



**MINISTERIO DE SALUD
DIVISION DE POLITICAS PÚBLICAS SALUDABLES Y PROMOCION
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y NUTRICION**

PROPUESTA DE CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LISTERIA MONOCYTOGENES

El presente documento fue elaborado en el Departamento de Alimentos y Nutrición del Ministerio de Salud, en el Subcomité de higiene de los alimentos del Codex Alimentarius, con el propósito que sirva como base de discusión para el establecimiento de criterios microbiológicos de Listeria monocytogenes en el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

En los antecedentes técnicos, se ha hecho una recopilación de antecedentes contenidos en la serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos 4, Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo de FAO, el informe del brote de listeria del Dpto. Epidemiología del Minsal y el Anteproyecto Alinorm09/32/13, Apéndice I, del Codex Alimentarius.

Este texto será presentado en reunión de la Comisión de Actualización del Reglamento Sanitario de los Alimentos, y en su oportunidad estará en consulta pública en la Web por 60 días para recibir las opiniones del público general y de los productores nacionales e importadores de alimentos y contemporáneamente se comunicará a la Organización Mundial del Comercio, al Acuerdo de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (SPS) y al Acuerdo de Obstáculos Técnicos al Comercio (OTC).

IDENTIFICACION DE LOS PELIGROS

Listeria monocytogenes, es una bacteria Gram positiva que se encuentra ampliamente tanto en el medio agrario (suelo, plantas, forrajes en silo, materia fecal, aguas residuales, agua) como en la acuicultura y en los ambientes de elaboración de alimentos.

L.monocytoges es un residente intestinal transitorio en los seres humanos; entre el 2% y el 10 % de la población general es portador de este microorganismo. Comparada con otras bacterias patógenas no esporuladas, como *Salmonella*, *E.coli enterohemorrágica*) transmitidas por los alimentos, es resistente a varias condiciones ambientales desfavorables, como altas concentraciones de sal o acidez. Crece en condiciones de baja concentración de oxígeno y a temperaturas de refrigeración y sobrevive por largos períodos en el medio ambiente, en los alimentos, en las plantas de elaboración de alimentos y en el refrigerador doméstico.

A pesar de encontrarse frecuentemente en alimentos crudos de origen animal y vegetal, los casos esporádicos y los brotes de listeriosis se relacionan generalmente con los alimentos listos para el consumo, alimentos refrigerados y con frecuencia por recontaminación de alimentos previamente cocidos. Una característica importante de la listeriosis transmitida por alimentos es que el patógeno puede multiplicarse a temperaturas de refrigeración hasta alcanzar cifras significativas, si transcurre suficiente tiempo.

No obstante, la importancia de los alimentos como vía primaria de transmisión de la *L. monocytogenes* a las personas no se reconoció hasta la década de 1980, cuando se produjeron, en Norteamérica y Europa, varios brotes importantes de listeriosis de origen común (Broome, Gellin y Schwartz, 1990; Bille, 1990)

La listeriosis transmitida por alimentos es una enfermedad relativamente poco común, pero grave, con tasas de letalidad altas (20-30%), comparadas con las de otros microorganismos patógenos transmitidos por alimentos, como la *Salmonella*. Su gravedad y el hecho de que esté muy frecuentemente asociada a alimentos de elaboración industrial, especialmente cuando se producen epidemias, la sitúan entre las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor relevancia social y económica (Roberts, 1989; Roberts y Pinner, 1990). La enfermedad afecta principalmente a segmentos específicos de la población cuya vulnerabilidad es mayor.

Básicamente, *L. monocytogenes* es un patógeno oportunista que casi siempre afecta a personas con una enfermedad o circunstancia subyacente grave (por ejemplo, inmunodepresión, VIH/SIDA, afecciones crónicas, como la cirrosis, que producen inmunodeficiencia); a mujeres embarazadas, a fetos y recién nacidos; y a personas mayores.

CARACTERIZACIÓN DE LOS PELIGROS

Las diversas manifestaciones clínicas asociadas a la listeriosis pueden agruparse en dos categorías: listeriosis invasiva y listeriosis no invasiva. La listeriosis invasiva se refiere a los casos en que una infección inicial del tejido intestinal por *L. monocytogenes* deriva en la invasión de partes del organismo que habitualmente son estériles, como el útero grávido, el sistema nervioso central o la sangre, o combinaciones de éstos.

