



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Facultad de Ciencias
Programa de Maestría en Microbiología

**Revisión sistemática de los métodos de diagnóstico de
Listeria monocytogenes en productos cárnicos en canal
procesados en plantas de beneficio en Colombia**

Daniela Yohanna Espinosa Mesa

Bogotá D.C., Colombia
Julio de 2022

Revisión sistemática de los métodos de diagnóstico de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos en canal procesados en plantas de beneficio en Colombia

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de

Magíster en Microbiología
(Modalidad de Profundización)

Daniela Yohanna Espinosa Mesa
Médico Veterinario
Esp., Laboratorio Clínico Veterinario

Directora
Ligia Consuelo Sánchez Leal
Magister en Biología Aplicada
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Línea de Investigación:
Salud y Desarrollo Humano
Grupo de Investigación CEPARIUM

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias
Programa de Maestría en Microbiología
Bogotá D.C., Colombia
Julio de 2022

Dedicatoria

A Dios por el amor que me obsequia en cada uno de los pasos que he dado en la vida, iluminando mi camino con mis papás, mi familia y personas maravillosas que me permitió conocer para lograr cada uno de mis propósitos.

Agradecimientos

A Dios agradezco porque en el tiempo de Él, me permitió afianzar nuevos conocimientos y bases para alcanzar mis metas, una experiencia extraordinaria de aprendizaje, esfuerzo y compromiso, con el soporte incondicional de mis padres, mi familia y amigos del alma que hoy ya no están en este plano.

Agradezco a las profesoras Ligia Consuelo Sánchez y Paola Santos por su asesoría, acompañamiento y apoyo para lograr el desarrollo de este trabajo. A los docentes que compartieron con dedicación y paciencia sus conocimientos, logrando fortalecer la interdisciplinariedad en la salud pública, a la profesora Carolina Guzmán, gracias por ser docente y ampliar mis conocimientos de manera tan generosa y especial. Por último, a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por brindar este espacio de educación y formación.

Resumen

La Listeriosis comprende una de las problemáticas incluidas en los controles de salud pública en todos los continentes, y, el agente etiológico es *Listeria monocytogenes*, una bacteria patógena transmitida por alimentos, la cual afecta a personas inmunosuprimidas y a mujeres embarazadas. Este microorganismo se puede encontrar en productos cárnicos y pescado, productos lácteos, alimentos procesados, huevos, frutas y verduras. Las investigaciones asociadas al diagnóstico de *L. monocytogenes* en derivados cárnicos son amplias, sin embargo, estas no son representativas en plantas de beneficio animal, por consiguiente, se indagó si existen publicaciones relacionadas estableciendo una estrategia de búsqueda de literatura científica en las principales bases de datos y en repositorios de universidades, a partir de textos publicados en dos intervalos de tiempo, el primero entre 1991 y 2001, y el segundo entre 2002 y 2021, con la finalidad de encontrar los artículos más relevantes y determinar la evolución que han presentado las técnicas de diagnóstico de *L. monocytogenes* en Colombia.

Las evidencias demuestran que las deficiencias en diferentes etapas del proceso en plantas de beneficio animal son asociadas a la contaminación de canales por heces, durante las etapas de lavado de los animales antes de su ingreso al proceso, la etapa de desollado y las etapas posteriores de manipulación por los operarios y desinfección insuficiente de la canal. Adicionalmente, se reportó la presencia de *L. monocytogenes* en la tonsila y lengua del cerdo durante el sacrificio. Lo anterior, explica una prevalencia significativa debido a que en algunos países la canal se comercializa con cabeza, favoreciendo la contaminación cruzada desde estos órganos hacia la canal durante las etapas de procesamiento primario en la planta de beneficio animal.

Los estudios destacaron la importancia de hallazgos relacionados a la identificación de cepas persistentes de *L. monocytogenes* asociadas a la contaminación ambiental y de superficies en las plantas de beneficio animal, lo que puede conducir a una contaminación repetida de los productos cárnicos. Por otra parte, se evidencia

que la presencia de genes de resistencia a los desinfectantes es un factor para la contaminación de productos cárnicos durante el proceso. De manera concluyente, las investigaciones dilucidan el análisis del uso de métodos diagnósticos como la PCR para el monitoreo de patógenos transmitidos por alimentos, debido a que los métodos microbiológicos convencionales de identificación requieren disponer de mucho tiempo en comparación con el análisis molecular, además, la aplicación de este tipo de técnicas ayudará a identificar a *L. monocytogenes* transmitida por los alimentos con mayor precisión. Así que, esta revisión recopila las evidencias más relevantes de los estudios realizados con importancia epidemiológica, su incidencia, las rutas de contaminación y diagnóstico de *L. monocytogenes* en diferentes productos cárnicos, y actualizando lo investigado sobre los efectos de la listeriosis en la salud pública. Se evidencia que el aislamiento microbiológico y la PCR son los métodos diagnósticos más utilizados en productos cárnicos para la detección de este microorganismo, seguido de técnicas como PFGE y la Hibridación de ADN, aunque en menor proporción. En Colombia *L. monocytogenes* no es de notificación obligatoria, el Instituto Nacional de Salud (INS) menciona que es posible que exista un subregistro de la información y confirmación del patógeno que ha originado diversos reportes de enfermedades transmitidas por alimentos, contrario a lo que sucede en la Unión Europea, Estados Unidos y sus países afiliados, en donde establecen que la detección de *L. monocytogenes* en productos cárnicos es de control oficial, debido a que se asocia a Listeriosis en humanos transmitida por alimentos.

Palabras clave: “*Listeria monocytogenes*”, “planta de beneficio”, “cárnicos”, “diagnóstico”, “planta de proceso”, “enfermedades transmitidas por alimentos”.

Abstract

Listeriosis is one of the problems included in public health controls in all continents, and the etiological agent is *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogenic bacterium, which affects immunosuppressed people and pregnant women. This microorganism can be found in meat and fish products, dairy products, processed foods, eggs, fruits and vegetables. Research associated with the diagnosis of *L. monocytogenes* in meat derivatives are extensive, however, these are not representative in animal processing plants, therefore, it was investigated whether there are related publications by establishing a search strategy for scientific literature in the main databases and in university repositories, based on texts published in two time intervals, the first between 1991 and 2001, and the second between 2002 and 2021, with the purpose of finding the most relevant articles and determining the evolution of diagnostic techniques for *L. monocytogenes* in Colombia.

The evidence shows that deficiencies in different stages of the process in animal processing plants are associated with fecal contamination by carcasses, during the stages of washing animals before they enter the process, the skinning stage and the subsequent stages of handling by operators and insufficient disinfection of carcass. In addition, the presence of *L. monocytogenes* was reported in the tonsil and tongue of pigs during slaughter. This explains a significant prevalence due to the fact that in some countries the carcass is marketed with the head, favoring cross-contamination from these organs to the carcass during the primary processing stages in the animal processing plant.

The studies highlighted the importance of findings related to the identification of persistent strains of *L. monocytogenes* associated with environmental and surface contamination in animal processing plants, which can lead to repeated contamination of meat products. On the other hand, it is evident that the presence of resistance genes to disinfectants is a factor in the contamination of meat products during processing.

Conclusively, the research elucidates the analysis of the use of diagnostic methods such as PCR for monitoring foodborne pathogens, due to the fact that conventional

microbiological methods of identification are time-consuming in comparison with molecular analysis, and that the application of this type of technique will help identify foodborne *L. monocytogenes* with greater precision. Thus, this review compiles the most relevant evidence from studies carried out with epidemiological importance, its incidence, routes of contamination and diagnosis of *L. monocytogenes* in different meat products, and updating the research on the effects of listeriosis on public health. It is evident that microbiological isolation and PCR are the diagnostic methods most widely implemented in meat products for the detection of this microorganism, followed by techniques such as PFGE and DNA hybridization, although in smaller proportions. In Colombia, *L. monocytogenes* is not notifiable; the Instituto Nacional de Salud (INS) mentions that it is possible that there is an underreporting of information and confirmation of the pathogen that has originated several reports of foodborne diseases, contrary to what happens in the European Union, the United States and its affiliated countries, where they establish that the detection of *L. monocytogenes* in meat products is of official control, because it is associated with foodborne Listeriosis in humans.

Key words: "Listeria monocytogenes", "processing plant", "meat", "diagnosis", "processing plant", "foodborne diseases".

Contenido

Resumen	V
Abstract	VII
Lista de Figuras	X
Lista de Tablas	XI
Lista de abreviaturas	XII
1. Introducción	14
2. Marco de referencia	19
3. Objetivos	32
3.1 Objetivo General	32
3.2 Objetivos Específicos	32
4. Diseño metodológico	33
Criterios de exclusión	33
Criterios de inclusión	34
5. Resultados y Discusión	35
Métodos diagnósticos	51
Método de aislamiento microbiológico	51
Método diagnóstico con Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	52
Método de Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE)	54
Método de diagnóstico utilizando hibridación de ADN	55
Métodos diagnósticos que han sido utilizados en plantas de beneficio animal ..	55
6. Conclusiones	64
7. Recomendaciones	66
8. Referencias	67

Lista de Figuras

Figura 1. <i>Listeria monocytogenes</i> de saprófito a patógeno intracelular, mediante la expresión génica del activador transcripcional PrfA.	22
Figura 2. Proporción de pulsotipos persistentes de <i>Listeria monocytogenes</i>	27
Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de identificación y selección de textos incluidos en la revisión sistémica periodo entre 1991 y 2001.....	35
Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de identificación y selección de textos incluidos en la revisión sistémica periodo entre 2002 y 2021.....	36
Figura 5. Distribución mundial de publicaciones periodo 1991 – 2001.....	45
Figura 6. Distribución mundial de publicaciones periodo 2002 – 2021.....	46
Figura 7. Frecuencia métodos diagnósticos periodo 1991 - 2001.....	56
Figura 8. Frecuencia métodos diagnósticos periodo 2002 – 2021.	57

Lista de Tablas

Tabla 1. Serotipos de las especies de Listeria	20
Tabla 2. Búsqueda por correlación preliminar entre palabras clave y periodo de publicación 1991 – 2001.	37
Tabla 3. Búsqueda por correlación preliminar entre palabras clave y periodo de publicación 2002 – 2021.	38
Tabla 4. Búsqueda preliminar mediante la revisión de títulos y resúmenes durante el periodo 1991 – 2001.....	39
Tabla 5. Búsqueda preliminar mediante la revisión de títulos y resúmenes durante el periodo 2002 – 2021.....	39
Tabla 6. Estrategia de búsqueda avanzada empleando similitud de términos a partir de las palabras clave.....	41
Tabla 7. Búsqueda mediante estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 1991 – 2001.	42
Tabla 8. Búsqueda mediante estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 2002 – 2021.	43
Tabla 9. Artículos seleccionados mediante la estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 1991 – 2001.....	44
Tabla 10. Artículos seleccionados mediante la estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 2002 – 2021.....	44
Tabla 11. Métodos diagnósticos empleados en plantas de beneficio animal, a partir del muestreo de la superficie de la canal in situ.	59

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
ETA	Enfermedades Transmitidas por Alimentos
SIVIGILA	Sistema de Vigilancia de Salud Pública
INS	Instituto Nacional de Salud
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
POES	Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento
PCR*	Reacción en Cadena de la Polimerasa
NADC*	Centro Nacional de Enfermedades Animales
USDA*	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
ISO*	Organización Internacional de Estandarización
bsh*	Enzima Hidrolasa en Sales Biliares
QAC*	Compuestos de Amonio Cuaternario
BAC*	Cloruro de benzalconio
PFGE*	Electroforesis en gel de campo pulsado
RAPD-PCR*	Amplificación aleatoria de la reacción en cadena de la polimerasa de ADN polimórfica
REP-PCR*	PCR repetitiva de palíndromos extragénicos
ERIC-PCR*	PCR consensuada intergénica repetitiva de enterobacterias
AFLP*	Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados
ABIEC**	Asociación Brasileira de exportadores de Carnes
FAO*	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
DNP	Departamento Nacional de Planeación
INVIMA	Instituto nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos
PAS	Plan de Admisibilidad Sanitaria
EFSA*	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
ECDC*	Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades
APPCC	Análisis de peligros y puntos críticos de control
BAM*	Manual Analítico Bacteriológico
CDC*	Centros de Control y Prevención de Enfermedades

* *Abreviatura original del inglés*

** *Abreviatura original del portugués*

1. Introducción

La Unión Europea considera a *Listeria monocytogenes* como agente etiológico de alto riesgo en la presentación de casos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), sustentando la incidencia de 2 a 10 por millón de personas infectados con Listeria (1). Por otra parte, la regulación sanitaria oficial en Estados Unidos estableció a partir de 2001 las herramientas y programas para el control oficial de *L. monocytogenes* como FoodNet, y en consecuencia se redujo considerablemente el número de casos reportados por Listeriosis en humanos entre el año 1996 y 2001 de 0,5 a 0,3 por 100.000 personas por año (2). Por otro lado, en Estados Unidos se reportaron 2500 casos relacionados a ETA originados por *L. monocytogenes* de un total de 76 millones calculados en un año, por lo cual, este patógeno es considerado en Estados Unidos como un agente de riesgo para la salud pública, representando la cuarta parte de las muertes originadas por la contaminación de alimentos (3,4).

