

**DETECCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DESINFECTANTES DE AISLAMIENTOS
NACIONALES DE *Listeria* spp.**

MAGDA CAROLINA NEUQUE RICO

TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
para obtener el título de
BACTERIÓLOGA



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA
Bogotá D.C. 2009

**DETECCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DESINFECTANTES DE AISLAMIENTOS
NACIONALES DE *Listeria* spp.**

MAGDA CAROLINA NEUQUE RICO

Ingrid Schuler, Ph.D.

Decano Académico

Diana Patiño Cuervo

Bacterióloga, Msc

Director Carrera Bacteriología



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA
Bogotá D.C. 2009

**DETECCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DESINFECTANTES DE AISLAMIENTOS
NACIONALES DE *Listeria* spp.**

MAGDA CAROLINA NEUQUE RICO

Raúl A. Poutou, BQ, M.Sc., Ph.D

Director

Ana Karina Carrascal, Bact, M.Sc.

Codirector

Zulema Ruiz Bolivar, Bact, Cand. M.Sc.

Asesor

Marilyn Hidalgo, Bact. M.Sc. Ph.D.

Jurado

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BACTERIOLOGÍA
Bogotá D.C. 2009

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos
por sus alumnos en sus trabajos de tesis.

Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica
y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna,
antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

DEDICATORIA

A Dios por darme la sabiduría, por guiarme en todo mi proceso académico y permitirme culminar con éxito mi trabajo de grado.

A mis padres por su amor incondicional, comprensión, consejos, apoyo, paciencia y por brindarme las fuerzas necesarias para poder cumplir cada una de las metas propuestas en mi vida.

A mis hermanas que siempre me han brindado su compañía, ánimo y apoyo en todas las circunstancias de mi vida.

A mis amigos por la confianza, por estar conmigo en este proceso académico y de aprendizaje y por celebrar cada triunfo obtenido.

AGRADECIMIENTOS

A el doctor Raúl Poutou por brindarme desde el inicio de este trabajo toda la confianza, su apoyo, consejos, conocimientos ,paciencia, dedicación para hacer posible la realización de un buen trabajo de grado y por enseñarme que con responsabilidad, dedicación y constancia se llega a obtener muy buenos resultados.

A la doctora Ana Karina Carrascal por su apoyo, tiempo, por permitirme trabajar con ella durante el proceso del trabajo.

A la doctora Zulema Ruíz por su colaboración, apoyo y asesoría durante el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad Javeriana, especialmente al laboratorio de microbiología de Alimentos, por el préstamo de equipos, materiales, insumos e instalaciones para la realización del trabajo de grado.

Tabla de contenido

RESUMEN

INTRODUCCIÓN.....	10
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	12
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	12
JUSTIFICACIÓN	12
MARCO TEÓRICO.....	14
Antecedentes Históricos	14
El género <i>Listeria</i>	14
Listeriosis	15
<i>Listeria</i> spp., en la industria de alimentos	16
Resistencia de <i>Listeria</i> spp., a desinfectantes	17
<i>Listeria monocytogenes</i> en Colombia	18
OBJETIVOS.....	21
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Tipo, lugar de estudio y líneas de investigación	22
Microorganismos	22
Recuperación y purificación de cepas.....	23
Desinfectantes	23
Determinación de la susceptibilidad a desinfectantes de las cepas de <i>Listeria</i> spp.....	23
RESULTADOS	25
Recuperación y purificación de cepas.....	25

Evaluación de los Desinfectantes	27
Discusión de los Resultados.	30
CONCLUSIONES.....	34
RECOMENDACIONES	¡Error! Marcador no definido. 35
REFERENCIAS	36
ANEXOS	42

RESUMEN

En este proyecto se renovó el banco de aislamientos de trabajo (BCT) de *Listeria* spp. del laboratorio de microbiología de alimentos, verificando su purificación, y viabilidad. Se realizó criopreservación de los aislamientos en caldo BHI + Glicerol al 20% (v/v).

Se emplearon 166 aislamientos confirmados del género *Listeria* spp, provenientes de alimentos, animales y humanos, obtenidos entre 2002 – 2009 en diferentes regiones del país (Bogotá, Madrid/Cundinamarca, Tunja/Boyacá, Pamplona/Norte de Santander y Montería y Cereté/Córdoba). Se realizó la curva de calibración de McFarland; y se correlacionó la Abs_{600nm} con la concentración de células/ml de cada cepa. Con el fin de poder evaluar la susceptibilidad frente a diferentes concentraciones de 2 desinfectantes: Tego 51 (0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 0,9%, 1%, 1,5% y 2,0%), Hipoclorito de sodio (12.5 ppm, 50 ppm, 100ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600ppm y 800 ppm), y con 3 tiempos de contacto (5 min, 10 min y 15 min), encontrando la concentración mínima inhibitoria de (MIC)/tiempo, de cada cepa.

Los resultados obtenidos mostraron que las diferentes concentraciones evaluadas a los aislamientos de *Listeria* spp. presentaron una variabilidad en las CMI/tiempo encontradas, para el hipoclorito de sodio el 71,1%(118 aislamientos) de los aislamientos mantuvieron valores ≤ 200 ppm en tiempos de exposición que oscilan entre los 10 y 15 minutos. Mientras que el 28,9% (48 aislamientos) presentaron CMI > 200 ppm, pero con tiempos de exposición menores (5-10minutos). De otro lado, frente a Tego 51 el 99,4% (165 aislamientos) de los aislamientos se mantuvieron en valores $\leq 1,5\%$ en tiempos de exposición que oscilaron entre los 2-15 minutos, mientras que el 0,6% (1 aislamiento de *L. monocytogenes* de lechuga, Funza) presentó CMI de 2% con tiempo de exposición de 10 minutos. La distribución por alimentos y por regiones de los 48 aislamientos que estuvieron por encima de la concentración de hipoclorito y el tiempo de uso recomendado por el fabricante. No se logró evidenciar un patrón característico de tolerancia a desinfectantes en relación con la región o el tipo de alimento; pero si se logró una agrupación de los aislamientos con CMI/tiempo.

INTRODUCCIÓN

Listeria es un género microbiano que ha sido aislado de diferentes ambientes como suelo, lodos, aguas y varios tipos de alimentos; este microorganismo crece y se multiplica a temperaturas de refrigeración y sobrevive a la congelación. Es una bacteria Gram positiva que carece de cápsula y esporas, es móvil a través de flagelos peritricos; movilidad que se manifiesta mejor a temperaturas de 20 a 25°C. (16, 40, 77).

Listeria spp., ha sido encontrada en por lo menos 37 especies de mamíferos, domésticos y salvajes, así como 17 especies de aves y posiblemente en algunas especies de peces y mariscos. *Listeria monocytogenes* es la especie más importante por causar patologías en los seres humanos (43).

L. monocytogenes es un patógeno oportunista, capaz de sobrevivir en múltiples hospederos animales y en el hombre, donde se multiplica intracelularmente. Los factores que posiblemente están asociados con la patogenicidad son: la hemolisina (listeriolisina) producida sólo por las especies patógenas, producción de fosfolipasa C, proteína P60, y presencia de proteína de 60.000 Da., (65, 91).

En humanos *L. monocytogenes* puede afectar el Sistema Nervioso Central (SNC), conducir a la muerte o dejar secuelas neurológicas; mientras que la forma no invasiva de la enfermedad ocasiona síndrome gastrointestinal. Aunque la listeriosis puede manifestarse en personas aparentemente saludables, existen grupos especialmente sensibles como los neonatos (46), las mujeres embarazadas (79), los ancianos y personas inmunocomprometidas (96). La tasa de mortalidad de esta enfermedad oscila entre 20 y 30% (96). Las formas clínicas de la enfermedad varían de acuerdo al grupo infectado y las manifestaciones más comunes son meningitis, meningoencefalitis, septicemia, aborto, infección prenatal y gastroenteritis. En brotes esporádicos y epidemias

una gran variedad de alimentos han servido de vehículo para este microorganismo; entre ellos la leche, el queso, el paté, la carne de res, la carne de cerdo, la carne de aves, los vegetales, los productos del mar y particularmente los productos listos para consumir (hamburguesas, perros calientes , y empanadas entre otros) (4, 36, 96).

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En el país no se ha reportado la susceptibilidad a desinfectantes de aislamientos de *Listeria* spp., que han sido encontradas en diferentes ambientes industriales, animales o alimentos. Y, tampoco se han reportado datos de CMI (concentración mínima inhibitoria) relacionados con la resistencia a desinfectante ni existe una metodología estandarizada y aprobada para tal efecto.

JUSTIFICACIÓN

L. monocytogenes es un microorganismo que ha venido mostrando resistencia a más de diez desinfectantes de superficies, como el hipoclorito de sodio, el yodo, los peróxidos y los compuestos de amonio cuaternario. Por tal motivo este microorganismo al ser contaminante de alimentos demostró ser más resistente a los desinfectantes, cuando se emplea 'in vitro' la técnica de superficie que a los utilizados en suspensión. (2, 76).

Por ejemplo *L. monocytogenes* ha desarrollado mecanismos para eludir el efecto tóxico de los antibióticos y generar protección contra los compuestos químicos de los desinfectantes. Desde 1988 se viene reportando resistencia a los compuestos de amonio cuaternario, (QAC) entendiéndose por resistencia en la industria de alimentos la habilidad que desarrollan los microorganismos a sobrevivir a exposiciones cortas de los desinfectantes (41, 76).

Una de las causas de esta resistencia es el aumento en la frecuencia de contacto con los QAC (41, 61). Por esta razón, la industria de alimentos aconseja una rotación constante de los diferentes desinfectantes, sin embargo se ha considerado que la adaptación cruzada con otros desinfectantes diferentes a QAC es responsable de reforzar la supervivencia de los microorganismos (48, 89), como lo demuestra un estudio en el cual se evidenció la adaptación de *L. monocytogenes* después de 2 horas de exposición a

varios desinfectantes como la alquilamina terciaria, y compuestos de QAC (surfactantes catiónicos con mecanismos similares de acción). En el mismo estudio se resalta el posible efecto sinérgico entre dos mecanismos de resistencia, el que aumenta el MIC y el que conduce a las bacterias a formar biopelículas (23). A pesar de ello no es posible hablar de adaptación específica ya que varios desinfectantes, presentan adaptación cruzada aún con mecanismos de acción diferentes (76).