La listeriosis invasiva se caracteriza por una tasa de letalidad alta, de 20 a 30% (Mead et al., 1999) y las infecciones pueden producir secuelas (McLauchlin, 1997), aunque la incidencia de éstas pocas veces se determina (Rocourt, 1996). Los casos de listeriosis no invasiva (conocida como gastroenteritis febril por listerias) se han observado en algunos brotes en los que la mayoría de los casos presentaron síntomas de gastroenteritis, como diarrea, fiebre, cefalea y mialgia, tras un período de incubación corto (Dalton et al., 1997; Salamina et al., 1996; Riedo et al., 1994; Aureli et al., 2000). Estos brotes se han producido generalmente tras la ingestión de dosis altas de *L. monocytogenes* por personas previamente sanas. No se conocen la incidencia ni los factores que ocasionan la aparición de esta forma no invasiva de la enfermedad. En consecuencia, la presente evaluación de riesgos se centró únicamente en la listeriosis invasiva como resultado de la exposición.

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN

Los alimentos LPC (listos para el consumo) son una categoría amplia y diversa de alimentos, elaborados y almacenados de modos diferentes y en condiciones diferentes, algunos de los cuales sustentan la proliferación de *L. monocytogenes*, mientras que en otros dicho microorganismo no prolifera en condiciones específicas de almacenamiento y vida útil. Así, se puede señalar la leche pasteurizada, que es un alimento muy consumido, y su frecuencia y nivel de contaminación con *L. monocytogenes* son muy bajas, sin embargo, permite la proliferación del microorganismo durante el almacenamiento. El helado es similar a la leche, pero no permite la proliferación de *L. monocytogenes* durante el almacenamiento. Los productos cárnicos fermentados están frecuentemente contaminados con listerias y su elaboración no comprende ninguna etapa listericida, pero su composición final evita la proliferación del microbio durante el almacenamiento. El pescado ahumado en frío está frecuentemente contaminado con *L. monocytogenes*, su elaboración no incluye ninguna etapa listericida y permite la proliferación del microorganismo cuando se almacena durante un periodo prolongado.

ANTECEDENTES DE LISTERIA EN CHILE

En 1990 se iniciaron los estudios en relación a la incidencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos en venta en Santiago. En una primera etapa se estudiaron 2.145 muestras de productos lácteos y cárnicos. Los resultados obtenidos fueron publicados en el International Journal of Food Microbiology 70 (2001).

Del total de muestras, se encontraron 77 contaminadas que provenían de helados (3.6%), queso crema (0.8%), productos cárnicos procesados (3.6%) y mariscos (11.6%). Los serovares encontrados fueron 1/2a (25 aislados) 4b (20 aislados) 1/2b (19 aislados) 3b (7 aislados), 1/2c (2 aislados) y 4 no tipificables. Cabe señalar, que los serovares 4b, 1/2a y 1/2b que son frecuentemente aislados de listeriosis humana, fueron aislados desde productos lácteos y cárnicos.

El año 2000, se realizó la segunda etapa del estudio en ensaladas en venta en supermercados de Santiago. Ello debido a que son la base de una alimentación sana, pero que por otra parte, de acuerdo a la información científica internacional, son el origen de grandes brotes de listeriosis en humanos. Se analizaron 709 muestras.

Los resultados de este segundo estudio fueron positivos para un 26% de ensaladas congeladas y 10.5% ensaladas frescas de supermercados. No se aisló el patógeno desde ensaladas de preparación industrial listas para el consumo.

Estos estudios demuestran la presencia de numerosas variedades de *Listeria monocytogenes* en los alimentos consumidos en Chile especialmente en alimentos considerados "listos para el consumo" que no requieren tratamiento térmico como las ensaladas y los que se mantienen refrigerados por largos periodos.

ACTUAL BROTE DE LISTERIOSIS

Hasta el 30 de diciembre de 2008, en la Región Metropolitana se han notificado 115 casos positivos a *Listeria monocytogenes* desde los diferentes establecimientos públicos y privados de la región.