Investigaciones en Canadá (5) asocian a otro patógeno como *Clostridium difficile*, considerado como un contaminante potencial de productos cárnicos por materia fecal bovina, en diferentes etapas de procesamiento en plantas de beneficio animal con condiciones operativas y sanitarias deficientes. Adicionalmente, se evidencian hallazgos relacionando a *Listeria monocytogenes* con la capacidad de adherirse a diversas superficies formando biopelículas (6,7), favoreciendo la contaminación de instalaciones, superficies y en cada una de las etapas de proceso de las plantas de producción y transformación de cárnicos.

En Colombia el Sistema de Vigilancia de Salud Pública (SIVIGILA) del (INS), en el Boletín Epidemiológico del año 2018, menciona que a partir del año 2016, superan su histórico con un incremento considerable de brotes asociados a ETA (8), reflejando la importancia de fortalecer los seguimientos oficiales y los estudios de investigación como mecanismos de control y vigilancia de la salud pública.

La capacidad instalada en una planta de beneficio animal o número de animales autorizados para sacrificar de acuerdo al tamaño de la infraestructura construida, se establece con el fin de garantizar la inocuidad del producto final durante cada etapa

del proceso, así como también, al resultado del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y ejecución de Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) -pre operativos y durante la transformación de la materia prima hasta el producto final, considerados como la base y los criterios de capacitación del personal manipulador directo del producto durante el proceso.

Los productos obtenidos en una planta de beneficio son: la canal “cuerpo de un animal después de sacrificado, degollado, deshuellado, eviscerado quedando sólo la estructura ósea y la carne adherida a la misma sin extremidades” (9); y productos cárnicos comestibles, considerados como “cualquier parte del animal diferente de la carne o porciones musculares y dictaminada como inocua y apta para el consumo humano”(9).

Los requerimientos normativos establecen que la planta de beneficio animal debe garantizar la inocuidad de los productos, por lo tanto se procede a la desinfección de la canal en la última etapa de proceso “ acondicionamiento de la canal” o establecer los POES respectivos (9–12), los cuales son determinados con base en el Control de Patógenos y Riesgos microbiológicos para la salud pública (9,13). Dicho procedimiento es realizado con el producto desinfectante que defina la planta de beneficio y sustentado por un plan de muestreo de microorganismos. Posteriormente, las canales son trasladadas a un área de almacenamiento y reposo, antes de su cargue a los vehículos transportadores, para su distribución a los expendios de carne.

Considerando a la canal como la materia prima de productos derivados cárnicos procesados y transformados en plantas de post-proceso, y las evidencias sustentan que existe alto riesgo de contaminación, es importante identificar las condiciones actuales que garanticen el diagnóstico de *Listeria monocytogenes* en la canal en las plantas de beneficio.

Por lo anterior, se propone como pregunta orientadora para desarrollar este estudio ¿Cuáles han sido los métodos de diagnóstico utilizados en Colombia para evaluar la presencia de *Listeria monocytogenes* en las plantas de beneficio animal hasta el acondicionamiento de la canal?

En cuanto a las técnicas de diagnóstico en plantas de beneficio animal, Rivera *et al.* (2006), plantean en su estudio un acercamiento comparativo entre el análisis microbiológico y el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, de acuerdo a sus siglas en inglés) múltiple para la evaluar la presencia de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* en productos cárnicos de cerdo. Los investigadores emplearon el análisis microbiológico para determinar la presencia de *Listeria* técnica utilizada por el Centro Nacional de Enfermedades Animales en Estados Unidos (NADC, de acuerdo a sus siglas en inglés) entidad integrada al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, de acuerdo a sus siglas en inglés) para el procesamiento de productos cárnicos (2,14,15). Las muestras fueron tomadas mediante hisopados de esponja (Nasco, Whirl-Pak, Speci-Sponge, B01324WA) en ambientes (superficies) y canales de las cerdas, en donde la confirmación de género y especie fue diferenciada por medio de la técnica PCR múltiple (16).

Por otra parte, Hellström *et al.* (2010) se basaron en el método establecido en las directrices de la Organización Internacional de Estandarización (ISO, de acuerdo a sus siglas en inglés) ISO 11290-1:1996 (17), empleando algunas modificaciones para su estudio en particular a partir de muestras de superficies de canales de porcinos. Luego de los enriquecimientos primarios y secundarios en medio Fraser, cada muestra se inoculó en *L. monocytogenes* en el medio selectivo PALCAM. El componente molecular del análisis se basó en la aplicación de la técnica de PCR múltiple, con el fin de determinar y diferenciar a *Listeria* spp. y *L. monocytogenes*. Se emplearon dos grupos de iniciadores o *primers*, el primer grupo de *primers* fue Lis-1 (59-GCA-TCT-GCA-TTC-AAT-AAA-GA-39) y Lis-2 (59-TGT-CAC-TGC-ATC-TCC-GTG-GT-39), amplificando el gen *hlyA* delimitado por una región de 174 pb, y un segundo grupo de *primers* U1 (59- CAG-CMG-CCG-CGG-TAA-TWC-39, en donde M corresponde a A o C, y W referencia - A o T) y LI1 (59-CTC-CAT-AAA-GGT-GAC- CCT-39), dirigidos a una secuencia de ARNr 16S conformada por 938 pb (14,18,19). Estos *primers* se caracterizan por amplificar específicamente la región del gen que codifica para la listeriolisina O (*hly A*), gen específico para *L. monocytogenes* (15) , así como también la región del gen 16S ARNr, la cual es altamente conservada en *Listeria* spp. (14,19,20). Los resultados del estudio

evidenciaron muestras positivas para *Listeria* spp con 19,4% y para *L. monocytogenes* con 2,5%. A partir de las muestras tomadas mediante hisopados de las canales y de ambiente (superficies), se obtuvo el aislamiento de *Listeria* spp. en 1,9% y 4,2% respectivamente. En cuanto a las muestras de porciones de carne se evidenció un 5% de resultados positivos a *L. monocytogenes*.

Meloni *et al.* (2013), lograron la detección de *L. monocytogenes* en la superficie de canales en plantas de beneficio animal, aplicando las directrices establecidas en la ISO 11290-1:1996 (17). Los resultados de la investigación, demostraron una prevalencia alta de la presencia de *L. monocytogenes* en un 33% y 7% en canales de cerdos y en contenido cecal respectivamente y observaron claras diferencias entre las plantas de beneficio animal estudiadas, afirmando que las variaciones en las prevalencias presentadas corresponde al lugar de procedencia de los animales y las distintas prácticas de higiene y manufactura por parte del personal operativo (21).

Según Oswaldi *et al.* (2021) mencionan que existen diversas investigaciones que demuestran la presencia de *L. monocytogenes* en carne de cerdo cruda (22). En el estudio emplearon las técnicas diagnósticas descritas en ISO 11290-1: 2017) (23), utilizando la PCR como técnica confirmatoria para el género *Listeria* y las posibles especies presentes, en donde los autores concluyeron que las amigdalas podrían ser un foco de crecimiento para *L. monocytogenes* evidenciando una prevalencia baja. Sin embargo, mencionaron que existe un riesgo alto para la contaminación cruzada a la canal a partir de la formación de biopelícula en las superficies de instalaciones y equipos en plantas de beneficio animal (22).

Aunque los reportes publicados por el INS mencionan una menor prevalencia de *L. monocytogenes* presente en productos cárnicos crudos y asociados a brotes de ETA en Colombia, reportes realizados por el Laboratorio de Salud Pública de Bogotá D.C. en 2002 evidenciaron la presencia de *L. monocytogenes* en carnes de res y de cerdo con una prevalencia de un 2,5% y en productos derivados cárnicos 5,08% (24–26). Así como también, el INS (2015) mencionó que debido a que la presencia de este microorganismo no es de notificación obligatoria en Colombia, se presenta

un subregistro en los seguimientos epidemiológicos de brotes por ETA asociados a *L. monocytogenes* (27).

Para el desarrollo del presente estudio, se diseñó una estrategia de búsqueda en diferentes bases de datos de literatura académica, fundamentada en una metodología mixta con un componente cualitativo durante la primera etapa de obtención de información y cuantitativo en una segunda etapa de inferencia estadística de los datos analizados. La estrategia de búsqueda planteada se delimitó con la selección de textos en un primer periodo entre el año 1991 y el año 2001, y un segundo periodo entre el año 2002 y el año 2021. Entre otros criterios de exclusión se estableció la eliminación de publicaciones repetidas y la selección preliminar de estudio. Con referencia a los criterios de inclusión, se utilizaron palabras clave asociadas al tema de estudio, la elegibilidad, tipo de literatura, idioma de los artículos y extracción de datos de interés. Por último, debido al gran número de textos encontrados durante la primera etapa, se diseñó una estrategia de búsqueda avanzada con un esquema de inclusión las palabras clave y palabras similares en cuanto a significado, empleando un procedimiento con todos los términos en su conjunto aplicado en diferentes motores de búsqueda de textos académicos.

2. Marco de referencia

La bacteria patógena *Listeria monocytogenes*, es un microorganismo muy bien adaptado a diferentes ambientes de supervivencia tanto en el suelo como a la vida en el citosol de las células eucariotas del huésped. Este saprófito es omnipresente en el medio ambiente, donde se cree que vive de material vegetal en descomposición (28).

L. monocytogenes es el agente etiológico de la Listeriosis, infección bacteriana reportada por primera vez por Nyfeldt en 1929. Posteriormente, durante la década de 1980, se incrementó el número de casos de listeriosis relacionándose en gran parte como una ETA (29,30), asociada con el consumo de carne y productos cárnicos contaminados con *L. monocytogenes*. La mayoría de los autores mencionan que el 99% de la listeriosis humana tiene un origen alimentario (31), sin embargo, en raras ocasiones *L. ivanovii* y *L. seeligeri* notificaron infecciones en humanos (32). La listeriosis causa sintomatología gastroentérica en seres humanos y mortinatos o abortos espontáneos, incluye encefalitis, septicemia y meningitis. Además, también se describen una variedad de infecciones focales (33). Por otra parte, *L. monocytogenes* es considerado un patógeno zoonótico transmitido por los alimentos generando graves implicaciones económicas y de salud pública. En animales se presenta como listeriosis clínica, la cual es caracterizada por síntomas como aborto, encefalitis y septicemia. Este patógeno zoonótico se puede diagnosticar utilizando tanto técnicas microbiológicas clásicas como métodos de base molecular (34).

L. monocytogenes es una bacteria Gram positiva en forma de bastoncillo de aproximadamente 1-2 μm de longitud (35). *Listeria* es micro-aerofílica, no formadora de esporas, catalasa positiva, anaerobio facultativo y considerado como patógeno intrínseco (36). *L. monocytogenes* es un microorganismo ubicuo en el medio ambiente (37). Además, puede adherirse a las superficies formando biopelículas, y tiene la capacidad de sobrevivir y crecer a bajas temperaturas, un amplio rango de pH, altas concentraciones de sal y baja actividad de agua (28,38). La temperatura óptima de crecimiento de *L. monocytogenes* es de 30 a 37°C, pero puede sobrevivir

entre 0 y 45°C. Así como también, este patógeno tiene la capacidad de multiplicarse a la temperatura del refrigerador.