En Colombia se ha venido mejorando e implementado controles y procedimientos efectivos para evitar la contaminación progresiva de microorganismos en diversos productos consumibles o en el mismo ser humano, causando consecuencias en el factor económico, y afectando las industrias de alimentos.

La importancia que tiene el uso correcto de los protocolos de desinfección y limpieza, genera una credibilidad que conlleva a que la industria sea respaldada por estándares de calidad, que permite controlar un crecimiento masivo de microorganismos que pueden llegar a causar enfermedad en el ser humano y en alterar a los diferentes productos de consumo, evitando la propagación por microorganismos.

El uso adecuado de antimicrobianos y desinfectantes tiene un gran valor para la industria de alimentos, pues permite mejorar la calidad de los protocolos de limpieza, desinfección y prevención y evita la contaminación masiva con microorganismos patógenos, y difíciles de controlar como *L. monocytogenes*. Por este motivo es de gran utilidad conocer la susceptibilidad a desinfectantes de aislamientos de *Listeria* spp., que circulan en el ambiente empresarial y alimentos nacionales.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes Históricos

Listeria pertenece a la familia *Corynebacteriaceae* y fue descrita por primera vez en 1926 por Murray y colaboradores en Cambringe, como causante de epidemia en cerdos y conejos. Este microorganismo fue denominado entonces *Bacterium monocytogenes* debido a la monocitosis (leucocitos mononucleares) observada en la sangre de los animales enfermos. En 1927 Pirie le llamo *Listerella hephatolytica* en reconocimiento a la infección en hígado. La similitud entre los dos microorganismos llevo a la generación del nombre *Listerella monocytogenes* (11, 60, 69, 87). En 1929, Nyfeldt aisló la bacteria de sangre de pacientes con mononucleosis infecciosa, y realizó el primer reporte de listeriosis en humanos. Más tarde en 1936 Burn reportó que *Listerella monocytogenes* causaba meningitis en los adultos. Posteriormente en 1940 el nombre de *Listerella* fue cambiado por *Listeria* (13, 64).

El género Listeria

El género *Listeria* está formado por seis especies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* y *L. grayi* (42, 87). *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son los dos únicas especies reconocidas como patógenas, aunque se conoce de un caso fatal de bacteremia humana por *L. innocua* (67). *L. monocytogenes* genera brotes o casos esporádicos de listeriosis en humanos y ha sido asociada con infecciones invasivas en más de 40 especies de mamíferos y aves (9, 62). *L. ivanovii* sólo infecta animales y rara vez se ha reportado como agente causal de listeriosis en humanos (22). El 99% de las infecciones por *Listeria* se atribuyen a la ingestión de alimentos contaminados, en particular los productos listos para consumir (29, 31, 40, 47, 72, 77, 90, 100) y se cree que el 1% restante corresponde a infecciones en recién nacidos; lo que ocurre por transmisión vertical o por contagio en las salas de neonatos.

El hombre puede adquirir la listeriosis: por ingestión de alimentos contaminados (huevos, carnes, leches, quesos, entre otros), transmisión persona a persona o por contacto directo

con animales enfermos (empleados, granjeros, veterinarios) (7, 10, 32, 37, 45, 50, 51, 53, 78, 80, 82, 93).

Listeriosis

Listeria monocytogenes se ha convertido en un reconocido microorganismo emergente alimentario asociado a brotes epidémicos relacionados con diferentes tipos de alimentos (8, 30, 38, 39, 49, 68, 85, 86).

La listeriosis suele presentarse como bacteremia primaria o meningitis aguda aunque puede tener otras manifestaciones. Al igual que la sepsis, la meningitis por *Listeria* afecta a recién nacidos de 3 a 30 días de vida, adultos inmunosuprimidos y mayores de 60 años. Como cualquier meningitis neonatal, suele cursar con manifestaciones poco evidentes, como anorexia, falta de desarrollo. No hay rigidez de nuca y la tumefacción de las fontanelas tampoco es constante. El examen del líquido cefalorraquídeo (LCR) es en general, indistinguible de cualquier meningitis purulenta y muestra pleocitosis de 150 a 3.000 células ml^{-1} (extremos de 6 a 12.000) que suelen ser polimorfonucleares, pero a veces predominan los linfocitos, hiperproteíorraquia (hasta 700 mg dl^{-1}) e hipoglucorraquia que, sin embargo, no es constante. *L. monocytogenes* no siempre se observa en la tinción de Gram, pero el cultivo suele ser positivo (95, 96).

La listeriosis tiene dos manifestaciones la forma invasiva y la no invasiva; en humanos *L.monocytogenes* puede afectar el SNC, conducir a la muerte o dejar secuelas neurológicas; mientras que la forma no invasiva de la enfermedad ocasiona síndrome gastrointestinal. Aunque la listeriosis puede manifestarse en personas aparentemente saludables, existen grupos especialmente sensibles como los neonatos, las mujeres embarazadas (79), los ancianos y personas inmunocomprometidas (6, 96). La tasa de mortalidad de esta enfermedad oscila entre 20 y 30% (96). Las formas clínicas de la enfermedad varían de acuerdo al grupo infectado y las manifestaciones más comunes son meningitis, meningoencefalitis, septicemia, infecciones intrauterinas o cervicales en mujeres embarazadas, lo cual puede causar el aborto espontáneo en el 2-3 trimestre, infección prenatal y gastroenteritis (95). Las manifestaciones mencionadas en ocasiones están precedidas por síntomas parecidos a los de influenza incluyendo fiebres

persistentes; también síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarreas y estos síntomas pueden preceder formas más serias de listeriosis (34, 84).

En la actualidad, *L. monocytogenes* es la causa más común de meningitis en los pacientes inmunosuprimidos. El cuadro clínico puede ser muy variable. A veces es muy poco expresivo y sólo se manifiesta por febrícula y alteraciones de la personalidad. Otras veces muestra un curso subagudo y, rara vez, cabe advertir una evolución fulminante con coma precoz. Aparte del síndrome meníngeo, y sin que coexista un absceso cerebral, los signos neurológicos focales son bastante habituales, lo que señala que se trata más de una meningoencefalitis que de una simple meningitis. Así, se han descrito parálisis de los nervios craneales, hemiplejía y sordera. Este cuadro clínico es muy grave, cifrándose la mortalidad entre el 12,5 y el 43%. (37-39).

En brotes esporádicos y epidemias una gran variedad de alimentos han actuado como vehículos; entre ellos la leche, el queso, el paté, la carne de res, la carne de cerdo, la carne de aves, los vegetales, los productos del mar y particularmente los productos listos para consumir (5, 16, 35, 36, 74, 96).

Son pocos los casos de infecciones humanas causados por *L. ivanovii*, hasta el momento sólo se han reportado tres casos, un paciente con SIDA (22), un caso de infección placentaria (25) y en el 2006 se reportó el caso de un adulto mayor de 60 años con carcinoma metastático en hígado (92); sin embargo es importante tener en cuenta el subdiagnóstico. *L. ivanovii* posee un tropismo diferencial específico por rumiantes menores, provocando abortos, septicemia y enteritis. A diferencia de la encefalitis que produce *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* ataca el útero grávido de los animales (9), este microorganismo puede generar afecciones locales como mastitis, endocarditis, enteritis, querato-conjuntivitis, miocarditis e iritis (33, 71). La mastitis en vacunos suele presentarse como infección subclínica o supurativa, por lo que en algunos casos se han encontrado *Listeria* spp., en los neutrófilos de la leche. Las vacas que sufren de mastitis crónicas por *Listeria* spp., son escasas y en tales casos la bacteria se elimina alcanzando niveles de 10^3 UFC/ml; no obstante la contaminación de la leche por esta causa sigue siendo rara (9).

***Listeria* spp., en la industria de alimentos**

La capacidad de *Listeria* spp., de crecer a temperatura de refrigeración, tolerancia a la sal y al nitrito de sodio, hace que la bacteria contamine alimentos que se encuentren refrigerados. Este microorganismo se caracteriza porque puede vivir en la superficie de las carnes, durante la preparación y el almacenamiento de la leche en polvo, y puede permanecer viable durante varios procesos de fabricación y maduración del queso; Debido a su carácter ubicuo puede contaminar las superficies, equipos y utensilios, incluso productos procesados. (17, 35, 54, 57, 80).

Resistencia de *Listeria* spp., a desinfectantes

Los desinfectantes son productos químicos bactericidas y se usan en objetos inanimados. Los desinfectantes químicos, denominados microbicidas, tienen una gran aplicación en aquellos casos en los que no se puede usar calor o la radiación en la descontaminación o la esterilización. Los desinfectantes al ser un producto bioquímicamente activo que libera en las superficies de la infección por destrucción y muerte de microorganismos indeseables y deja las superficies de equipos y líneas listas para usarse. (76).

Las medidas de control para los microorganismos son la descontaminación, la desinfección y la esterilización; continuamente aplicamos los métodos de desinfección que inhiben el crecimiento microbiano, de tal forma las medidas antimicrobianas más directas son la desinfección con agentes químicos o físicos especiales. (15, 73). En un laboratorio de microbiología o en instalaciones industriales, los agentes químicos se emplean de forma rutinaria para controlar el crecimiento microbiano. En la industria de alimentos, se han desarrollado programas de limpieza, saneamiento y sistemas específicos de protección de las materias primas, procesos y productos, que se aplican hoy en día a nivel mundial (76).