De acuerdo a los antecedentes de la vigilancia de laboratorio a este patógeno, el número de aislamientos anuales en los años 2006 y 2007 en la RM, fueron 26 y 20 respectivamente. La cifra es cinco veces superior a la de años anteriores. Hasta la fecha, han fallecido 5 personas, lo que corresponde al 3,5% del total de casos.

Características de los casos Factores de riesgo

Del total de casos, 42% corresponde a embarazadas, 18% a adultos mayores con o sin patología de base, 15% a recién nacidos, 12% a pacientes inmunosuprimidos, 5% adulto mayor inmunosuprimidos, 3% sin condición conocida y 5% (6 casos) a personas sin factor de riesgo detectado, que han presentado un cuadro de meningitis severa. No se han detectado casos en niños sanos ni en menores inmunosuprimidos.

Lugar de residencia

El 77 % de los casos que pertenecen a la cepa epidémica, tienen su residencia en área de jurisdicción del Servicio Salud Metropolitano Oriente, concentrándose el mayor número en la comuna de Las Condes (16), Vitacura (12), Lo Barnechea (4), Nuñoa (3), Providencia (3), La Reina (2) y Peñalolen (1).

Características de los alimentos analizados

A partir del mes de septiembre del presente año y como resultado de la investigación epidemiológica de los casos reportados, se inició la toma de muestras de alimentos que las personas recordaban haber consumido.

Se analizaron 124 muestras de diversos alimentos en el Instituto de Salud Pública, resultando positivas 7 muestras, pero ninguna de las cepas aisladas en estos alimentos, presentó el mismo patrón genético de las cepas clínicas. Sin embargo, al estudiar la muestra de los alimentos sospechosos obtenidos de los refrigeradores de 2 pacientes, resultó positivo para listeria, con la cepa epidémica, el queso Brie Lescure.

El 1º de Diciembre de 2008, el ISP informó el resultado de los análisis de muestras de quesos obtenidas en la planta de producción de la empresa Chevrita (quesos Brie y Camembert), correspondiendo 24 de las muestras al clon epidémico. Se notificó la prohibición de distribución y venta de los productos lácteos marca Chevrita, Las Pircas y Lescure en todas sus variedades. Continúa la investigación de muestras de alimentos.

Características del agente

Al 29 de diciembre del año en curso, el ISP ha realizado 144 aislamientos a *Listeria monocytogenes* en el país. Corresponden a la Región Metropolitana 101 de estos aislamientos (70%) y 43 del resto de las regiones. Se encontraron 65 cepas genéticamente relacionadas (cepa epidémica), de las cuales 55 pertenecen a la Región Metropolitana, 6 a la Región de Valparaíso; las otras cinco pertenecen a las regiones de la Araucanía, Maule, Bío- Bío, Atacama y O'Higgins.

El Laboratorio de Referencia del Instituto de Salud Pública de Chile, ha realizado la tipificación genética de *Listeria monocytogenes* proveniente de muestras clínicas, mediante la técnica de Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE) utilizando la enzima de restricción según estándar PulseNet International (CDC, Atlanta, USA).

El análisis genético permitió la identificación de 28 subtipos diferentes que fueron codificados correlativamente (CLSPAPA001 a CLSPAPA028). El subtipo CLSPAPA009 fue el más frecuentemente identificado, determinándose en 38 aislamientos, correspondiendo al 50% de los casos estudiados. El subtipo CLSPAPA009 se encuentra genéticamente cercano a los subtipos CLSPAPA010, CLSPAPA004, CLSPAPA005, CLSPAPA006, CLSPAPA007, CLSPAPA011, CLSPAPA012, CLSPAPA013 y CLSPAPA014. Este conjunto constituye un grupo clonalmente relacionado, en el cual se incluyen el 77% de los casos de *Listeria monocytogenes* confirmados provenientes del área oriente de la Región Metropolitana.

CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO

En el Cuadro 1 se muestran los valores medios estimados del riesgo (obtenidos a partir de información de países desarrollados): número de casos de enfermedad por 10 millones de personas al año y riesgo por unidad de consumo, correspondientes a leche pasteurizada, helados, productos cárnicos fermentados y pescado ahumado. En el Cuadro 1 se muestran los valores medios estimados del riesgo: número de casos de enfermedad por 10 millones de personas al año y riesgo por unidad de consumo, correspondientes a leche pasteurizada, helados, productos cárnicos fermentados y pescado ahumado. Por ejemplo, el riesgo por unidad de consumo de la leche es bajo ($5,0 \times 10^{-9}$ casos por unidad de consumo), pero dada su muy alta frecuencia de consumo, la contribución de la leche al número total de casos de enfermedad pronosticados es considerable. Por el contrario, el riesgo estimado por unidad de consumo del pescado ahumado es alto ($2,1 \times 10^{-8}$ casos por unidad de consumo), pero el consumo de este producto es escaso (1 a 18 unidades al año), por lo que el número total de casos de listeriosis es moderado.

Cuadro 1

Valores medios estimados del riesgo: número de casos de enfermedad por 10 millones de personas al año y riesgo por unidad de consumo de cuatro alimentos listos para el consumo. Datos de países desarrollados.

Alimento	Alimento Casos de listeriosis por 10 millones de personas al año	Casos de listeriosis por millón de unidades de consumo
Leche	9,1	0,005
Helados	0,012	0,000014
Pescado ahumado	0,46	0,021
Productos cárnicos fermentados	0,00066	0,0000025

Fuente: Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. FAO. Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos N°4.

La evaluación de riesgos muestra que la gran mayoría de los casos de listeriosis se producen como resultado del consumo de grandes cantidades de *Listeria*. El modelo pronostica asimismo una probabilidad baja de contraer la enfermedad 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 enfermedad pronosticados.

Cuadro 2. Vulnerabilidades relativas de diferentes subgrupos de población basadas en datos epidemiológicos franceses.

Circunstancia	Vulnerabilidad relativa
Trasplante	2584
Leucemia	1364
SIDA	865
Diálisis	476
Cáncer de pulmón	229
Cáncer gastrointestinal y hepático	211
Enfermedades hepáticas, excepto cáncer	143
Cáncer de vejiga y de próstata	112
Cáncer ginecológico	66
Diabetes insulino dependiente	30
Diabetes no insulino dependiente	25
Alcoholismo	18
Edad superior a 65 años	7,5

Fuente: Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. FAO. Serie de evaluación de riesgos microbiológicos N°4.

Los resultados de la evaluación de riesgos muestran que el potencial de proliferación de *L. monocytogenes* influye en gran medida en el riesgo, aunque el grado de crecimiento producido es función de las características del alimento y de las condiciones y la duración del almacenamiento refrigerado. Basándose en los alimentos LPC seleccionados, su capacidad para sustentar la proliferación de *L. monocytogenes* multiplica, al parecer, el riesgo de listeriosis por unidad de consumo por un factor de 100 a 1000. Aunque no es posible dar un valor único del aumento del riesgo para todos los alimentos LPC, debido a las diferentes propiedades de estos alimentos, los intervalos de valores estimados en la evaluación de riesgos dan una idea de la medida en que puede aumentar el riesgo asociado a un alimento por el hecho de que sea capaz de sustentar la proliferación de *L. monocytogenes*.

Las medidas de control destinadas a reducir tanto la frecuencia como los niveles de contaminación logran reducir la incidencia de listeriosis. Una de estas medidas es el control de la proliferación de microorganismos en los alimentos después de su elaboración.

PRINCIPALES CONCLUSIONES DE LAS EVALUACIONES DE RIESGO

Los resultados clave más importantes de la evaluación de riesgos, en su conjunto, son los siguientes:

La probabilidad de enfermar por el consumo de un número especificado de bacterias *L. monocytogenes* puede representarse de forma conveniente mediante el triángulo epidemiológico, compuesto por los siguientes factores, todos importantes: la matriz alimenticia, la virulencia de la cepa y la vulnerabilidad del consumidor.

Los modelos elaborados pronostican que casi todos los casos de listeriosis se originan por el consumo de concentraciones altas del patógeno.