Listeria tiene movilidad giratoria a 20–25°C debido a que se caracteriza por proyectar estructuras como los flagelos peritricos. El género *Listeria* cuenta con 17 especies, de acuerdo con los antígenos somáticos (O) y flagelares (H), se identificaron 13 serotipos en *L. monocytogenes* (Tabla 1). Adicionalmente se han referenciado especies nuevas en alimentos como en el agua y en quesos siendo *L. weihenstephanensis* y *L. fleischmannii* respectivamente, así como también el hallazgo de *L. marthii* en el suelo (25,39,40).

Tabla 1. Serotipos de las especies de *Listeria*

Especie	Serotipos
<i>L. monocytogenes</i>	1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, “7”
<i>L. ivanovii</i>	5
<i>L. innocua</i>	4ab, 6a, 6b, In ^a
<i>L. welshimeri</i>	6a, 6b
<i>L. seeligeri</i>	1/2b, 4c, 4d, 6b, In ^a

In^a, Indefinido. Tomado y modificado (41).

De acuerdo al documento de evaluación de riesgo de *L. monocytogenes* en cárnicos procesados publicado por el INS (27), es la principal especie asociada a listeriosis en humanos, si bien la literatura menciona especies como *L. ivanovii*, *L. seeligeri* y *L. innocua*, estas son especies consideradas como extrañas asociadas a infecciones en el hombre (6,32,41).

Momtaz (2013) menciona una distribución de prevalencias de este microorganismo a partir de muestreos en 5 plantas de beneficio animal en un periodo desde 2008 hasta 2011, evidenció en la totalidad de los establecimientos la presencia de *Listeria* spp. en muestras de materia fecal y superficies de canales de cerdos representadas en un 26% – 91% y 33% - 84% respectivamente. Así como también, se obtuvo un total de 170 aislamientos de *Listeria* spp. distribuidos: *L. monocytogenes* 29%, *L. ivanovii* 4%, *L. innocua* 21%, *L. seeligeri* 3% y *L. grayi* 10% (32).

Por otra parte, estudios realizados por el Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría Distrital de Salud Bogotá D.C. en muestras de carnes procesadas se obtuvo una prevalencia de *L. monocytogenes* en el año 2001 y 2002 en un 14% y 5,1% respectivamente. Posteriormente desde las actividades de vigilancia para el año 2011 a partir de 1703 muestras de derivados cárnicos en establecimientos de comercialización, se analizaron en 25 Laboratorios Departamentales de Salud Pública (LDSP) de las cuales fueron rechazadas 1,7% debido a la presencia de *L. monocytogenes*, resultados concentrado principalmente en los departamentos Bolívar 20%, Cundinamarca 16,2%, Meta 8,3%, Santander 14,3%, Sucre 4,5% y Valle del Cauca 54,5% (27).

Cuando el humano susceptible ingiere *L. monocytogenes*, esta bacteria cuenta con la capacidad de hacer una transición a un estado fisiológico que promueve su supervivencia y replicación. En consecuencia, esta transición implica efectos patógenos en el hospedero, intracelularmente incluye el incremento de la expresión de productos génicos (Figura 1), los cuales promueven la propagación de *L. monocytogenes* de célula a célula y la replicación bacteriana en el citosol; por lo regular estos productos génicos se expresan a niveles bajos fuera del hospedero. Existe un gran número de productos génicos identificados en *L. monocytogenes* que se encuentran asociados con diferentes mecanismos de resistencia al estrés celular (incluyendo la resistencia al estrés ácido, estrés osmótico y por temperatura). El factor sigma alternativo σB hace parte de esta regulación, expresión génica que dirige la ARN polimerasa con el fin de apuntar a los promotores de genes sensibles al estrés (28).

El regulador transcripcional *PrfA* modula en su gran mayoría a los productos génicos que cooperan en la entrada, invasión bacteriana, la motilidad intracelular, el crecimiento citosólico y la diseminación de célula a célula, procesos característicos de patógenos como *L. monocytogenes*. (Figura 1). A partir de análisis proteómicos se evidencia que el regulador central de *PrfA* cuenta con 10 genes que se encuentran directamente regulados por *PrfA*, en donde adicionalmente se evidencian hallazgos relacionando hasta 145 genes regulados por *PrfA*.

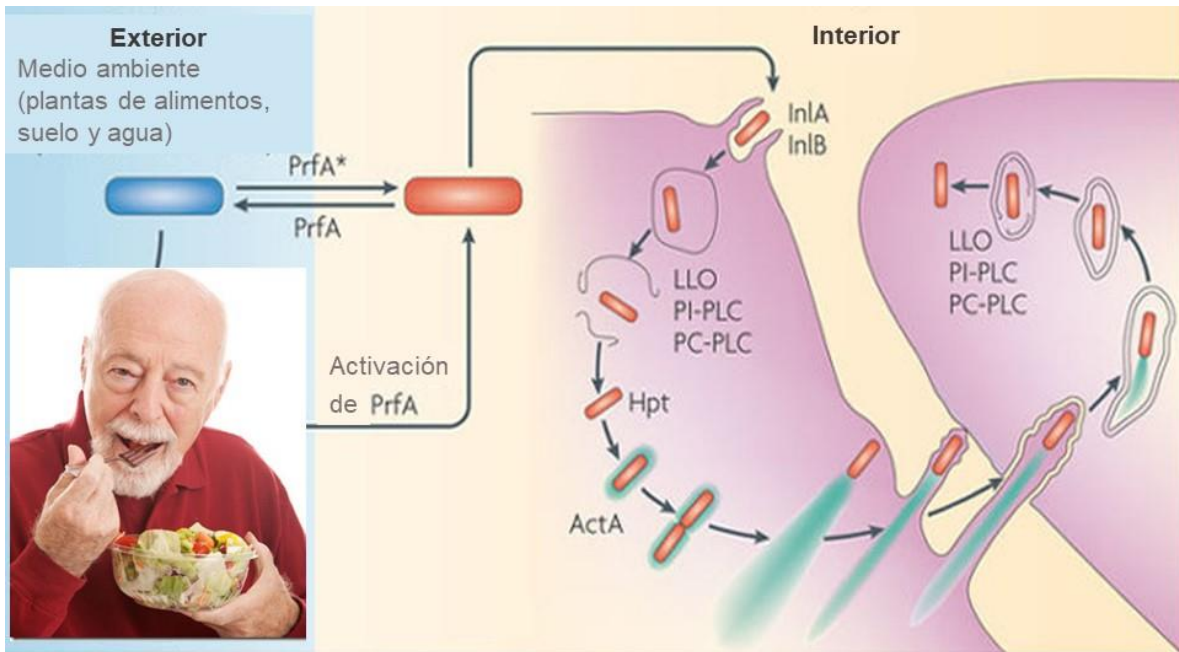


Figura 1. *Listeria monocytogenes* de saprófito a patógeno intracelular, mediante la expresión génica del activador transcripcional PrfA.

L. monocytogenes sobrevive en una amplia gama de entornos, en hábitats que incluyen suelo y agua, así como instalaciones de procesamiento de alimentos. El activador transcripcional PrfA, que regula la expresión de muchos productos génicos necesarios para la virulencia bacteriana, es fundamental para el cambio entre la vida en el exterior y la vida en el interior de los mamíferos. Tomado y modificado (28).

Adicionalmente, *PrfA* tiene la capacidad de regular genes que contribuyen a la resistencia a la bilis, resistencia considerada como la propiedad de facilitar la persistencia de *L. monocytogenes* en la vesícula biliar. La expresión de la sal biliar hidrolasa, codificada por la Enzima hidrolasa en sales biliares (bsh, de acuerdo a sus siglas en inglés) es inducida por *PrfA*, así como el sistema de exclusión biliar, los cuales hacen parte de los mecanismos de la supervivencia bacteriana en el intestino. Los estudios reportan cepas mutantes de *L. monocytogenes*, las cuales carecen del regulador transcripcional *PrfA* funcional, por lo tanto, estas cepas no se replican en las células infectadas y son 100.000 veces menos virulentos que las cepas de tipo salvaje en modelos de ratón infectados (28).

L. monocytogenes durante el procesamiento de alimentos es un microorganismo persistente (42), tiene la capacidad de adaptarse a condiciones ambientales adversas como altas concentraciones de sal, un pH bajo y bajas temperaturas (43–46). Por otra parte, estudios recientes demuestran que *L. monocytogenes* es resistente a diferentes sustancias desinfectantes, lo que dificulta su eliminación cuando se forman biopelículas en superficies de equipos e instalaciones de procesamiento (6,47). Los hallazgos de *L. monocytogenes* son frecuentes en la carne de cerdo cruda, evidenciando que los principales sitios de contaminación son las plantas de beneficio y la sala de desposte, lo que sugiere como fuente de contaminación no sólo las superficies de proceso, adicionalmente se considera en gran parte el personal operativo que entra en contacto con el producto procesado (22,48).

Experimentalmente, a partir de muestras tomadas directamente en granjas, se ha aislado ocasionalmente *L. monocytogenes* a partir de las heces y la piel de cerdos presuntamente sanos (48,49). Se consideran diversos aspectos determinantes como las prácticas ganaderas durante la cría de los animales, las cuales implican alimentar a los cerdos con pienso seco o ensilaje, criar cerdos en galpones o corrales cerrados y mantener rebaños libres de patógenos específicos pueden explicar algunas de las variaciones estudiadas en la incidencia de *L. monocytogenes* en cerdos sanos. Este patógeno se aloja en el tracto intestinal: la prevalencia de *L. monocytogenes* en muestras fecales de cerdos varía entre el 0% y el 47%; las prevalencias más altas se registran en Europa del Este (29,49).

De acuerdo a Li *et al.* (2018), mencionan como vectores mecánicos los insectos intervienen en la transmisión de una diversidad de enfermedades infecciosas, incluyendo las ETA. Este estudio incluyó dentro de sus técnicas de análisis la tasa de aislamiento de *L. monocytogenes*, la cual se obtuvo a partir de aislamientos modificados y amplificación por PCR del género *Listeria*, y posteriormente se determinaron las especies de los aislados mediante cebadores específicos. La investigación evidenció una tasa de aislamiento de 20% para *L. monocytogenes* en moscas, correspondiendo a un resultado mucho mayor que el informado en Estados Unidos. Así que, los autores concluyeron que las moscas y las cucarachas se

presentaban abundantemente en los mercados minoristas, existiendo una gran posibilidad en que estos insectos actúan como un medio móvil para la transmisión o contaminación de *L. monocytogenes* en cada una de las superficies con las que tienen contacto (50).

Por otra parte, estudios realizados en plantas de beneficio animal evidencian la presencia de *L. monocytogenes* en el 14% de las lenguas de cerdo y el 12% de las amígdalas muestreadas. Comparativamente en estudios posteriores se detecta con mayor frecuencia a *L. monocytogenes* en muestras homogeneizadas de amígdalas de cerdo (7,1% de 252 muestras), que en raspados de amígdalas recolectados en la granja (3% de las muestras). Así que, se evidenció una prevalencia entre el 0% y el 61% de *L. monocytogenes* en las amígdalas; valores presentados posiblemente a diversos factores relacionados a los métodos de manejo de la finca y/o los procedimientos de muestreo (48).

Las plantas de beneficio animal y sus áreas exteriores pueden considerarse como una fuente importante de contaminación de la canal con *L. monocytogenes*. Una planta de beneficio se puede dividir en ocho áreas operativas o de proceso: corral de desembarque y reposo de los animales, aturdimiento o insensibilización, sangrado, depilado o escaldado, eviscerado, enfriamiento y colgado, desposte, congelación y despacho, considerando que cada una de estas áreas puede contaminarse, aún con procedimientos de limpieza y tratamiento sanitario (51,52). En las áreas de operación después del sacrificio y el sangrado, se demostró un incremento en cuanto a la proporción de aislamientos de cepas persistentes durante el proceso de sacrificio (52). Lo anterior puede explicarse por las diferencias en los protocolos de desinfección que implementa cada planta de beneficio. En efecto, las áreas de corral y desembarque y de sacrificio y sangrado generalmente se encuentran próximas, y cuentan procedimientos similares de limpieza y saneamiento.