Los antisépticos y desinfectantes son ampliamente utilizados en hospitales y otros centros sanitarios hospitalarios. Los agentes esterilizantes son desinfectantes que en condiciones apropiadas eliminan la vida microbiana. Una amplia variedad de agentes químicos (biocidas) se encuentran en estos productos, muchos de los cuales se han utilizado durante cientos de años, entre ellos los alcoholes, los fenoles, yodo y cloro. La mayoría de

estos agentes activos demuestran un amplio espectro de actividad antimicrobiana, sin embargo, poco se sabe sobre el modo de acción de estos agentes en comparación a los antibióticos. El uso generalizado de estos productos ha llevado a algunas especulaciones sobre el desarrollo de la resistencia microbiana, en particular, si la resistencia a los antibióticos es inducida por los antisépticos o desinfectantes (41, 75).

***Listeria monocytogenes* en Colombia**

En Colombia, aunque la enfermedad es de interés para la salud pública, no existen reportes epidemiológicos debido al subregistro clínico e industrial, la mayoría de casos clínicos no se diagnostican (96). La ausencia de reportes podría estar relacionada con una frecuencia baja de la enfermedad como sucede en otros países, o con el hecho de que la patología ha sido poco investigada (96).

La Fundación Clínica Valle del Lili (FCVL), en Cali, Colombia, en un estudio retrospectivo entre 1994 y 1998 encontró 19 casos con 37 aislamientos de *L. monocytogenes*, 33 en sangre (89,2%), dos en líquido cefalorraquídeo (LCR) (5.4%), uno en líquido amniótico (2,7%) y uno en biopsia de cerebro (2,7%) (20). Entre los pacientes se observó una mortalidad del 26% (5/19), menor a la de otros países pero estadísticamente significativa para la localidad (20). Durante el año 2002 de los 69 brotes reportados al Sistema Alerta y Acción (SAA), en uno se identificó *L. monocytogenes* como agente causal de ETA, el microorganismo se encontraba presente en queso para emparedados distribuido en una cafetería de Bogotá y seis personas resultaron afectadas, no obstante no se logró comprobar la presencia de estos en los pacientes (58). En el período 1992-2003 se reportó sólo un brote de listeriosis, el subregistro de casos se atribuyó a problemas en el diagnóstico por los desórdenes extraintestinales producidos por la bacteria (28). En el 2005, Uribe *et al.*, describieron un caso de meningitis por *L. monocytogenes* en el servicio de Pediatría de Hospital San José, Bogotá (97).

Respecto a investigaciones en alimentos, en Colombia, desde 1994 hasta el 2009 se han documentado estudios sobre aislamiento de *Listeria* spp., y *L. monocytogenes*, en Antioquia, en el altiplano Cundiboyacense, en Cali y los Municipios de Madrid y Mosquera

en Cundinamarca. En este lapso se analizaron productos crudos o preparados artesanalmente, tales como: leche cruda, quesos frescos, semimaduros, maduros, doble crema, blancos y cuajada, carnes de pollo, res, cerdo y derivados, huevo, hortalizas (lechuga y repollos), agua de riego, equipos como tajadoras de queso; además, se comprobó la capacidad de supervivencia de *L. monocytogenes* en superficies inertes (66). Se han reportado incidencias del 37% de *L. monocytogenes* en leche cruda y 29,2% en leche pasteurizada (24), en junio de 2003 Vanegas y colaboradores reportaron una incidencia de 29,2% del patógeno en quesos campesinos comercializados en Bogotá (98).

La Secretaria Distrital de Salud de Bogotá realizó un estudio en derivados cárnicos cocidos para consumo directo, durante los años 2001 a 2004 identificando 67 muestras positivas (16,87%) de *L. monocytogenes* aisladas de un total de 398 muestras de embutidos, siendo el jamón de cerdo cocido el que presento mayor prevalencia del microorganismo (**Tabla 1**).

Tabla 1. Serovariedades de *L. monocytogenes* obtenidos en derivados cárnicos comercializados en Bogotá (74).

Serovariedad	Cantidad de cepas	Porcentaje
4b	30	44.8%
1/2b	6	9.0%
3b	10	14.9%
4d	1	1.5%
NI	20	29.9%

NI= No identificado

Sin embargo el número de muestras procesadas puede no reflejar las condiciones reales de todo el país, de igual forma *L. monocytogenes* puede tener una mayor recuperación en climas fríos y al existir todos los pisos térmicos en el país, los datos de Bogotá no pueden compararse con los datos que puedan existir por ejemplo en la costa Atlántica.

Investigaciones sobre *Listeria* spp., desarrolladas en la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana han encontrado prevalencias de *L. monocytogenes* en distintos alimentos. En 1996, se investigaron leches crudas obtenidas en ventas ambulantes y leches pasteurizadas de Bogotá; en este estudio de 41 muestras de leche cruda, el 78% presentó *Listeria* spp., y el 17,07% de los aislamientos correspondió a *L. monocytogenes*. De las 25 muestras de leche pasteurizada, el 8% fueron positivas para *L. seegligeri*, especie no patógena para humanos (14).

En 1997 se analizaron repollos y lechugas crudas y procesadas, adquiridas en tiendas y supermercados de la capital de Colombia, en el 30% de las hortalizas se recuperó *Listeria* spp., de estas el 13% contenía *L. monocytogenes* y de las 20 muestras adobadas con salsa vinagreta se encontró *Listeria* spp., en el 20%, del cual el 10% fue *L. monocytogenes* (99).

En 1998 se determinó la incidencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos elaborados artesanal o industrialmente en Bogotá, el muestreo se realizó en supermercados y plazas de mercado. Se aislaron 5 especies de *Listeria* spp., en el 48% de los quesos, *L. monocytogenes* contaminó el 23% de las muestras mientras que *L. welshimeri* se aisló con la frecuencia del 54% (59).

En 1999, se analizaron aguas de riego para repollos y lechugas en el municipio de Mosquera, de 50 muestras tomadas en orillas de los vallados, el 38% de las muestras presentó *Listeria* spp., y de estas, el 10% se identificó como *L. monocytogenes*. En las muestras tomadas en el centro de los vallados, el 36% correspondió a *Listeria* spp., y de este el 8% fue *L. monocytogenes*. De las 50 parcelas examinadas el 56% presentó *Listeria* spp., del cual el 8% fue *L. monocytogenes* (21).

En el año 2004 se estudió la prevalencia de *L. monocytogenes* en pollo procesado en la zona suroccidental de Bogotá, aplicándose PCR en tiempo real (RT-PCR), se identificó *Listeria* spp., en 36 aislamientos (14,5%), de los cuales el 14,1% fueron *L. monocytogenes* (19).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la susceptibilidad a desinfectantes en aislamientos de *Listeria* spp., proveniente de alimentos, animales y humanos de diferentes regiones de Colombia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Renovar el banco de aislamientos de trabajo (BCT) de *Listeria* spp., del laboratorio de microbiología de alimentos.
2. Determinar la susceptibilidad de aislamientos de *Listeria* spp., a los desinfectantes Tego 51, Hipoclorito de sodio.
3. Relacionar el origen de los aislamientos con la CMI encontrada para cada desinfectante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo, lugar de estudio y líneas de investigación

Este es un estudio de tipo descriptivo realizado en el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI), (clasificado como A₁ COL0001146). Esta investigación aplicada estaba cobijada por la línea de investigación, Microorganismos Emergentes en Alimentos.

Microorganismos

Se emplearon 166 (100%) aislamientos confirmados del género *Listeria*, provenientes de alimentos obtenidos entre el 2002 y el 2009 en diferentes regiones del país (Bogotá/Cundinamarca, Funza/Cundinamarca y Madrid/Cundinamarca, Pamplona/Norte de Santander, Cali/Valle del Cauca y Montería, Cereté/Córdoba), (36). La distribución de los aislamientos por especies y región fue: *L. monocytogenes* 120 (72,3%), (51 aislamientos (42,5%) de Bogotá, 42 (35%) de Funza, 11 (9,17%) de Madrid, 13 (10,8%) de Pamplona, 1 (0,83%) de Cali y 2 (1,7%) de procedencia indeterminada); *Listeria* spp., 16 (9,6%), (1 (6,25%) de Bogotá, 10 (62,5%) de Pamplona, 1 (6,3%) de Cereté y 4 (25%) de procedencia indeterminada); *L. ivanovii* 17 (10,2%), (5 (29,4%) de Montería y 12 (70,6%) de Cereté) y *L. innocua* 13 (7,8%), (1 (7,69%) de Bogotá, 10 (76,9%) de Pamplona y 2 (15,4%) de procedencia indeterminada).

La distribución por tipo de muestras fue la siguiente: *L. monocytogenes* 34 (28,3%) de espinacas, 19(15,8%) de leche, 8 (6,7%) de lechugas, 32 (26,7%) de pollo, 20 (16,7%) de quesos, 1(0,8%) de vaca, 5(4,2%) de humanos, 1(0,8%) de procedencia indeterminada; *Listeria* spp., 3(18,8%) de leches, 1(6,25%) de lechuga, 9(56,3%) de quesos, 2(12,5%) de vegetales, 1(6,3) de procedencia indeterminada; *L. ivanovii* 17(100%) de quesos; *L.innocua* 10 (76,9%) de quesos, 1(7,7%) de carne de res, 2(15,4%) de procedencia indeterminada.

Recuperación y purificación de las cepas

Para la recuperación de estos microorganismos se utilizó caldo BHI suplementado con 0,5% (p/v) de glucosa a 37°C, en agitación continua a 100 rpm, por 18 horas, teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* tiene curva de crecimiento entre 12 y 18 horas de incubación. (15, 73, 83). Cada cultivo fue verificado por coloración de Gram y confirmación de pureza en Tripticasa Soya, y agar Palcam y TSAYE a 37°C durante 24 horas, observando las características propias del microorganismo.

Con las colonias aisladas y puras se preparó un banco de células de trabajo, en caldo BHI más glicerol al 20% (v/v), el cual fue criopreservados a -70°C (12, 70).

