0,069
	Ácido Aspártico	g	0,325	0,117	0,122	0,295	0	0,086
	Ácido Glutámico	g	0,542	0,257	0,294	0,374	0	0,288
Glicina	g	0,089	0,071	0,03	0,159	0	0,035	
Prolina	g	0,11	0,071	0,048	0,196	0	0,025	
Serina	g	0,121	0,086	0,053	0,139	0	0,038	