Elzen (53) evidenció que la prevalencia de *L. monocytogenes* en muestras de ambiente en las áreas de corte y enfriamiento son hasta de un 71% a 100%. Por otra parte, investigadores identifican niveles de contaminación de la carne en la industria de procesamiento o post-proceso de productos cárnicos, en donde

adicionalmente indican que la refrigeración y el corte, significativamente aumentan la contaminación de la carne de cerdo. Estos hallazgos sugieren que el procesamiento posterior al sacrificio es una causa significativa de contaminación de la carne y que esta contaminación se amplifica en el ambiente de la sala de enfriamiento y despiece o desposte.

Se ha evidenciado que algunas cepas de *L. monocytogenes* pueden permanecer en instalaciones, equipos y áreas de proceso, a partir de cepas persistentes responsables de contaminaciones alimentarias repetidas (51,52,54). La persistencia de *Listeria* en plantas de beneficio animal es posible a partir de cepas específicas de *L. monocytogenes*, que pueden estar caracterizadas con la resistencia a los desinfectantes industriales

Estudios recientes revelaron la resistencia a los compuestos de amonio cuaternario (QAC, de acuerdo a sus siglas en inglés) en algunas cepas de *L. monocytogenes* aisladas de diferentes plantas de procesamiento de alimentos. La resistencia evidenciada puede haber sido causada por la presencia de concentraciones subletales de los desinfectantes debido al efecto de dilución que ocurre durante los procedimientos de saneamiento industrial de las instalaciones y equipos de la planta de procesamiento. El cloruro de benzalconio (BAC, de acuerdo a sus siglas en inglés) es un tipo de Amonio Cuaternario, extensamente utilizado en plantas de beneficio animal como desinfectante de amplio espectro de superficies duras. Las cepas persistentes de *L. monocytogenes* expresan genes de adaptación y resistencia a BAC, como el casete de resistencia bcrABC y el gen transportador emrE de múltiples fármacos (52).

Los genes de resistencia a BAC se han reportado en cepas de *L. monocytogenes* en las superficies de las instalaciones de procesamiento de alimentos, presentando diferentes prevalencias en varias regiones del mundo. Sin embargo, pocos estudios han evidenciado una asociación entre la persistencia de cepas de *L. monocytogenes* y la presencia de genes resistentes a BAC. De igual manera, se demostró que la proporción de cepas de *L. monocytogenes* con genes resistentes a BAC fue significativamente mayor en las cepas persistentes que en las no persistentes, lo que sugiere que la resistencia a BAC puede ser un importante

contribuyente a la persistencia de cepas *L. monocytogenes* en las plantas de beneficio estudiadas (55).

La resistencia o tolerancia a QAC es posible que se exprese en presencia de concentraciones por debajo de la dosificación recomendada del desinfectante en superficies húmedas ubicadas, generando efectos de dilución. Asimismo, la infraestructura y superficies de los de las áreas de depilación o escaldado, evisceración, corte o desposte, podrían favorecer las condiciones óptimas para el establecimiento de este patógeno en espacios o superficies de refugio, en los equipos e instalaciones de procesamiento de alimentos. Mediante estudios de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE, de acuerdo a sus siglas en inglés) a partir de cepas de *Listeria* recolectadas tanto de carne cruda como de las superficies de equipos de trabajo en las plantas de beneficio, se ha demostrado que durante las diferentes etapas de procesamiento de productos cárnicos la carne cruda puede contaminar las instalaciones de plantas de procesamiento de la carne. Así como también, los equipos contaminados pueden, a su vez, contaminar los productos cárnicos (48).

La persistencia de cepas de *L. monocytogenes* en eventos de contaminación de alimentos, deriva diversos estudios en cuanto a la relación de detectar este patógeno en cepas de listeriosis humana y de alimentos. Cherifi (2020) argumenta una asociación significativa entre las cepas aisladas en humanos y alimentos (Figura 2), indicando una alta presencia de estos perfiles persistentes en un estudio realizado en la ciudad de Quebec, lo que en consecuencia lleva a una contaminación repetida de los alimentos y, considerando lo más relevante en este análisis, sugiere que mediante la técnica de pulsotipos, estas cepas han estado presentes en alimentos y/o entornos de procesamiento de alimentos durante la última década.

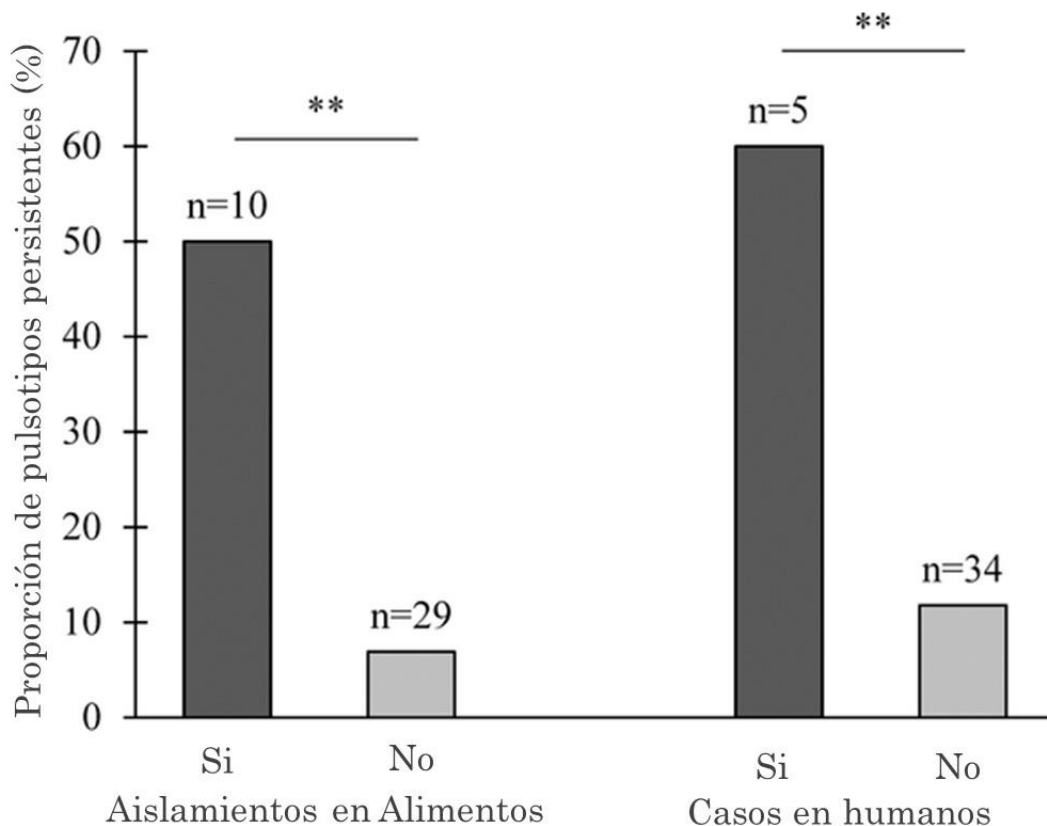


Figura 2. Proporción de pulsotipos persistentes de *Listeria monocytogenes*

Persistencia de *L. monocytogenes* en aislados de alimentos y casos de listeriosis humana de 2000 a 2016 en Quebec (Canadá). Fuente: Tomado y modificado (52). (LSPQ). ** P < 0.01

Además, se evidenció que una cepa persistente de *L. monocytogenes*, fue aislada durante un período de 12 años en una instalación de procesamiento de alimentos, asociando estos resultados con brotes repetidos de listeriosis en la población (52). Otras investigaciones sustentan de *L. monocytogenes*, que aunque este patógeno no forme esporas, tiene la capacidad de establecerse firmemente en entornos de procesamiento de alimentos y puede persistir durante largos períodos de tiempo, incluso años (28).

Por otro lado, los estudios realizados evidencian el peligro del potencial multifacético de *L. monocytogenes* no solo en las carnes rojas, si no como también en los productos de aves de corral (56). Es posible que esto se deba, en primer lugar, a

algunos alimentos asados y fritos a base de carne de ave que pueden conducir a la supervivencia de *L. monocytogenes* en los productos finales y, en segundo lugar, a la presencia de aislados de multirresistencia que transfieren la resistencia a los antibióticos a la comunidad consumidora (40).

Puesto que se evidencia diversidad de cepas de *L. monocytogenes*, las evidencias sugieren realizar la subtipificación de los aislamientos para determinar la genética de dichas poblaciones. Así que, la tipificación de *L. monocytogenes* es necesaria para identificar las fuentes de contaminación y enfocar las investigaciones a los brotes de listeriosis transmitida por los alimentos. La serotipificación es un método fenotípico que se emplea generalmente para identificar cepas de *L. monocytogenes* relacionadas con brotes de enfermedades. Se ha identificado la participación de tres serotipos asociados a brotes de listeriosis, sin embargo, la serotipificación no cuenta con alta especificidad para distinguir los serotipos 4a, 4b y 4c; asimismo la serotipificación no tiene suficiente capacidad para la subtipificación de *L. monocytogenes* (40). Por esta razón, actualmente se emplean técnicas con resultados de mayor exactitud; se realizan procedimientos como la subtipificación basada en PCR, como la amplificación aleatoria de la reacción en cadena de la polimerasa de ADN polimórfica (RAPD-PCR, de acuerdo a sus siglas en inglés), la PCR repetitiva de palíndromos extragénicos (REP-PCR, de acuerdo a sus siglas en inglés), la PCR consensuada intergénica repetitiva de enterobacterias (ERIC-PCR, de acuerdo a sus siglas en inglés) y PFGE.

Jamshidi *et al.* (2019), mencionan que la especificidad de RAPD amplificó alguna región aleatoria en *L. monocytogenes* dentro de los genomas que generan patrones distintos. RAPD cuenta con características importantes dentro de la valoración y selección de técnicas fiables para este tipo de diagnóstico, siendo un tipo de ensayo más rentable y rápido que otros métodos, en particular para un número reducido de cepas. RAPD-PCR es una de las técnicas empleadas para la caracterización de cepas bacterianas. Por otra parte, ERIC-PCR (PCR de consenso intergénico repetitivo para enterobacterias) es un método muy específico y económico que puede reproducir una señalización aguda en *Listeria*, por lo tanto, el método ERIC-

PCR puede diferenciar los aislados de *L. monocytogenes* que se detectaron en una muestra con un serotipo similar.

El método de polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), técnica de genotipado de aislamientos de *L. monocytogenes*, realizando aislados mediante la interacción de dos enzimas de restricción, EcoRI, MseI o TaqI. AFLP cuenta con una característica importante de diagnóstico, como lo es una alta especificidad. Sin embargo, este método no cuenta con la precisión necesaria en cuanto a el tamaño de los fragmentos, lo que representa una menor reproducibilidad (57). Así que, PFGE es una técnica en la que expone un gran fragmento de ADN a un campo eléctrico cambiante, así que de esta manera se subtipificaron los aislados. Este método permitió una mayor discriminación que la AFLP, no obstante, esta técnica emplea más tiempo, más costos y requiere mayor mano de obra en comparación con la AFLP (40).

Los serotipos aislados de *L. monocytogenes* más predominantes a partir de los estudios realizados en canales de aves en Irán, son los serotipos 1/2b y 3b representan el 52,77%, y el serogrupo IVa se evidenció en un 27,77% de las canales de aves con los serotipos 4a y 4c. Por otro lado, en Estados Unidos el serotipo más común en productos avícolas fue el mismo. No obstante, otro estudio evidencia que el serotipo 4b es el más común en productos avícolas detectado en el 44,9% de las muestras, mientras que la prevalencia del serotipo 1/2b fue del 10,2%. El 2,77% representa la prevalencia del serogrupo IVb y del 12,5% en canales de aves y en alimentos listos para el consumo respectivamente. Los serovares 1/2a, 1/2b y 4b de *L. monocytogenes* se identificaron como el origen de la listeriosis humana (40,58). Sin embargo, el serotipo 4b se ha identificado comúnmente en alimentos. Por lo anterior, las investigaciones evidencian que la carne de aves de corral es un medio potencial de los serotipos patógenos de *L. monocytogenes*.