Desinfectantes

Se emplearon los desinfectantes Tego 51 (surfactante anfótero) e Hipoclorito de sodio (clorado), a concentraciones de 0,125 a 2% (v/v) y 12,5 a 800ppm respectivamente, en períodos de tiempo que oscilaron entre los 2 y los 15 minutos de exposición. Estos desinfectantes fueron seleccionados por ser de los más utilizados en la industria de alimentos (26, 81).

Determinación de la susceptibilidad a desinfectantes de las aislamientos de *Listeria spp.*

Para este análisis se realizó una curva de calibración de la escala de McFarland; para ello se midió la Abs_{600nm} en espectrofotómetro Genesys 10 Uv (Thermo spectronic) y se correlacionó con la concentración de células/ml de cada tubo de la escala. De otro lado se tubo en cuenta la equivalencia encontrada por Manzano (55) que plantea:

$$Abs_{600nm} = 0.2 \Rightarrow 1 \times 10^7 UFC \quad (1)$$

Los aislamientos de *Listeria spp.*, se cultivaron en caldo BHI suplementado con 0,5% (p/v) de glucosa a 37°C, 100 rpm, durante 24h. Luego se midió la Abs_{600nm} y se preparó una

suspensión equivalente al tubo 0,5 de McFarland en solución salina (0,85% (p/v)) de NaCl). 300 μ l de la suspensión se inocularon en 2,7ml (1/10) del desinfectante en evaluación de forma tal que se obtuvo la concentración a estudiar y se incubó la mezcla a temperatura ambiente durante los diferentes tiempos de exposición.

Pasado cada tiempo se tomaron 20 μ l de la suspensión y se inocularon en caldo BHI suplementado con 0,5% (p/v) de glucosa (1/150) y se incubó durante 24h a 35°C. Terminada la incubación se midió la Abs_{600nm} y a través de su equivalencia en células/ml obtenida de la curva de calibración de McFarland se determinó el comportamiento de la población celular (disminución, se mantuvo o aumentó), en comparación con la población de células/ml inoculadas. Sí la población de células/ml disminuyó se consideró consecuencia del contacto con el desinfectante y por tanto se interpretó como "Sensible" (S), sí la población de células/ml aumentó se interpretó como "Tolerante" (T) y cuando la población de células/ml se mantuvo, fue interpretado como la necesidad de aumentar la concentración del desinfectante y/o el tiempo de exposición hasta encontrar el punto de mínimo sensibilidad (CMI/tiempo expresada en concentración mínima inhibitoria del desinfectante/tiempo de exposición en minutos).

RESULTADOS

Recuperación y purificación de cepas

Se preparó un Banco Primario de Células (BPC) con los 166 aislamientos puros y criopreservados en caldo BHI suplementado con 0,5% (p/v) de glucosa más glicerol al 20% (v/v) a -70°C (12, 56). La coloración de Gram presentó una morfología de bacilos y cocobacilos Gram positivos, no esporulasos formando en algunos casos formas de Y o V (Figura 1a). El crecimiento en agares TSAYE, Palcam evidenció las características propias de *Listeria* spp.; colonias pequeñas, de superficie lisa, iluminación de Henry positiva (Figura 1b). En agar Palcam, se observaron colonias verde grisosas, lisas y elevadas, con halo negro alrededor, de *L. monocytogenes* (Figura 1c).

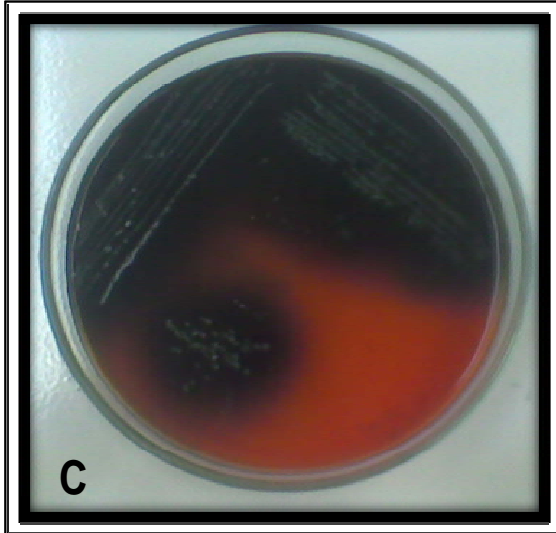
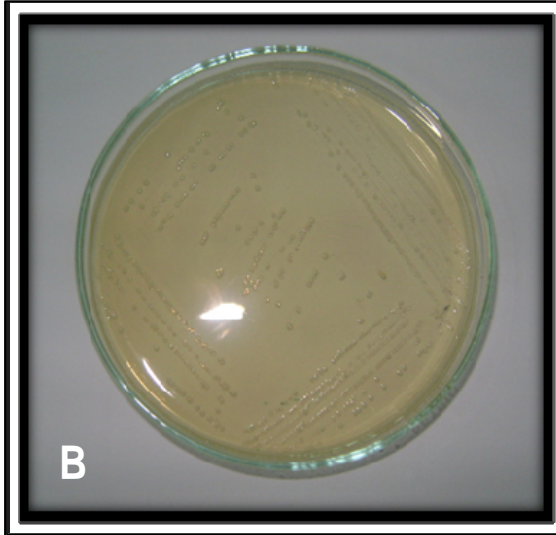
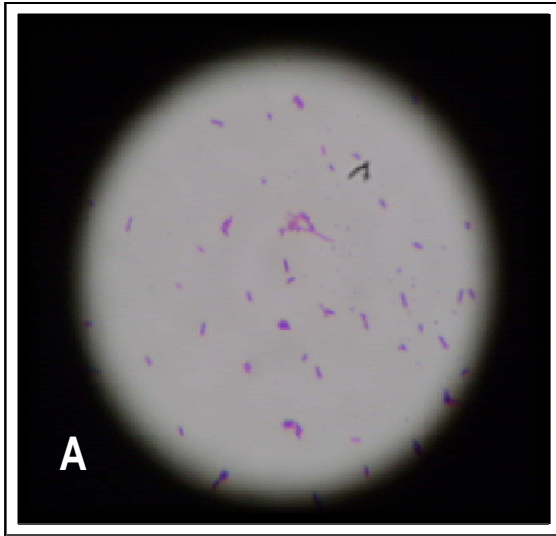


Figura 1. a: Coloración de Gram *L.monocytogenes*, **b:** aislamiento *L. monocytogenes* en agar TSAYE, **c:** aislamiento *L. monocytogenes* en agar Palcam

Evaluación de los Desinfectantes

Las aislamientos de *Listeria* spp., presentaron una variabilidad en la tolerancia (MIC) a las distintas concentraciones y tiempos de exposición de los desinfectantes evaluados Tego 51 (desinfectante anfótero), Hipoclorito de sodio (alógeno), (Tablas 1 y 2).

Tabla1. Patrones de la tolerancia a Hipoclorito de sodio agrupados por tiempo y concentración del desinfectante.

CMI/Tiempo		# de aislamientos (% por especies)				
Hipoclorito (ppm)	Tiempo (min)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	Total de aislamientos
≤12,5	10-15	6 (5,0)	1(6,3)		2(11,8)	9(5,4)
25	10-15	8 (6,7)	2(12,5)	5(38,4)	3(17,6)	18(10,8)
50	10-15	17 (14,2)		1(7,7)	4(23,5)	22(13,3)
100	10-15	32 (26,7)	4(25)	1(7,7)	3(17,6)	40(24,1)
200	10-15	25(20,7)	2(12,5)		2(11,8)	29(17,5)
400	5-10	20 (16,7)	5(31,2)	2(15,4)	2(11,8)	29(17,5)
600	5-10	9 (7,5)		3(23,1)		12(7,2)
800	10-15	3 (2,5)	2(12,5)	1(7,7)	1(5,9)	7(4,2)
Totales		120 (100)	16(100)	13(100)	17(100)	166(100)

En azul el límite de concentración inferior y en rojo límite superior utilizado con mayor frecuencia en la actualidad en las industrias nacionales de alimentos (26).

Tabla 2. Patrones de la tolerancia a Tego 51 agrupados por tiempo y concentración del desinfectante.

CMI/Tiempo		# de aislamientos (% por especies)				
Tego 51 (% v/v)	Tiempo (min)	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	Total de aislamientos
0,125	10-15	7(5,8)			1(5,9)	8(4,82)
0,2	5	1(0,8)				1(0,6)
0,25	5-10	21(17,6)	1(6,3)	6(46,1)	2(11,8)	30(18,1)
0,5	2-15	12(10)		1(7,7)		13(7,8)
0,75	5-10	10 (8,4)	3(18,8)	1(7,7)	3(17,6)	17(10,2)
0,9	5-10	13(10,8)	3(18,7)		4(23,5)	20(12,05)
1,0	5-10	18(15)	4(25,0)	2(15,4)	2(11,8)	26(15,7)
1,5	5-10	37(30,8)	5(31,3)	3(23,1)	5(29,4)	50(30,1)
2,0	10	1(0,8)				1(0,6)
Totales		120(100)	16(100)	13(100)	17(100)	166(100)

En azul y rojo se marcan los límites inferior y superior (respectivamente) para el uso del desinfectante según ficha técnica.

Los aislamientos de *Listeria* spp., presentaron una variabilidad en las CMI encontradas, para el hipoclorito de sodio el 71,1% (118 aislamientos) de los aislamientos presentaron valores ≤ 200 ppm en tiempos de exposición que oscilaron entre los 10-15 minutos (**Tabla 1**). Mientras que el 28,9% (48 aislamientos) presentaron CMI > 200 ppm, pero con tiempos de exposición menores (5-10 minutos).

De otro lado, frente a Tego 51 el 99,4% (165 aislamientos) de los aislamientos se mantuvieron en valores $\leq 1,5\%$ en tiempos de exposición que oscilaron entre los 2-15 minutos (**Tabla 2**), mientras que el 0,6% (1 aislamiento de *L. monocytogenes* de lechuga, Funza) presentó CMI de 2% con tiempo de exposición de 10 minutos.