Según los datos disponibles, no hay aparentemente pruebas de que el riesgo derivado de consumir un determinado número de bacterias *L. monocytogenes* varíe de un país a otro, para grupos de población equivalentes. Las diferencias entre países en las prácticas de elaboración y de manipulación pueden influir en los niveles de contaminación y, por consiguiente, en el riesgo por unidad de consumo de un alimento. El efecto sobre la salud pública de un alimento puede evaluarse tanto en términos del riesgo por unidad de consumo como del número de casos al año por número de personas de una población.

Las medidas de control que reducen la frecuencia de contaminación reducirán 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. Cabría esperar que las medidas de control con mayor efecto reductor de la incidencia de listeriosis fueran las que evitan los niveles altos de contaminación en el momento de consumir los alimentos.

Aunque es relativamente poco frecuente encontrar niveles altos de contaminación en los puntos de venta al por menor, la salud pública podría mejorar si se redujera la frecuencia de estos casos de contaminación en la elaboración y venta al por menor de los alimentos que no permiten la proliferación. En los alimentos que sí permiten la proliferación, medidas de control como un mejor control de la temperatura o la limitación de la duración del almacenamiento limitarán el aumento del riesgo derivado de la proliferación de *L. monocytogenes*.

La inmensa mayoría de los casos de listeriosis está asociada al consumo de alimentos que no cumplen las normas vigentes relativas a la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos, tanto si la norma estipula una tolerancia cero como si establece un límite de 100 UFC/g.

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL CONTROL Y LA VIGILANCIA DE LOS ALIMENTOS

Definición de criterios microbiológicos para el establecimiento de medidas de control y vigilancia de los alimentos de riesgo con el objeto de proteger la salud de los consumidores, asegurar prácticas justas en el comercio de los alimentos y para que sirvan como puntos de referencia para la industria.

El ámbito de aplicación de los presentes criterios son los alimentos listos para el consumo (LPC). Se entiende por alimentos LPC, a aquellos alimentos destinados por el productor o el fabricante al consumo humano directo sin necesidad de cocinado u otro tipo de transformación eficaz para eliminar o reducir a un nivel aceptable los microorganismos peligrosos. Un alimento que sólo se calienta antes de consumirlo, se considera LPC.

En la definición de los criterios microbiológicos se han tenido en cuenta tanto la probabilidad de que *L. monocytogenes* este presente en un determinado alimento, así como su habilidad para crecer en dicho medio. De este modo, se definen criterios microbiológicos diferentes para:

- alimentos LPC, en los que no puede crecer *L. monocytogenes* y,
- alimentos LPC, en los que si puede crecer *L. monocytogenes*.

El crecimiento de *L. monocytogenes* puede ser controlado con factores tales como, un pH menor a 4,4; una actividad de agua (a_w) menor a 0,92; o una combinación de ambos factores, un pH menor de 5.0 con una a_w menor de 0,94, a través de la congelación, siempre que esta condición se mantenga durante todo el período, hasta antes de ser consumido, o por la refrigeración por un lapso de menos de 5 días.

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LOS ALIMENTOS EN LOS QUE NO PUEDE CRECER *L. MONOCYTOGENES*

Punto de aplicación	Microorganismo	n	c	m	Clases de plan
Alimentos LPC	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	2

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LOS ALIEMNTOS EN LOS QUE SI PUEDE CRECER *L. MONOCYTOGENES*

Punto de aplicación	Microorganismo	n	c	m	Clases de plan
Alimentos LPC	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Ausencia en 25 g	2

MEDIDAS SANITARIAS PROPUESTAS

Ante el incumplimiento de los criterios microbiológicos, se debe incoar un sumario sanitario con el objeto de:

- a).- Impedir que el lote afectado sea liberado para el consumo humano
- b).- Retirar el producto del mercado si este ya ha sido liberado para el consumo
- c).- Obligar al elaborador a Identificar y corregir la causa original que provocó el incumplimiento. Eventualmente, a través de la presentación de un programa de control específico para listeria, que incluya, entre otros aspectos, las especificaciones de las características físico –químicas de los productos, tales como, pH, actividad de agua, concentración de sal, concentración de preservantes, tipo y sistema de empaque, las condiciones de elaboración, las probabilidades de contaminación y las condiciones de “vida” en anaquel esperada, etc.

Dr. JCC
Enero 2009