Las investigaciones y seguimiento a brotes en Colombia por se han asociado principalmente a la contaminación cruzada con *L. monocytogenes* en plantas de derivados cárnicos correspondió a una prevalencia de 13,8% en canales, derivados de cerdo y cortes de carne (59), así como, una prevalencia del 11,46% en plantas

de procesamiento de carne de cerdo (60). Por otro lado, se resalta que se presentó una prevalencia de 3,7% en plantas de beneficio animal resultados obtenidos en el año 2012 (27,59).

De acuerdo al boletín epidemiológico semanal de SIVIGILA - INS para la semana 02 de 2022 se reportó a *L. monocytogenes* como agente etiológico de eventos por ETA identificando 603 brotes originados en el último trimestre de 2021 y a partir de 402 muestras recolectadas se logró identificar el agente etológico en un 25,7% del total de muestras procesadas (61).

En lo que respecta a productos cárnicos se evidenció que en Colombia existen estudios y seguimientos a la presencia de *L. monocytogenes* fundamentalmente en carnes procesadas o carnes frías, orientados por una base normativa preliminar como el Decreto 2162 de 1983, y posteriormente más específicos en los controles de este microorganismo patógeno como la Norma Técnica Colombiana (NTC) 1325 y NTC 4666. Sin embargo, en plantas de beneficio animal las regulaciones oficiales se encuentran establecidas por el Decreto 1500 de 2007, Resolución 240 de 2013, Resolución 241 de 2013, Resolución 242 de 2013 y el Decreto 1975 de 2019, las cuales trazaron la guía para alcanzar la autorización sanitaria de funcionamiento de estos establecimientos en las cuales no se contemplan criterios microbiológicos para *L. monocytogenes*. Esta transformación, logró consolidar como eje principal las BPM durante los procesos de beneficio animal, sin embargo, aunque existen otros mecanismos de control para la gestión de calidad de procesamiento de alimentos como lo es el sistema de inocuidad alimentaria ACCP, de acuerdo al Decreto 2270 de 2012 en el Artículo 26, se establece que únicamente los establecimientos con fines de exportación de productos cárnicos deben cumplir con estos estándares de carácter obligatorio, por lo anterior, se considera importante orientar estos seguimientos a proponer estudios preliminares, que permitan determinar si es pertinente establecer unas líneas base que definan los requerimientos de exigencia enfocados a la identificación de *L. monocytogenes* específicamente en las plantas de beneficio animal.

De manera concluyente los estudios recopilados comparten hallazgos asociados a una amplia diversidad de aislados de *L. monocytogenes* en plantas de beneficio animal, es decir, esto es un indicativo de este patógeno de su capacidad para sobrevivir y crecer en diferentes condiciones ambientales. Así como también, la alta prevalencia de cepas persistentes. Se deben considerar las evidencias de la presencia de estas cepas fundamentalmente en el área de operación de desposte y deshuesado. La contaminación de la carne por cepas persistentes en áreas operativas es posible que se traslade a las instalaciones de procesamiento de cárnicos mediante la red hidráulica, ductos de aguas de proceso, planteando un riesgo para la salud humana. Así como también, es importante fortalecer el seguimiento del origen y la investigación epidemiológica para la vigilancia, control y la prevención de la listeriosis.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

Realizar una revisión sistémica de los métodos de diagnóstico de *Listeria monocytogenes* de productos cárnicos en canal procesados en plantas de beneficio, hasta el acondicionamiento de la canal.

3.2 Objetivos Específicos

- Recopilar mediante el análisis sistemático de artículos, la información que evidencie las técnicas de diagnóstico empleadas para determinar la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos procesados en plantas de beneficio animal.
- Identificar en que plantas de beneficio animal se realiza algún tipo de diagnóstico para determinar la presencia de *L. monocytogenes*.
- Establecer la importancia de implementar métodos de diagnóstico para los productos cárnicos en canal procesados en las plantas de beneficio animal con el fin de garantizar la inocuidad del producto final.

4. Diseño metodológico

El tipo de investigación se fundamentó en un diseño metodológico mixto estructurado por dos etapas búsqueda, un componente cualitativo durante la primera etapa de obtención de información y el componente cuantitativo en una segunda etapa asociada a la inferencia estadística de los datos analizados. El esquema de búsqueda se realizó basándose en una secuencia de procedimientos en los cuales se llevó a cabo la extracción de datos asociados al diagnóstico de *L. monocytogenes* en productos cárnicos, mediante una revisión sistemática de literatura publicada entre 1991 y 2021. Se desarrolló una búsqueda en diferentes bases de datos como Scopus, Science Direct, Google Académico, SciELO, PubMed, PLOS ONE, Repositorios de universidades (Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), y Pontificia Universidad Javeriana), mediante la selección de la literatura con información relacionada a la temática de estudio.

Se emplearon los conectores booleanos “AND”, “OR” y “NOT” en la etapa preliminar de búsqueda, así como también, en la etapa de búsqueda avanzada conectando las palabras clave propuestas con términos de similitud en su significado, aplicadas en conjunto para los dos periodos de tiempo, de acuerdo a los criterios de inclusión y criterios de exclusión establecidos. A partir de estos resultados, se revisaron inicialmente las referencias de los artículos seleccionados, con el propósito de identificar publicaciones sobresalientes y específicas en cuanto al objeto de búsqueda, y continuar con un análisis más detallado de las publicaciones seleccionadas en la búsqueda preliminar y búsqueda avanzada.

Criterios de exclusión

Publicaciones repetidas.

Se descartaron las publicaciones similares de acuerdo con su título o contaban con la misma información en cuanto a la población de estudio.

Selección de estudio.

De manera preliminar se realizó una selección de artículos acorde a su título y resumen. Posteriormente, se realiza la recuperación de los textos completos con el

fin de verificar y seleccionar nuevamente de acuerdo a los siguientes aspectos: Excluir las publicaciones previas al año 1991, publicaciones que no asocian al diagnóstico de *L. monocytogenes* con productos cárnicos, publicaciones que no se relacionan con ETA, publicaciones que no incluyen métodos diagnósticos de *L. monocytogenes* y publicaciones que no consideran las plantas de beneficio animal o plantas de post-proceso de productos cárnicos como objeto de estudio.

Año de estudio.

La búsqueda de literatura se delimitó en dos periodos de tiempo: el primero, entre el año 1991 y 2001 y el segundo entre 2002 y 2021, Estas fechas se determinaron con el fin de analizar la evolución que han presentado las técnicas de diagnóstico de *L. monocytogenes* en plantas de procesamiento de productos cárnicos. Segundo, con el propósito observar la importancia que se le ha atribuido a este campo de estudio, y lograr encontrar los artículos y estudios más relevantes.

Criterios de inclusión.

Palabras clave.

Listeria monocytogenes, planta de beneficio, cárnicos, diagnóstico, planta de proceso, enfermedades transmitidas por alimentos.

Elegibilidad.

Inicialmente con el fin de obtener un panorama amplio de la temática, la búsqueda se realizó de manera general abordando diferentes tipos de literatura y años de publicación no incluidos en los periodos de tiempo establecidos.

Tipo de literatura e Idioma.

Se incluyeron artículos de investigación, artículos de revisión, tesis o trabajos de grado, correspondiendo a publicaciones en inglés, portugués y español.

Extracción de datos de interés.

Como información relevante para este estudio se extrajeron datos relacionados con datos biológicos, moleculares, epidemiológicos y de control normativo de *L. monocytogenes*, ubicación de la investigación, año de estudio, datos y resultados estadísticos, identificación y similitud de palabras clave del resumen, materiales y metodología de estudio, población de estudio, discusión y análisis de resultados.

5. Resultados y Discusión

A partir de los criterios de búsqueda establecidos dentro de un periodo de tiempo comprendido desde el año 1991 hasta el año 2021, y en referencia a los intervalos propuestos de acuerdo con el año de publicación de los artículos, entre el periodo 1991 y 2001 (Figura 3) y el periodo 2002 y 2021 (Figura 4), se logra identificar un total de 33 artículos elegibles para el análisis sistemático siendo 18,1% (6 textos) y 81,8% (27 textos) respectivamente, de la búsqueda establecida en plantas de beneficio animal.

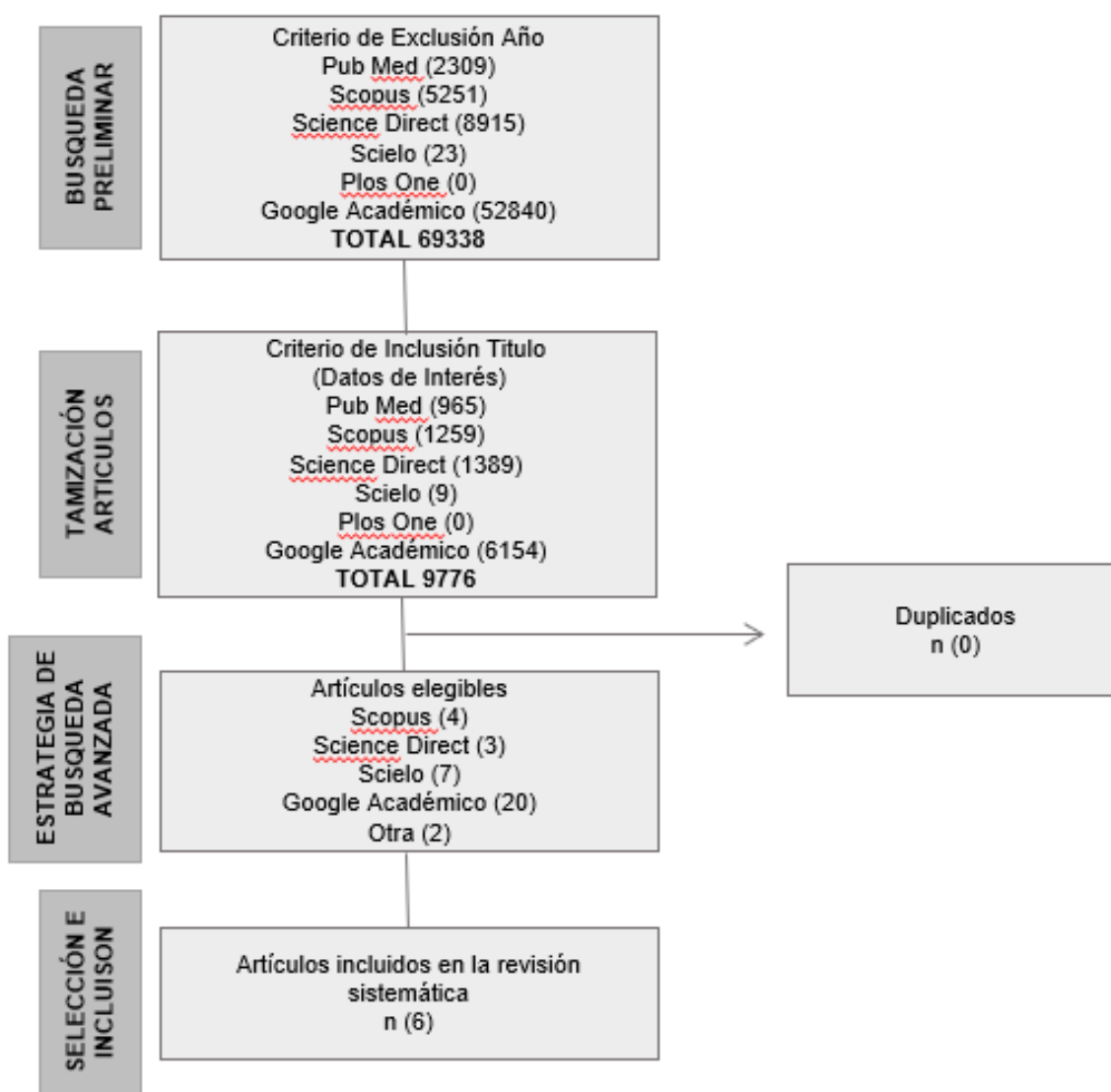


Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de identificación y selección de textos incluidos en la revisión sistemática periodo entre 1991 y 2001.