La distribución por alimentos y por regiones de los 48 aislamientos que estuvieron por encima de la concentración de hipoclorito y el tiempo de uso recomendado por el fabricante se observa en la (**Tabla 3**).

Tabla 3. Distribución de los 48 aislamientos de *Listeria* spp.

Microorganismos	Ciudad (total de aislamientos en estudio)						
	Bogotá (53)	Madrid (11)	Funza (42)	Pamplona (33)	No identificado (8)	Cereté (13)	Montería (5)
<i>L. monocytogenes</i>	12	3	12	4	1		
<i>Listeria</i> spp.				5	2		
<i>L. innocua</i>				6			
<i>L. ivanovii</i>						2	1
Subtotal	12	3	12	15	3	2	1

Tabla 3. Distribución de los 48 aislamientos de *Listeria* spp., con CMI/tiempo superior a lo recomendado (Hipoclorito de sodio).

Alimentos (# aislamientos)	Distribución por alimentos y tolerancia a Hipoclorito						
Espinaca (34)			♣ ₃ ♥ ₆ ●				
Leche (22)	*	♣ ♦		♣ ▽			
Lechuga (9)			♣ ♥				
No identificado (4)					♥		
Pollo (32)	♣ ₃ ♥ ♥ ₃ * ▽ ₂						
Queso (56)	●			♥ ♣ ₂ ♥ ♣ ♥ ● * * * ▽ ▽		♣ ♥	⊗
Vaca (1)		♣					
Vegetal (2)					♣ ▽		

♦ 400ppm/15min ● 600ppm/10min ⊗ 800ppm/15min
 ♣ 400ppm/10min * 600ppm/5min ▽ 800ppm/10min
 ♥ 400ppm/5min

La tabla 3 muestra que 15 (31,25%) de los aislamientos con tolerancias mayores provienen de Pamplona/Norte de Santander y le siguen Bogotá 12(25%) y Funza 12(25%), ambos de Cundinamarca.

Los aislamientos provenientes de humanos presentaron CMI/tiempo dentro de los límites empleados en la industria,

DISCUSIÓN

L. monocytogenes es un microorganismo de gran importancia en la industria de alimentos y a nivel de salud pública, está presente en diferentes ambientes, equipos e instalaciones; lo que le permite la diseminación y contaminación de los alimentos, incluso después de haber sido procesados (8, 32, 80). De ahí la importancia de determinar la sensibilidad de este microorganismo a los desinfectantes empleados en los procesos limpieza y desinfección.

En este estudio se evaluó la tolerancia de aislamientos de *Listeria* spp., proveniente de diferentes orígenes frente a dos desinfectantes comúnmente empleados en la industria nacional el Tego 51 (C₁₈H₄₀ClN₃O₂) y el hipoclorito de sodio (NaOCl).

El Tego 51 es un surfactante anfótero que reduce la tensión superficial de la membrana afectando la permeabilidad y el intercambio de sustancias y nutrientes. Las propiedades de las membranas de los microorganismos difieren en función de la composición química de las mismas por lo cual el efecto de este desinfectante no es igual en bacterias Gram-positivas o en Gram-negativas (3, 18).

Por otra parte el hipoclorito de sodio neutraliza los aminoácidos formando sal y agua, dando lugar a la formación de cloraminas que interfieren el metabolismo celular, degrada los ácidos grasos afectando de manera general la integridad de la membrana citoplasmática, provoca inhibiciones enzimáticas irreversibles y alteración en el metabolismo de los fosfolípidos entre otros (27).

Se ha demostrado que varios de los agentes sanitizantes y desinfectantes empleados en la industria de alimentos son efectivos contra células de *L. monocytogenes* en suspensión; sin embargo la formación de biopelículas sobre las superficies y la presencia de materia orgánica en estas disminuye la eficacia de los desinfectantes (1, 44, 63, 88).

En este estudio se propone una metodología alternativa (ensayo de dilución) para la evaluación de la tolerancia a desinfectantes de cepas de *Listeria* spp., basados en el incremento de la absorbancia (Abs_{600nm}) y el cálculo de la concentración de células/ml a partir de una curva de calibración de McFarland. Los resultados obtenidos muestran variabilidad en la susceptibilidad a desinfectantes entre los aislamientos de *Listeria* spp.,

sí se tienen en cuenta las diferentes CMI/tiempo que fueron encontradas para cada uno de los desinfectantes ensayados (**Tablas 1 y 2**).

El hecho de que sólo 49/166 (29,51%) de los aislamientos mostraran CMI/tiempo superiores a las empleadas comúnmente en la industria es alentador; sin embargo 33 (67,34%) de estos aislamientos fueron de *L. monocytogenes*, y se sabe que al formar “biopelículas” este microorganismo incrementa la tolerancia a hipoclorito hasta 2500ppm (52); para el caso de Tego 51 se han reportado casos de CMI/tiempo superiores a las recomendadas por la industria.

Un estudio anterior demostró que se requería de 1000ppm de hipoclorito para inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* en suspensión (83). Otro estudio demostró que concentraciones de hipoclorito de sodio de 250ppm y 500ppm inhibían el crecimiento de aislamientos de *L. monocytogenes*; sin embargo el estudio sólo incluyó 5 aislamientos todos de la misma especie y sólo se ensayaron dos concentraciones (73). Un tercer estudio terminado recientemente evaluó 25 aislamientos de *L. monocytogenes* frente a hipoclorito de sodio y tego51 entre otros y se encontró tolerancia a hipoclorito entre 100 y 200ppm; en el caso de Tego51 encontraron sensibilidad desde 0,25% (15).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio están en concordancia con los estudios anteriores (15, 73, 83), pese a que la metodología empleada para determinar la tolerancia o la sensibilidad ha variado entre estudios; en algunos casos se hizo recuento agar TSAYE (UFC/ml antes y después de la exposición al desinfectante) o recuperación en agar TSAYE de la célula post-enfrentada al desinfectante usando como control células no enfrentadas.

En relación a la tolerancia a hipoclorito, de los 25 aislamientos ensayados en el estudio de Cárdenas-Suárez y Garzón-Puertas 2008, 21 (84%) también fueron ensayadas en este estudio y se encontró resultados similares en 14 (56%) y resultados diferentes en 7 (28%).

Para la tolerancia a Tego 51, se ensayaron los mismos 21/25 aislamientos del estudio anterior (15). Nuestros resultados coincidieron en 16 (76,2%) y sólo 5 (23,8%) no coincidieron. Estos resultados sugieren que la metodología propuesta en el presente trabajo es más robusta y que amerita desarrollar un proceso de validación.

Con relación a los aislamientos provenientes de humanos todos presentaron CMI/tiempo dentro de los límites empleados en la industria, lo que sugiere que al exponer estos aislamientos a concentraciones recomendadas a nivel intrahospitalario en tengo 51 (0.5%-1.5%) y en hipoclorito de sodio (500ppm), se comportarian de la misma manera como se comportan frente a las concentraciones usadas en la industria. Cabe anotar que cuando la concentración empleada del hipoclorito es >500ppm, puede generar una buena inhibición a nivel intrahospitalario, pero en la industria de alimentos se debe tener en cuenta la toxicidad, actividad corrosiva del cloro por lo tanto se sugiere emplear la concentración minima inhibitoria para que no produzca efectos en la salud y en los equipos. (27,83).

Los resultados obtenidos en la tabla 3 reflejan la distribución de las muestras y no se puede inferir que la tolerancia de los aislamientos frente a los desinfectantes evaluados sea igual, además por no ser homogénea la distribución de los alimentos por región no se puede establecer generalidades, no obstante las cepas que presentaron una mayor tolerancia a los desinfectantes fueron aisladas de queso y pollo. Con relación al queso, es posible que la resistencia este relacionada con la habilidad que tienen los globulos grasos de esta matriz de proteger a *Listeria* haciendola mas tolerable a las condiciones utilizadas de rutina en la industria láctea. Con relación al pollo, a niveles industriales estos son sometidos a procesos de Pre-Chiller y Chiller donde rutinariamente por las condiciones de manejo de agua y hielo, es necesario la adición de cloro en el sistema, exponiendo constantemente a las cepas circulantes al efecto residual del cloro, lo cual podría aumentar la resistencia al uso de esta sustancia. (16, 27)

La mayor tolerancia encontrada en las cepas de *Listeria* spp. frente al agente desinfectante hipoclorito fue en alimentos de pollo y queso procedentes de Bogotá y Pamplona. Generalmente se acepta que los quesos estén contaminados debido a los métodos de elaboración, en gran parte artesanales y a la posibilidad que en el post proceso ocurra contaminación, a esto se añade un sistema inadecuado de limpieza y desinfección en los sitios de producción, sin descartar las deficientes condiciones higiénicas de los sitios de expendio y el manejo inadecuado del alimento en el hogar. (35). Por eso en este estudio se observa la presencia de los diferentes tipos de *Listeria* spp. encontrados en 15 aislamientos de queso de Pamplona, y se observa que las CMI/tiempo encontradas oscilan entre 400ppm/5min – 800ppm/10min; esto podría esta relacionado

con la habilidad que tiene *L. monocytogenes* de formar nicho ecológico con otras especies lo que le permite aumentar su tolerancia a desinfectantes, al compartir información genética demostrando que se requiere de concentraciones mayores a las utilizadas en las industrias nacionales.