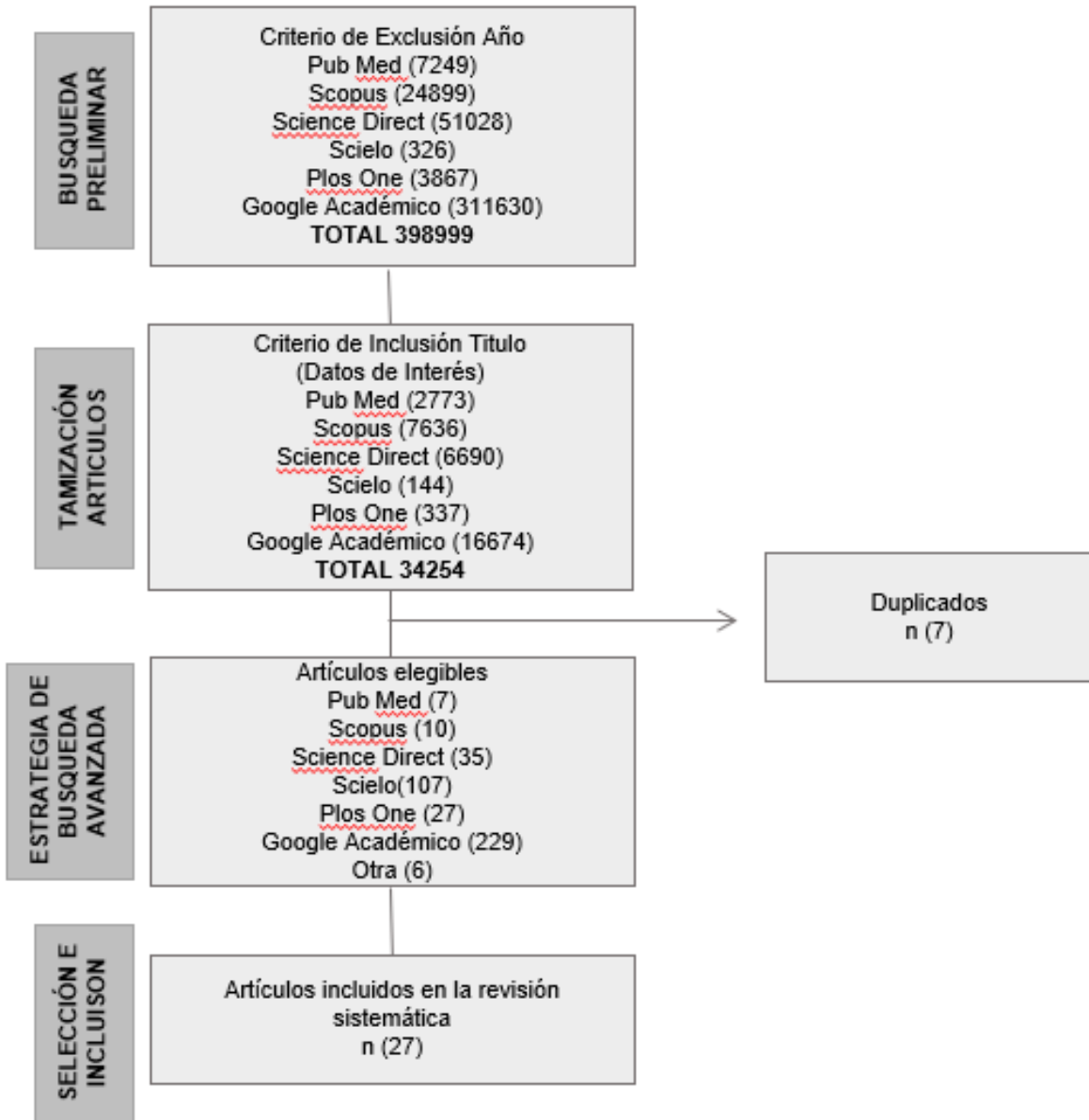


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de identificación y selección de textos incluidos en la revisión sistémica periodo entre 2002 y 2021.

La estrategia implementada de manera preliminar cuenta con un número importante de artículos encontrados, la cual se basa en la búsqueda empleando el filtro inicial de cada una de las bases de datos. Por consiguiente, se organiza y tabula la información obtenida en tablas del programa Microsoft Excel que permitan realizar un seguimiento del proceso de selección de acuerdo con los criterios de inclusión y criterios de exclusión propuestos para cada una de las etapas de búsqueda y

determinar la efectividad de la estrategia de identificación de los artículos relacionados al objeto de estudio.

De esta manera, se logra recopilar cada una de las etapas de recolección de información, se realiza una correlación simple entre las palabras clave seleccionadas y del criterio de exclusión, Año de publicación de los textos, se obtiene para el primer lapso de tiempo 69.338 artículos desde el año 1991 hasta el año 2001 (Tabla 2) y en el segundo lapso de tiempo 398.999 artículos desde el año 2002 hasta el año 2021 (Tabla 3), y de acuerdo con el diagrama de flujo de proceso de identificación de literatura (Figuras 3 y 4), esta descripción corresponde a las etapas de identificación de artículos y tamizaje.

Tabla 2. Búsqueda por correlación preliminar entre palabras clave y periodo de publicación 1991 – 2001.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico
"Listeria monocytogenes"	1670	4524	5974	19	0	37400
"Listeria monocytogenes" AND "Slaughterhouse"	3	22	1041	0	0	690
"Listeria monocytogenes" AND "meat"	176	449	1349	2	0	7110
"Listeria monocytogenes" AND "diagnosis"	431	156	1110	2	0	5420
"Listeria monocytogenes" AND "processing plant"	11	84	232	0	0	1050
"Listeria monocytogenes" AND "foodborne illness"	18	16	146	0	0	1170
SUBTOTAL	2309	5251	8915	23	0	52840
TOTAL					69338	

Posteriormente, se desarrolló una estrategia similar con una búsqueda de correlación entre las palabras clave, aplicando en función de cada base de datos la revisión de títulos y resúmenes de los textos seleccionados. Este procedimiento arroja 9.776 artículos publicados entre los años 1991 y 2001 (Tabla 4), y 34.254 artículos para el intervalo entre 2002 y 2021 (Tabla 5).

Tabla 3. Búsqueda por correlación preliminar entre palabras clave y periodo de publicación 2002 – 2021.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico
"Listeria monocytogenes"	4153	20620	31821	270	2931	219000
"Listeria monocytogenes" AND "Slaughterhouse"	32	146	629	4	35	6790
"Listeria monocytogenes" AND "meat"	1055	2584	8923	33	261	37600
"Listeria monocytogenes" AND "diagnosis"	1803	615	5369	14	453	22300
"Listeria monocytogenes" AND "processing plant"	72	545	1841	5	64	9640
"Listeria monocytogenes" AND "foodborne illness"	134	389	2445	0	123	16300
SUBTOTAL	7249	24899	51028	326	3867	311630
TOTAL			398999			

Tabla 4. Búsqueda preliminar mediante la revisión de títulos y resúmenes durante el periodo 1991 – 2001.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Sciene Direct	Scielo	Plos One	Google Académico
"Listeria monocytogenes"	895	694	1218	8	0	5980
"Listeria monocytogenes" AND "Slaughterhouse"	3	19	3	0	0	5
"Listeria monocytogenes" AND "meat"	47	347	121	1	0	154
"Listeria monocytogenes" AND "diagnosis"	12	117	21	0	0	9
"Listeria monocytogenes" AND "processing plant"	5	68	22	0	0	6
"Listeria monocytogenes" AND "foodborne illness"	3	14	4	0	0	0
SUBTOTAL	965	1259	1389	9	0	6154
TOTAL				9776		

Tabla 5. Búsqueda preliminar mediante la revisión de títulos y resúmenes durante el periodo 2002 – 2021.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Sciene Direct	Scielo	Plos One	Google Académico
"Listeria monocytogenes"	2507	3873	5620	132	181	16000
"Listeria monocytogenes" AND "Slaughterhouse"	32	127	24	3	2	12
"Listeria monocytogenes" AND "meat"	137	2228	732	4	31	597
"Listeria monocytogenes" AND "diagnosis"	38	585	105	1	7	12
Listeria monocytogenes AND "processing plant"	22	480	129	1	64	41

<i>"Listeria monocytogenes" AND "foodborne illness"</i>	37	343	80	3	52	12
SUBTOTAL	2773	7636	6690	144	337	16674
TOTAL			34254			

En el siguiente paso se realiza una búsqueda avanzada (Tabla 6), debido a que, los resultados preliminares cuentan con una cantidad representativa en número de textos por cada una de las bases de datos seleccionadas. Esta estrategia comprende la inclusión de las palabras clave en su conjunto y a su vez, palabras con similitud en cuanto a significado que las relacione, logrando un procedimiento que permite una búsqueda avanzada en diferentes motores de búsqueda de literatura académica.

Tabla 6. Estrategia de búsqueda avanzada empleando similitud de términos a partir de las palabras clave.

ESTRATEGIA DE BUSQUEDA SISTEMATICA EN BASES DE DATOS		
PASO 1	Idea de Estudio	Diagnóstico de <i>Listeria monocytogenes</i> en productos cárnicos en canal en plantas de beneficio animal
PASO 2	Problema de Estudio	Población Productos cárnicos en canal
		Intervención Diagnóstico
		Control <i>Listeria monocytogenes</i>
		Resultado La evolución de los métodos de diagnóstico de <i>Listeria monocytogenes</i> en canales
PASO 3	Pregunta Problema	¿Cómo han evolucionado en Colombia los métodos de diagnóstico para evaluar la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en la canal, seguidamente de su acondicionamiento?
PASO 4	Similitud de Términos en Bases de datos MESH - Pub Med	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Listeria monocytogenes</i>
		Slaughterhouse abattoir
		meat meat products meat proteins
		diagnosis diagnostic technique postmortem diagnosis
		processing plant manufacturing plant
		foodborne illness foodborne disease
PASO 5	Planteamiento de búsqueda avanzada por términos de similitud en significado a las palabras clave	<i>Listeria monocytogenes</i> (<i>Listeria monocytogenes</i>)
		Slaughterhouse (Slaughterhouse OR abattoir)
		meat (meat OR meat products)
		diagnosis (diagnosis OR diagnostic technique)
		processing plant (processing plant OR manufacturing plant)
		foodborne illness (foodborne illness OR foodborne disease)
	Búsqueda Avanzada Pub Med	(<i>Listeria monocytogenes</i>) AND (Slaughterhouse OR abattoir) AND (meat OR meat products) AND (diagnosis OR diagnostic technique) AND (processing plant OR manufacturing plant) AND (foodborne illness OR foodborne disease)
	Búsqueda Avanzada SciELO	((<i>Listeria monocytogenes</i>)) AND ((Slaughterhouse OR abattoir)
PASO 6		
	Búsqueda Avanzada Google Académico	" <i>Listeria monocytogenes</i> " +"Slaughterhouse" OR"abattoir" +"meat" OR"meat products" +"diagnosis" OR"diagnostic technique" +"processing plant" OR"manufacturing plant" +"foodborne illness" OR"foodborne disease"
	Búsqueda Avanzada PLOS ONE	" <i>Listeria monocytogenes</i> " AND "Slaughterhouse" AND meat AND diagnostic technique
PASO 7	Selección de Artículos según la Pregunta Problema o Criterios de Inclusión y Exclusión	Artículos científicos, Artículos de revisión, Tesis de Posgrado.