Los resultados obtenidos muestran que 12 aislamientos provenientes de pollo de Bogotá son únicamente de *L.monocytogenes*, lo cual podría relacionarse con un estudio en el 2007 por carrascal que mostró una incidencia de 14.5%, por lo que se puede inferir que las condiciones higiénicas no son las adecuadas, y logran colonizar en el proceso de refrigeración. (16).De tal forma este microorganismo presento una variabilidad en las CMI/tiempo, entre 400ppm/5min – 800ppm/10min. Es importante señalar que una incidencia tan alta en este tipo de productos y unas MIC/tiempo mayores a las utilizadas en la industria, demuestra la ausencia de un buen programa de limpieza y desinfección, por lo que será necesario reforzar, a nivel de industrias estos programas con el fin de reducir la contaminación particularmente de la *L. monocytogenes*, que por su alta tasa de mortalidad es de importancia en salud pública.

CONCLUSIONES

Se logró la recuperación del 100% del banco de células de *Listeria* spp., del laboratorio de microbiología de alimentos, así como la inclusión de 5 nuevos aislamientos de *Listeria monocytogenes* provenientes de humanos.

Se propuso una metodología de dilución para la evaluación de la tolerancia a desinfectantes, basada en mediciones espectrofotométricas y su interpretación a partir de la curva de calibración de McFarland.

No se logró evidenciar un patrón característico de tolerancia a desinfectantes en relación con la región o el tipo de alimento, sin embargo la agrupación de los aislamientos con CMI/tiempo > a la recomendación del fabricante sí está sesgado en relación al número de aislamientos de cada región y de cada alimento.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar las mismas concentraciones de los desinfectantes añadiendo dos variables que pueden influir directamente en la tolerancia o en el efecto bactericida de los desinfectantes (pH y temperatura de refrigeración).

Se recomienda terminar la estandarización de la metodología aquí propuesta y hacer la validación correspondiente.

Se debe incluir la detección de patrones de tolerancia a desinfectantes en próximos estudios de corte epidemiológico, donde el sesgo del número de aislamientos por alimentos y región no influya de manera determinante.

REFERENCIAS

1. **Aarnisalo, K, Lundén, J, Korkeala, H, Wirtanen, G.** Susceptibility of *Listeria monocytogenes* strains to disinfectants and chlorinated alkaline cleaners at cold temperatures. *Lebensm-Wiss-u-Technol* 2007;40:1041-1048.
2. **Aase, B, Sundheim, G, Langsrud, S, Rørvik, LM.** Occurrence of and a possible mechanism for resistance to a quaternary ammonium compound in *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 2000;62:57-63.
3. **Aebersold, R, Goodlett, DR.** Mass Spectrometry in Proteomics. *Chemical Review* 2001;101:269-295.
4. **Aguado, V, Vitas, AI, García, I.** Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. *International Journal of Food Microbiology* 2004;90:341-347.
5. **Albarracín, FY, Poutou, RA, Carrascal, AK.** *Listeria* spp., y *L. monocytogenes* en leche cruda de cabra. *Revista MVZ-Córdoba* 2008;13(2):1326-1332.
6. **Arenas, J, Cabello, A, Campos, Y.** Bioquímica e histoquímica de las enfermedades mitocondriales. *An Esp Pediatr* 1996;83:S290-292.
7. **Arias-Miranda, IM, Nuño-Mateo, FJ, Noval-Menéndez, J, Fonseca-Aizpuru, EM, Menéndez-Calderón, MJ.** Listeriosis en el adulto. Revisión de 10 casos. *Anales de Medicina Interna* 2004;21(2):75-78.
8. **Aureli, P, Fiorucci, GC, Caroli, D, Marchiaro, G, Novara, O, Leone, L et al.** An Outbreak of Febrile Gastroenteritis Associated with Corn Contaminated with *Listeria monocytogenes*. *The New England Journal of Medicine* 2000;342(17):1236-1241.
9. **Belalcázar, ME, Poutou, RA, Torres, KJ, Gallegos, JM, Torres, O, Carrascal, AK.** *Listeria monocytogenes* y Listeriosis Animal. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica* 2005;8(2):95-101.
10. **Bera, N,** Listeriosis Neonatal in USA, in *Marin Independent Journal*. 2004. p. 1-2.
11. **Bille, J, Rocourt, J, Swaminathan, B.** *Listeria* and *Erysipelothrix*, in *Manual of Clinical Microbiology*, Murray, PR, Editor. 2003, ASM Press: Washington, DC, USA. p. 654-671.
12. **Burbano, EM,** Validación De PCR Para La Detección De *Listeria monocytogenes* En Leches, in Departamento de Microbiología. 2002, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C. p. 125.
13. **Burn, CG.** Clinical and Pathological Features of an Infection Caused by a New Pathogen of the Genus *Listerella*. *American Journal of Pathology* 1936;12:341-348.
14. **Campos, G, Espinoza, L,** Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes* en Leches Crudas y Leches Pasteurizadas en Santa Fe de Bogotá, in *Microbiología*. 1996, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C. p. 74.
15. **Cárdenas-Suárez, KT, Garzón-Puertas, S,** Evaluación de resistencia frente a cuatro desinfectantes de cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas de alimentos in Departamento de Microbiología. 2008, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C., Colombia. p. 62p.

16. **Carrascal, AK, Correa, C, Fonseca, J.** Detección de *Listeria monocytogenes* en expendios de pollo procesados en la zona suroccidental de Bogotá, D.C. *Laboratorio Actual* 2007;(40):29-32.
17. **Cataldo, G, Conte, MP, Chiarini, F, Seganti, L, Ammendolia, MG, Superti, F et al.** Acid adaptation and survival of *Listeria monocytogenes* in Italian-style soft cheeses. *Journal of Applied Microbiology* 2007;103:185-193.
18. **Copello, GJ, Teves, S, Degrossi, J, D'Aquino, M, Desimone, MF, Díaz, LE.** Proving the antimicrobial spectrum of an amphoteric surfactant-sol-gel coating: a food-borne pathogen study. *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology* 2008;35:1041-1046.
19. **Correa, C, Fonseca, J,** Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en Expendios de Pollo Procesado en la Zona Suroccidental de Bogotá, D.C., in Departamento de Microbiología. 2004, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C., Colombia. p. 126p.
20. **Crespo, MP, Vélez, JD, Castañeda, C, Hoyos, F, López, ML, Salazar, JC.** Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un Hospital de Tercer Nivel. *Colombia Médica* 1999;30(2):89-98.
21. **Cruz, S, Ju Kim, H,** Incidencia de *Listeria monocytogenes* en Aguas de Riego para Hortalizas (lechugas y repollos) en el Municipio de Mosquera, in Microbiología. 1999, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá. D.C. p. 72.
22. **Cummings, AJ, Fielding, AK, McLaughlin, J.** *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. *Journal of Infection* 1994;28:89-91.
23. **Charpentier, E, Courvalin, P.** Antibiotic Resistance in *Listeria* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999;43:2103-2108.
24. **Díaz, G, Muñoz, AI.** Incidencia de *Listeria monocytogenes* en Leches Crudas y Pasteurizadas en el Antiplano Cundiboyacense. *Biomédica* 1994;14(1):58.
25. **Elischerova, K, Cupkova, E, Urgeova, E, Lysy, J, Sesevickova, A.** Isolation of *Listeria ivanovii* in Slovakia. *Ceskoslovenska Epidemiologie, Mikrobiologie, Inmunologie* 1990;39(4):228-236.
26. **Escobar, E, Jaime, T.** Limpieza y desinfección en la industria de alimentos. 2000: Acribia, S.A.
27. **Estrella, C, Estrella, CRA, Barbin, EL, Spano, JCE, Marchesan, MA, Pécora, JD.** Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian Dent Journal* 2002;13(2):113-117.
28. **FAO,** Informe Del Taller Sistemas De Control De Alimentos: Aproximaciones En La Región Andina. 2004, Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación (FAO) Organización Panamericana De La Salud (OPS/OMS) International Life Sciences Institute (ILSI): Quito, Ecuador. p. 18p.
29. **Farber, JM.** Present situation in Canadá Regarding *Listeria monocytogenes* and Ready-to-eat Seafood Products. *International Journal of Food Microbiology* 2000;62:247-251.
30. **Farber, JM, Peterkin, PY.** *Listeria monocytogenes*, a Foodborne Pathogen. *Microbiological Reviews* 1991;55(3):476-511.
31. **Foong, SCC, Dickson, JS.** Attachment of *Listeria monocytogenes* on Ready-to-Eat Meats. *Journal of Food Protection* 2004;67(3):456-462.
32. **Franciosa, G, Maugliani, A, Floridi, F, Aureli, P.** Molecular and Experimental Virulence of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Cases with Invasive Listeriosis and Febrile Gastroenteritis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2005;43:431-439.
33. **Fthenakis, GC, Saratsis, P, Tzora, A, Linde, K.** Naturally Occurring Subclinical Ovine Mastitis Associated with *Listeria monocytogenes*. *Small Ruminant Research* 1998;31:23-27.