Por consiguiente, se obtiene a partir de esta estrategia de búsqueda avanzada 34 artículos publicados en las bases de datos seleccionadas y 2 artículos adicionales en otros motores de búsqueda de literatura académica en el periodo entre 1991 y 2001 (Tabla 7); y durante el periodo entre 2002 y 2021 (Tabla 8) se seleccionan 415 artículos en las bases de datos seleccionadas y 6 artículos en otros motores de búsqueda de literatura académica.

Tabla 7. Búsqueda mediante estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 1991 – 2001.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico	Otra
(Listeria monocytogenes) AND (Slaughterhouse OR abattoir) AND (meat OR meat products) AND (diagnosis OR diagnostic technique) AND (processing plant OR manufacturing plant) AND (foodborne illness OR foodborne disease)	0	4	3	7	0	20	2

Tabla 8. Búsqueda mediante estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 2002 – 2021.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico	Otra
(Listeria monocytogenes) AND (Slaughterhouse OR abattoir) AND (meat OR meat products) AND (diagnosis OR diagnostic technique) AND (processing plant OR manufacturing plant) AND (foodborne illness OR foodborne disease)	7	10	35	107	27	229	6

En función a estos resultados, los textos son analizados mediante el software de gestión bibliográfica Mendeley y se verifica si hay duplicidad, obteniendo un total de 0 artículos duplicados en el periodo de tiempo entre 1991 a 2001, mientras que, para el segundo periodo desde el 2002 hasta el 2021 se encontraron 7 artículos.

Por último, a partir de los textos obtenidos con los criterios de búsqueda establecidos, se hace la lectura y análisis detallado del texto completo de cada uno de los artículos seleccionados de acuerdo con la pregunta orientadora y objeto del estudio, logrando como resultado 6 artículos correspondientes al periodo entre 1991 y 2001 (Tabla 9), mientras que para el segundo periodo de tiempo entre 2002 y 2021 son seleccionados 27 artículos (Tabla 10). Esto indica, que el tema es de interés en el tiempo, en particular por la evolución en el conocimiento y aplicación de nuevas técnicas de diagnóstico para *L. monocytogenes*.

Así que, se cuenta con un total de 33 textos de estudio que cumplen con los criterios de exclusión, criterios de inclusión y la estrategia de búsqueda avanzada establecidos específicamente en plantas de beneficio animal, en donde de manera categórica los artículos seleccionados se encuentran distribuidos en las siguientes bases de datos o motores de búsqueda Pub Med (5), Scopus (3), Science Direct (6), SciELO (8), PLOS ONE (0), Google Académico (6) y en otras (5).

Tabla 9. Artículos seleccionados mediante la estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 1991 – 2001.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico	Otra
(Listeria monocytogenes) AND (Slaughterhouse OR abattoir) AND (meat OR meat products) AND (diagnosis OR diagnostic technique) AND (processing plant OR manufacturing plant) AND (foodborne illness OR foodborne disease)	1	0	1	0	0	2	2

Tabla 10. Artículos seleccionados mediante la estrategia de búsqueda avanzada durante el periodo 2002 – 2021.

Palabras clave	Pub Med	Scopus	Science Direct	Scielo	Plos One	Google Académico	Otra
(Listeria monocytogenes) AND (Slaughterhouse OR abattoir) AND (meat OR meat products) AND (diagnosis OR diagnostic technique) AND (processing plant OR manufacturing plant) AND (foodborne illness OR foodborne disease)	4	3	5	8	0	4	3

A partir de los artículos seleccionados, se observa que las publicaciones durante el periodo entre el año 1991 y 2021 (Figura 5) son investigaciones relacionadas con técnicas diagnósticas de *L. monocytogenes* en donde, las muestras se tomaron

directamente en la canal dentro de la planta de beneficio animal, se referenciaron 6 estudios realizados en Europa y Asia, de los cuales finalizando el periodo analizado se incrementó el número de textos publicados.

Por otra parte, las investigaciones publicadas durante el periodo entre el año 2002 y el año 2021 (Figura 6) evidenciaron un incremento tanto en número de textos, así como también se amplió el espectro en cuanto a su distribución geográfica de publicaciones, ya que, la gran mayoría de los continentes contaron con mínimo una publicación relacionada al objeto de este estudio. En este periodo, América del Sur tuvo un mayor acercamiento a investigaciones dentro de este contexto, encontrando para Colombia, Perú y Venezuela un documento respectivamente, mientras que la cantidad de artículos de Brasil fueron 7 publicaciones.

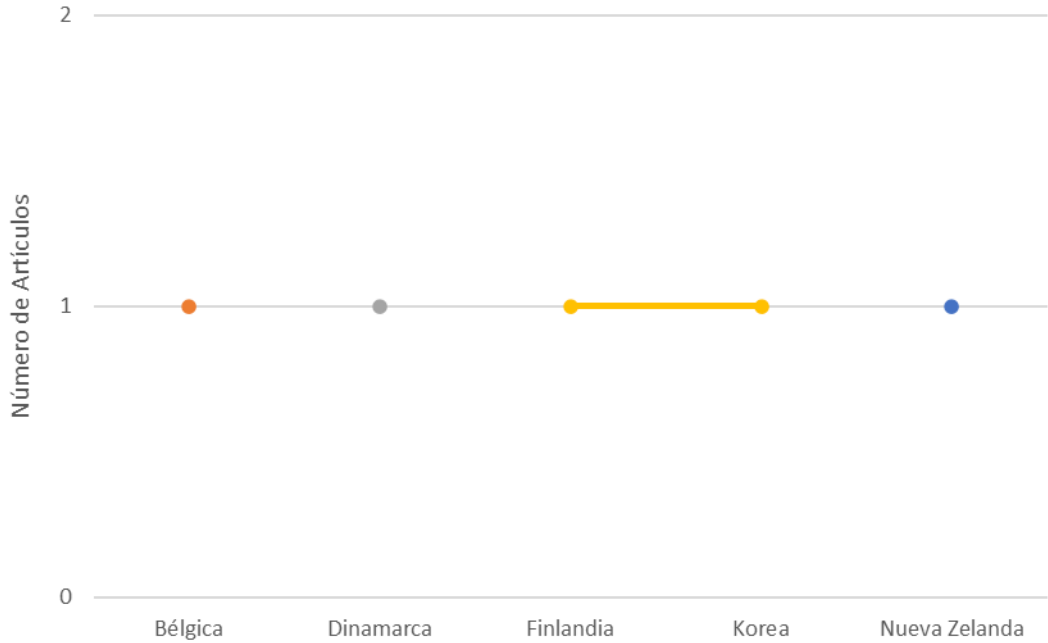


Figura 5. Distribución mundial de publicaciones periodo 1991 – 2001.

Es relevante que Brasil cuente con este tipo de estudios, considerando que es un país referente en la producción y exportación mundial de productos cárnicos, USDA reporta que en el año 2021 Brasil exportó 1.024 millones de toneladas de carne de cerdo (62) y 4.05 millones de toneladas de carne de ave (63), así como también, informa que para junio de 2021 Brasil exportó entre 1.6 a 1.7 millones de toneladas de carne bovina en canal de acuerdo al informe anual de la Asociación Brasileira de

Exportadores de Carnes (ABIEC, de acuerdo a sus siglas en portugués) (64).

Por otra parte, las entidades sanitarias y el gobierno Colombiano han proyectado estrategias enfocadas en mantener el estatus sanitario del país y alcanzar mercados internacionales para la exportación de productos cárnicos, de manera que para el año 2021 Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, de acuerdo a sus siglas en inglés) (65) reportó la exportación de 31666 toneladas de carne de bovino en Colombia, simultáneamente el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) informó que el país para el primer bimestre de 2021, contaba con alianzas gubernamentales y logró exportaciones a Hong Kong, Vietnam, Libia, Líbano, Jordania, Egipto, Arabia Saudita entre otros (66).

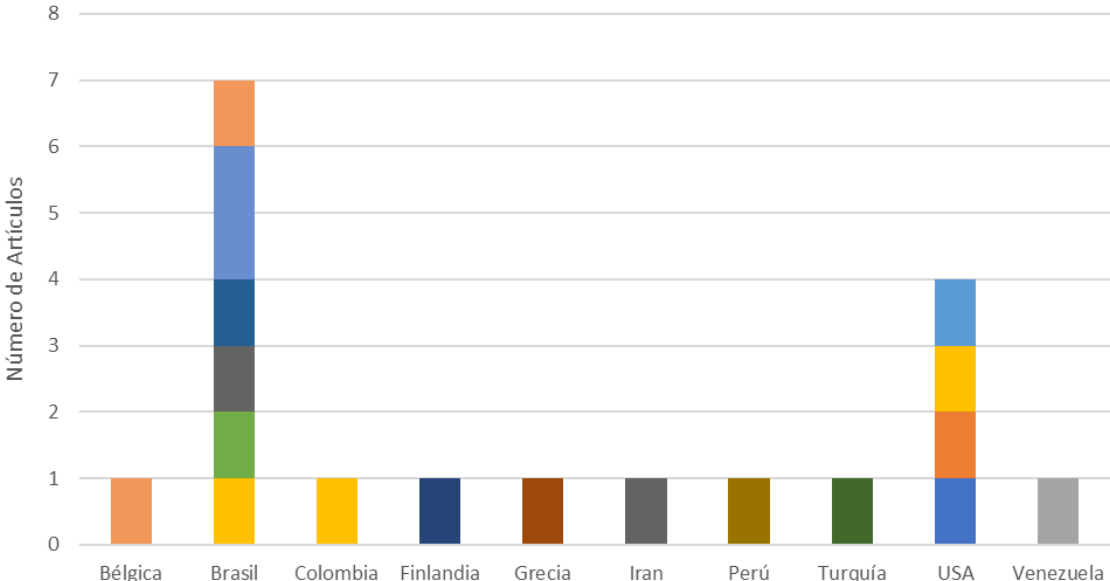


Figura 6. Distribución mundial de publicaciones periodo 2002 – 2021.

Para el año de 2020 el Ministerio de Agricultura (67) informó exportaciones de carne de cerdo de 20.88 toneladas a Angola, y el Fondo Nacional de Porcicultura (PorkColombia) (68) anunció alianzas con Hong Kong y Costa de Marfil para la exportación de 100 toneladas adicionales, cantidades mucho menores que las mencionadas anteriormente para la carne de bovino.

El Departamento Nacional de Planeación (DNP) en Colombia, la Comisión de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias, el ICA, el Instituto nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), el INS, Ministerio de Agricultura y Ministerio

de Comercio actualmente coordinan la aprobación de acciones adicionales prioritarias, para el cumplimiento de los requisitos de inocuidad incluidos en el Plan de Admisibilidad Sanitaria (PAS) con el objetivo de tener acceso a mercados internacionales exportando carne de pollo inicialmente a Estados Unidos (69). Se puede decir, entonces, que Colombia no cuenta actualmente con Admisibilidad Sanitaria en la Unión Europea y Norte América para la exportación de productos cárnicos, debido a los requerimientos establecidos en cuanto a los estándares sanitarios y de inocuidad regulados por la autoridad sanitaria de cada país.

Es fundamental entender la importancia de establecer un marco normativo como herramienta fundamental para garantizar la inocuidad y calidad de los productos cárnicos, no solo en el contexto de control interno sanitario de la cadena productiva de alimentos en un país, si no como también, comprenden la base de las directrices y requerimientos de mayor trascendencia para alcanzar la admisibilidad sanitaria para la exportación a otros países.

El Codex Alimentarius se compone por normas internacionales, las cuales son estándar y directrices para todos los países con la finalidad de garantizar la inocuidad de los alimentos y equidad en el comercio internacional de los mismos, y contiene las medidas sobre higiene de los alimentos, residuos de plaguicidas y medicamentos veterinarios, contaminantes, muestreo y técnicas de análisis, y certificación de exportaciones e importaciones (70).