34. **Gahan, C, Hill, C.** Gastrointestinal Phase of *Listeria monocytogenes* Infection Journal of Applied Microbiology 2005;98:1345-1353.
35. **Gallegos, JM, Arrieta, G, Máttar, S, Poutou, RA, Trespalacios, AA, Carrascal, AK.** Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos tipo costeño. Revista MVZ-Córdoba 2007;12(2):996-1012.
36. **Gallegos, JM, Vanegas, MC, Albarracín, Y, Máttar, S, Poutou, RA, Carrascal, AK.** Frequency of isolation of *Listeria* spp., in different retail foods in Colombia. Animal Production Research Advances 2008;4(1):9-18.
37. **Garvey, P, McKeown, P,** Human listeriosis in Ireland, report.NDSC., E-DIS, Editor. 2004, Ireland. p. 1-4.
38. **Gellin, BG, Broome, CV.** Listeriolysine O from *Listeria monocytogenes* Infection and Immunity 1989;55:1641-1646.
39. **Gellin, BG, Broome, CV.** Listeriosis. The Journal of the American Medical Association 1989;261:1313-1320.
40. **Guerra, MM, McLauchlin, J, Bernardo, FA.** *Listeria* in Ready-to-eat and Unprocessed Foods Produced in Portugal. Food Microbiology 2001;18:423-429.
41. **Herrera, MT.** El papel del biofilm en el proceso infeccioso y la resistencia. NOVA 2004;2(2):71-80.
42. **Jones, D, Seeliger, HPR.** International Committee on Systematic Bacteriology. Subcommittee the Taxonomy of *Listeria*. International Journal Systematic Bacteriology 1986;36:117-118.
43. **Kampelmacher, EH, Van Noorle Jansen, L.** Listeriosis in Humans and Animals in the Netherlands (1958-1977). Zentbl Baktenol Hyg I Abt Orig A 1980;246:211-227.
44. **Kastbjerg, VG, Gram, L.** Model systems allowing quantification of sensitivity to disinfectants and comparison of disinfectant susceptibility of persistent and presumed nonpersistent *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Microbiology 2009;106:1667-1681.
45. **Kiss, R, Tirczka, T, Szita, GD, Gyorgy, SB.** *Listeria monocytogenes* food monitoring data and incidence of human listeriosis in Hungary. International Journal of Food Microbiology 2006;112:71-74.
46. **Laciar, AL, Hasuoka, RP, Correa, SM, Miranda, AM, Centorbi, ONP.** Symptomatic Hydrocephalus in a Newborn Infected with *Listeria monocytogenes*. Brazilian Journal of Microbiology 2000;31:9-11.
47. **Lake, R, Hudson, A, Cressey, P, Gilbert, S,** Risk profile. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat salads. 2005, Institute of Environmental Science & Research Limited, Christchurch Science Centre: Christchurch, New Zealand. p. 75p.
48. **Leriche, V, Carpentier, B.** Viable but non culturable *Salmonella typhimurium* in single- and binary-species biofilms in response to chlorine treatment. Journal Food Protection 1995;58:1186-1191.
49. **Linnan, MJ, Mascola, L, Lou, XD, Goulet, V, May, S, Salminen, RN et al.** Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-style Cheese. The New England Journal of Medicine 1988;319:823-828.
50. **López, L, Gaztelurrutia, L, Martínez, I, Aguirrebengoa, K, Valls, A, Hernández, JL et al.** Listeriosis. Estudio de 16 años en un hospital terciario en España. Revista Panamericana de Infectología 2007;9(2):30-37.
51. **Lundén, J, Tolvanen, R, Korkeala, H.** Human Listeriosis Outbreaks Linked to Dairy Products in Europe. Journal of Dairy Science 2004;87:6-11.

52. **Lundén, JM, Autio, TJ, Markkula, A, Hellstrom, S, Korkeala, HJ.** Adaptive and Cross-adaptive Responses of Persistent and Non-persistent *Listeria monocytogenes* Strains to Disinfectants. *International Journal of Food Microbiology* 2003;82:265-272.
53. **Makino, SI, Kawamoto, K, Takeshi, K, Okada, Y, Yamasaki, M, Yamamoto, S et al.** An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *International Journal of Food Microbiology* 2005;104:189-196.
54. **Manfreda, G, De Cesarea, A, Stellab, S, Cozzib, M, Cantonib, C.** Occurrence and Ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheeses. *International Journal of Food Microbiology* 2005;102:287-293.
55. **Manzano, M, Cocolin, L, Ferroni, P, Cantoni, C, Comi, G.** A Simple and Fast PCR Protocol to Detect *Listeria monocytogenes* from Meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1997;74:25-30.
56. **Meza, RA, Monroy, AF, Mercado, M, Poutou, RA, Rodríguez, P, Pedroza, AM.** Study of the Stability in Real Time of Cryopreserved Strain Banks. *Universitas Scientiarum* 2004;9(2):35-42.
57. **Millet, L, Saubusse, M, Didienne, R, Tessier, L, Montel, MC.** Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology* 2006;108:105-114.
58. **Moreno, C.** Brote de ETA en el Centro de Educación Distrital (CED) Santa Rita Sur Oriental. *Boletín Informativo. Dirección de Salud Pública* 2003;5(20):25-27.
59. **Muñoz, D, Pérez, M,** Incidencia de *Listeria monocytogenes* en Quesos Frescos en Santa Fe de Bogotá, in Departamento de Microbiología. 1998, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C., Colombia. p. 79.
60. **Murray, EGD, Webb, RA, Swann, MBR.** A Disease of Rabbits Characterised by a Large Mononuclear Leucocytosis, Caused by a Hitherto Undescribed Bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.s.p.). *Journal of Pathology and Bacteriology* 1926;29:407-439.
61. **Neu, TR, Verkerke, GJ, Herrmann, IF, Schutte, HK, Van der Mei, HC, Busscher, HJ et al.** Microflora on explanted silicone rubber voice prostheses: taxonomy, hydrophobicity and electrophoretic mobility. *Journal Applied Bacteriology* 1994;76:521-528.
62. **Nightingale, KK, Winmdham, K, Wiedmann, M.** Evolution and Molecular Phylogeny of *Listeria monocytogenes* Isolated from Human and Animal Listeriosis Cases and Foods. *Journal of Bacteriology* 2005;187(16):5537-5551.
63. **Norwood, DE, Gilmour, A.** Adherence of *Listeria monocytogenes* Strains to Stainless Steel Coupons. *European Journal Clinical Microbiollogy* 1990;9(3):210-213.
64. **Nyfeldt, A.** Etiologie de la Mononucléose Infectieuse. *C.R. Soc. Biol* 1929;101:590-591.
65. **Park, JH.** Specific Binding of Recombinant *Listeria monocytogenes* p60 Protein to Caco-2 Cells. *FEMS Microbiology Letter* 2000;186:35-40.
66. **Perdomo, A,** Estimación de la Incidencia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS) en Colombia en el Período 1992-2003, in *Microbiología*. 2004, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá. p. 142.
67. **Perrin, M, Bemer, M, Delamare, C.** Fatal Case of *Listeria innocua* Bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;41(11):5308-5309.
68. **Pinner, RW, Schuchat, A, Swaminathan, B, Hayes, P, Deaver, K, Weaver, R et al.** Role of Foods in Sporadic Listeriosis II. Microbiologic and Epidemiologic Investigation. *Journal of the American Medical Association*. 1992;267:2046-2050.
69. **Pirie, JHH.** *Listeria*: Change of Name for a Genus of Bacteria. *Nature* 1940;145:264.

70. **Poutou, RA, Amador, E, Candelario, M.** Banco de células primario (BCP): Caracterización y papel en la producción de proteínas recombinantes. *Biotecnología Aplicada* 1994;11(1):55-59.
71. **Ramage, CP, Low, JC, McLauchlin, J, Donachie, W.** Characterisation of *Listeria ivanovii* Isolates from the UK Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *FEMS Microbiology Letter* 1999;15:349-353.
72. **Rocourt, J, BenEmbarek, P, Toyofuku, H, Schlundt, J.** Quantitative Risk Assessment of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-eat Foods: the FAO/WHO Approach. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003;35:263-267.
73. **Rojas, C,** Evaluación de cuatro desinfectantes sobre *Listeria monocytogenes* aislada de productos cárnicos crudos de una planta de procesados de Bogotá, in Departamento de Microbiología. 2007, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C., Colombia. p. 104.
74. **Rojas, J, Suarez, M, Torres, F, Carrascal, A, SanPedro, F, Martínez, A,** Valoración microbiológica del riesgo de *Listeria monocytogenes* en jamón de cerdo cocido tajado, procesados, DPa, Editor. 2008. p. 1-84.
75. **Romanova, NA, Gawande, PV, Brovko, LY, Griffiths, MW.** Rapid methods to assess sanitizing efficacy of benzalkonium chloride to *Listeria monocytogenes* biofilms. *Journal of Microbiological Methods* 2007;doi:10.1016/j.mimet.2007.09.002.
76. **Ruiz-Bolivar, Z, Poutou-Piñales, RA, Carrascal-Camacho, AK.** Resistencia antimicrobiana y a desinfectantes de *Listeria* spp. *NOVA* 2008;6(10):201-218.
77. **Rutherford, TJ, Marshall, DL, Andrews, LS, Coggins, PC, Schilling, MW, Gerard, P.** Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. *Food Microbiology* 2007;24:703-710.
78. **Salamano, R, Braselli, A, Hoppe, A, Monteghirfo, R, Silva, T.** Neurolisteriosis en adultos. A propósito de seis casos clínicos. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63(4):1063-1069.
79. **Salazar, CC, Cunha, JSL, Schlatter, D.** Abortamento de Repetiçao. *Femina* 2001;29:667-672.
80. **Sanaa, M, Coroller, L, Cerf, O.** Risk Assessment of Listeriosis Linked to the Consumption of Two Soft Cheeses Made from Raw Milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux. *Risk Analysis* 2004;24(2):389-399.
81. **Sánchez-Saldaña, L, Sáenz-Anduaga, E.** Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana* 2005;15(2):82-103.
82. **Sánchez, J, García, S.** Peritonitis focal como forma de presentación clínica de una listeriosis. *Anales de Medicina Interna* 2005;22(7):335-338.
83. **Santos, I, Vergel, CB,** Determinación de los Mecanismos Genéticos de Resistencia a Desinfectantes en *Listeria monocytogenes*, in Microbiología. 2002, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C. p. 81.
84. **Schuchat, A, Deaver, K, Hayer, PS, Graves, L, Mascola, L, Wenger, JD.** Gastrointestinal Carriage of *Listeria monocytogenes* in Household Contacts of Patients with Listeriosis. *Journal of Infection Disease* 1993;167:1261-1263.
85. **Schuchat, A, Lizano, C, Broome, CV, Swaminathan, B, Changmin, K, Winn, K.** Outbreak of Neonatal Listeriosis Associated with Mineral Oil. *Pediatric Infection Disease Journal* 1991;10:183-189.
86. **Schuchat, A, Swaminathan, B, Broome, CV.** Epidemiology of Human Listeriosis. *Clinical Microbiology Review* 1991;4:169-183.

87. **Seeliger, HPR, Jones, D.** Genus *Listeria* Pirie., in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Sneath, PHA, Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., Editor. 1986, Williams and Wilkins: Baltimore. p. 1235-1245.
88. **Seok, M, Schraft, H.** Comparative Evaluation of Adhesion and Biofilm Formation of Different *Listeria monocytogenes* Strains. *International Journal of Food Microbiology* 2000;62:103-111.
89. **Seok, M, Schraft, H.** Cell Viability of *Listeria monocytogenes* Biofilms. *Food Microbiology* 2001;18:103-112.
90. **Shen, Y, Liu, Y, Zhang, Y, Cripe, J, Conway, W, Meng, J et al.** Isolation and Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates from Ready-To-Eat Foods in Florida†. *Applied and Environmental Microbiology* 2006;72(7):5073-5076.
91. **Smith, GA, Marquis, H, Jones, S, Johnston, NC, Portnoy, DA, Goldfine, H.** The Two Distinct Phospholipases C of *Listeria monocytogenes* Have Overlapping Roles in Escape from a Vacuole and Cell-to-Cell Spread. *Infection and Immunity* 1995;63:4231-4237.
92. **Snajir, YM, Vaisbein, E, Nassar, F.** Low Virulence but Potentially Fatal Outcome *Listeria ivanovii*. *European Journal of Internal Medicine* 2006;17:286-287.
93. **Soto, Y,** Importancia de la Listeriosis en Salud Pública, in Carrera de Medicina Veterinaria. 2003, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A: Bogotá.
94. **Taormina, PJ, Beuchat, LR.** Survival and Heat Resistance of *Listeria monocytogenes* After Exposure to Alkali and Chlorine. *Applied and Environmental Microbiology* 2001;67(6):2555 - 2563.
95. **Torres, KJ, Sierra, SC, Poutou, RA, Carrascal, AK, Mercado, M.** Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, Microorganismo Zoonótico Emergente. *Revista MVZ-Córdoba* 2005;10(1):511-543.
96. **Torres, KJ, Sierra, SC, Poutou, RA, Vera, H, Carrascal, AK, Mercado, M.** Incidencia y Diagnóstico De *Listeria monocytogenes*; Microorganismo Zoonótico Emergente En La Industria De Alimentos. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 2004;7(1):25-57.
97. **Uribe, M, Gómez, B, Ardila, M, Pachón, JE.** Meningitis por *Listeria monocytogenes*: un Caso en el Servicio de Pediatría del Hospital de San José, Bogotá D.C. *Acta Neurológica Colombiana* 2005;21:170-173.
98. **Vanegas, MC, Vergara, JP, Rojas, IJ,** Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en Quesos Distribuidos en Bogotá D.C., in Memorias 1er Congreso Colombiano de Microbiología de Alimentos. 2003, Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias: Bogotá, D.C. p. 104-105.
99. **Vergara, L, Sarquis, M,** Identificación de *Listeria monocytogenes* en Hortalizas Crudas y Procesadas (Lechugas y Repollos), in Microbiología. 1997, Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá, D.C. p. 59.
100. **Wagner, M, Aurer, B, Trittremmel, C, Hein, I, Schoder, D.** Survey on the *Listeria* contamination of ready-to-eat food products and household environments in Vienna, Austria. *Zoonoses and Public Health* 2007;54:16-22.
101. **Whisstock, JC, Lesk, AM.** SH3 Domains in Prokaryotes. *Trends in Biochemistry Science* 1999;24:132-133.

ANEXO 2
Ficha técnica del Tego 51

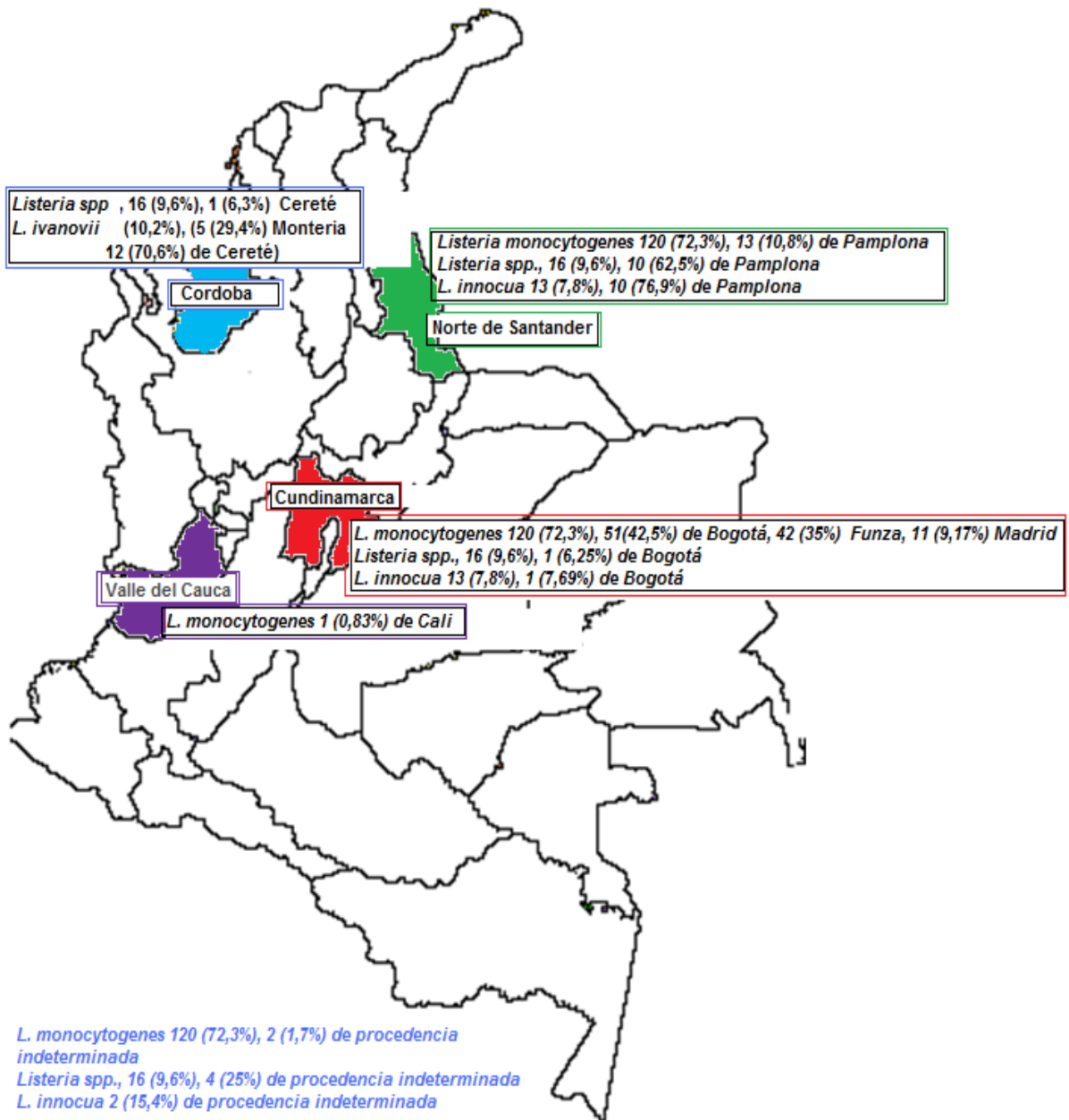
NOMBRE	TEGO 51
ACTIVIDAD	Bacilos Gram positivos y Gram negativos; (Incluyendo Salmonella, Campylobacter y listeria especies) y levaduras.
COMPOSICIÓN	Dodecil dietilen diaminoglicina Dodecilano propilglicina
PRESENTACIÓN	Garrafa de 5 Kg y 50 Kg
MECANISMO DE ACCIÓN	Reduce la tensión superficial de la membrana afectando la permeabilidad y el intercambio de sustancias y nutrientes.
PROPIEDADES	Líquido amarillo pálido, con suave olor característico.
DENSIDAD	1.000 +/- 0.0005 g/cm ³ a 20°C.
VISCOSIDAD	7.5 +/- 5.0 mPa.s a 20°C
INDÍCE DE pH	Sin diluir 8.2 +/- 0.3 Solución acuosa al 1% 8.3 +/- 0.5
TESOACTIVIDAD	Solución acuosa al 1% 27.8 +/- 0.5 mN/m a 20°C
CONDUCTIVIDAD	Solución acuosa al 1% 640 +/- 100 µS/cm a 20°C
SOLUBILIDAD	Miscible con agua en cualquier proporción
TOXICIDAD	Las soluciones con TEGO 51 son virtualmente no tóxicas y no irritan.
COMPATIBILIDAD	TEGO 51 conserva un alto grado de actividad en presencia de proteínas, jabón y otros restos suciedad.
BIODEGRADABILIDAD	La degradación de la sustancia activa ha sido verificada mediante los métodos de test más actuales.
ESTABILIDAD DE ALMACENAMIENTO	3 años como mínimo hasta 100°C.

ANEXO 3

Ficha técnica del Hipoclorito de Sodio

NOMBRE	Hipoclorito de Sodio
OLOR	Clorado (Irritante)
COLOR	Amarillo Verdoso
ESTADO FÍSICO	Líquido
PROPIEDADES	Líquido amarillo verdoso, con irritante olor característico clorado.
DENSIDAD	1.180 – 1.235 g/cm ³ a 20°C.
INDÍCE DE pH	Mayor a 12 a 20° C
SOLUBILIDAD	Éter 20° C insoluble Acetona 20° C insoluble Agua 20° C completamente soluble
ESTABILIDAD	Depende de concentración de hipoclorito, concentración de catalizadores, pH de la solución, temperatura, exposición a la luz.
PRODUCTOS GENERADOS POR DESCOMPOSICIÓN	PRELIGROSOS POR Cloro Ácido hipocoroso Cloratos sódicos

ANEXO 3



Distribución de los aislamientos por especies y región