De acuerdo a las Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de *L. monocytogenes* del Codex Alimentarius (CAC/GL 61 - 2007) (71), que “La presencia de *L. monocytogenes* en el producto terminado también puede indicar la falta de control de *L. monocytogenes* en el ambiente de procesamiento” (Anexo III – b), por lo anterior este microorganismo está contemplado como un agente importante para su control en el producto final posteriormente a las actividades de procesamiento de productos cárnicos. Esta directriz refiere la responsabilidad a cada uno de los gobiernos y sus entidades sanitarias, estableciendo las especificaciones y reglamentos los cuales deben estar sujetos a estudios de validación que evidencien que durante la vida útil del alimento *L. monocytogenes* no crecerá, de lo contrario si no es posible esta información “el

alimento debería ser tratado como aquél en el que sí puede crecer *L. monocytogenes*” (Anexo II – 3-3.1) (71).

A partir de estos fundamentos contemplados en la normativa internacional, buscamos profundizar en este contexto con la siguiente pregunta, ¿cuál es la postura de otros países para el control de *L. monocytogenes* en productos cárnicos? La Unión Europea estableció una normativa estricta en referencia a la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos, en donde su referente es la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) bajo el Reglamento 2073/2005 (Artículo 5, 2) y el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), en donde los criterios microbiológicos deben estar debajo de 100 ufc/g.(72), así como también, actualmente se da cumplimiento a la política Tolerancia cero y la Notificación Obligatoria de este patógeno.

El modelo sanitario de la UE mencionado es referencia normativa de otros países como Japón, China, España, Argentina y el Acuerdo de Asociación de la Unión Europea – América Central (República de Costa Rica, República de Guatemala, República de Nicaragua, República de Panamá y República del Salvador), destacando que estos requerimientos son basados en la implementación de un sistema de gestión de calidad e inocuidad, como el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) previamente validado y aprobado por las entidades sanitarias y servicios veterinarios oficiales, y el cumplimiento de la normativa de sanidad animal.

Por otro lado, la Unión Europea se conforma por la Unión Aduanera de Eurasia (UA) conformada por la República de Armenia, la República de Bielorrusia, la República de Kasajistán, la República de Kirguistán y la Federación de Rusia. De acuerdo a la Resolución del 28 de Mayo de 2010 N299, los Requerimientos de Inocuidad y valor alimenticio de los alimentos (Capítulo II 1.5 – numeral 47) y los Reglamentos técnicos de la Unión Aduanera – Sobre la Inocuidad de la carne y los productos cárnicos (TR TS 034/2013), la UA mantiene una postura aún más exigente con requerimientos basados en la ausencia de *L. monocytogenes* en 25 gramos como criterio microbiológico incluyendo todos los productos cárnicos, como en la carne fresca refrigerada y congelada, medida que no está sujeta a negociación con ningún

mercado (73).

En referencia a la normativa sanitaria en los países de occidente, las entidades oficiales como USDA, el Servicio de Seguridad e Inspección Alimentaria (FSIS) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), establecen políticas de tolerancia cero y notificación obligatoria de la presencia *L. monocytogenes* en productos cárnicos, las cuales son acogidas como referencia para el control interno sanitario en países como Canadá, México y Puerto Rico.

Existen diferentes directrices establecidas por FSIS que suministran información respecto a las pautas de saneamiento de los establecimientos de procesamiento de alimentos, métodos diagnósticos para determinar la presencia de *L. monocytogenes*, los cuales deben ser aprobados o adoptado por una organización oficial y la prevención de contaminación cruzada de productos cárnicos y avícolas (CFR 317.2 y 381.125) descritos como alimentos nRTE (no Listos para consumo) ya que, requieren tratamientos posteriores como cocción, temperaturas de refrigeración o congelación, para garantizar que sea un alimento seguro e inocuo (74). Entre otras disposiciones mencionadas incluyen la vigilancia durante la inspección oficial ante-mortem de los animales, estableciendo la listeriosis como enfermedad de control y seguimiento epidemiológico, para la toma de decisiones en la planta de beneficio animal (75,76).

En contraste a la normativa de la UE y Estados Unidos, en Colombia la Listeriosis o en el caso que se trabaja en esta investigación, la confirmación de *L. monocytogenes* no es de notificación obligatoria, según Carrascal (2014) y el INS en su documento de evaluación de riesgos en inocuidad de alimentos afirman que “La prevalencia de *L. monocytogenes* es escasa, debido, probablemente, a que la presencia de este microorganismo no es de notificación obligatoria, situación que puede contribuir al subregistro” (27,60).

Como se mencionó, en Colombia las entidades oficiales articuladas con propósito de vigilancia y control de la salud pública se conforman por el Ministerio de Salud y Protección Social, el INS, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y el INVIMA. El Decreto 1500 de 2007 (9) establece los parámetros técnicos creando el sistema oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la carne y productos cárnicos, requisitos

de inocuidad y sanitarios en la producción primaria, beneficio y post procesos, el cual fundamenta el Decreto 1975 de 2019, la Resolución 240 de 2013, la Resolución 241 de 2013 y la Resolución 242 de 2013, todos con el objetivo de garantizar el cumplimiento de BPM, el control e implementación de APPCC y POES.

El artículo 27 “Control de Patógenos” del Decreto 1500 (9), insta a las plantas de beneficio a establecer un plan de muestreo de microorganismos basado en indicadores de peligros para la salud del hombre o en sí del patógeno en los productos cárnicos, de manera que este programa esté disponible para su verificación por la autoridad sanitaria.

Las disposiciones específicas referentes a los microorganismos de vigilancia en productos cárnicos fueron expedidas por el Ministerio de Salud y Protección Social mediante Resolución 2690 de 2015 “Directrices para la formulación del Programa de Verificación Microbiológica del Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne y Productos Cárnicos Comestibles” y la Circular externa 4000-0265-2021, considerando aclaraciones determinantes en plantas de beneficio animal, y establece los microorganismos patógenos e indicadores conforme a su incidencia en Enfermedades Transmitidas por Alimentos siendo: *E. coli* genérico para la verificación de control de proceso, *Salmonella* spp. en el cumplimiento de estándar de desempeño, *Escherichia coli* O157:H7 y *Escherichia coli* no O157 (STEC) productores de toxina shiga para el control de microorganismos patógenos y *Campylobacter* spp. en el cumplimiento de estándar de desempeño, de acuerdo a la especie animal que aplique el programa de muestreo del establecimiento (13,77).

Por otra parte, entre otras regulaciones, Colombia cuenta con el Laboratorio Nacional de Referencia del INVIMA, el cual incluye en su Manual de Métodos Microbiológicos, los métodos del Manual Analítico Bacteriológico (BAM) (FDA. Food Code, 2009) (78), conformado por laboratorios que se encuentran diseñados y con la competencia analítica para detectar *L. monocytogenes* en alimentos, sin embargo, hasta la fecha Colombia no cuenta con el control oficial de este microorganismo en plantas de beneficio animal.

Métodos diagnósticos

Método de aislamiento microbiológico

A partir de muestras de alimentos, los métodos de aislamiento convencional son establecidos y de regulación por la ISO, el Comité Nórdico de Metodología para el Análisis de Alimentos (NMKL), el Comité Europeo para la Normalización (CEN, EN); los métodos de la FDA, de FSIS – USDA, los cuales deben ser certificados por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, de acuerdo a sus siglas en inglés) y confieren diferentes opciones de enriquecimiento con diversos agentes selectivos, luego fueron mejorados para un enriquecimiento en condiciones variables de temperaturas y tiempos (79).

Los métodos de aislamiento deben garantizar que se logre detectar el microorganismo en una muestra de 25 gramos, de acuerdo a lo establecido por ISO 11290 Parte 1 versión 2017² (23), consta de una primera etapa de enriquecimiento recuperando organismos incluso estresados, lo que permite el crecimiento de la bacteria alcanzando niveles detectables mínimo de 10^4 ufc/ml (4,80). Luego en un segundo paso, se requiere el enriquecimiento de una suspensión del cultivo logrado en la primera etapa. Posteriormente, se extienden las colonias obtenidas en las dos primeras etapas en un medio selectivo de cultivo, en donde de acuerdo con el tipo de medio seleccionado es posible observar colonias de color azul verdoso rodeadas por un halo oscuro (Agar *Listeria* Ottaviani y Agosti) o colonias pequeñas negras rodeadas por un halo negro (Oxford). La etapa de confirmación es mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas, y consiste en realizar un subcultivo de las colonias obtenidas en un medio no selectivo, expresándose en halos circundantes para determinar el crecimiento de *L. monocytogenes*, por ejemplo, el uso de lecitina (actividad de β Glucosidasa), fosfatidilinositol (actividad de fosfolipasa-C) y xilosa (colonias azules), distinguiendo entre *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* (79,81).

De acuerdo con lo dispuesto y las recomendaciones planteadas por los organismos de vigilancia de salud pública y control sanitario internacionales, mencionan como medios de enriquecimiento específicamente para *L. monocytogenes*: caldo Fraser, caldo de enriquecimiento de *Listeria* tamponado (BLEB), medio bacteriológico

analítico referenciado por BAM y caldo selectivo de enriquecimiento modificado para *Listeria* University of Vermont Medium (UVM). Oxford y PALCAM (polimixina, acriflavina, cloruro de litio, ceftazidima, manitol y esculina) suelen ser los medios de aislamientos más utilizados, inclusive en la recuperación de microorganismos lesionados o poco viables (80), este último se caracteriza por presentar cambios de coloración del medio de cultivo a un tono marrón oscuro a negro, debido a que las especies de *Listeria* tienen la capacidad de hidrolizar la esculina, así como también los microorganismos identificados como “Organismo similar a *Listeria*” [LLO], ya que es un indicador de la presencia de *L. monocytogenes* y otros microorganismos que presentan esta característica bioquímica típica, más no exclusiva de *Listeria spp.* empleándose pruebas LLO en medios convencionales de enriquecimiento y aislamiento (74).

USDA – FSIS mediante la guía “Aislamiento e identificación de *L. monocytogenes* en carne roja, aves de corral, productos listos para el consumo, siluriformes (pescado) y huevos, y muestras ambientales”, recomienda medios de enriquecimiento UVM, Agar Oxford Modificado (MOX), como segundo enriquecimiento caldo de enriquecimiento de *Listeria* tamponado (MOPS-BLEB), y por último las presuntas colonias asiladas en las primeras etapas se inoculan en caldo de enriquecimiento MOX para su confirmación (82), ya que, los métodos de siembra directa que no se basan en el enriquecimiento, incluyendo lo establecido en ISO 11290-2 no son los más adecuados para la detección en bajos niveles de contaminación por *L. monocytogenes* (23) (74) .

Método diagnóstico con Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Los métodos moleculares suministran ventajas como periodos de tiempo más cortos, alcanzando una alta sensibilidad, incrementando la posibilidad de detectar los microorganismos, con alternativas adicionales como la determinación y cuantificación de manera simultánea, a partir de una secuencia de ADN específica, por medio de moléculas fluorescentes logrando evidenciar su amplificación en tiempo real, esto en lo que respecta a la PCR cuantitativa (qPCR). Un aspecto relevante en las técnicas moleculares para detectar *L. monocytogenes*, es que para

la primera etapa del procedimiento o de pre enriquecimiento se requiere un tiempo adicional entre 24 a 48 horas de procesamiento, no obstante, iQCheck combinado con kits de qPCR reduce el tiempo de preenriquecimiento entre 18 h a 1 día de análisis (81).

El fundamento de la PCR comprende la amplificación de una secuencia de ADN bicatenaria mediante un proceso enzimático, inicialmente la enzima ADN polimerasa interviene mediante una reacción que logra producir una cadena de ADN complementaria a la cadena monocatenaria inicial, esta síntesis es posible mediante un cebador de oligonucleótidos o secuencia corta de ADN con uno de sus extremos 3´OH libre para permitir el inicio de la reacción. Así que, se cuenta con una mezcla maestra compuesta por dos cebadores oligonucleótidos que delimitarán la secuencia que se busca amplificar; la enzima ADN polimerasa (Taq - polimerasa termoestable) que interviene en la síntesis de la nueva cadena de ADN uniendo los ácidos desoxirribonucleicos complementarios (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), magnesio (Mg 2+), agua tridestilada y *buffer* 10X PCR. Esta reacción es generada de acuerdo a un protocolo basado en temperaturas en el siguiente orden: a) desnaturalización del ADN bicatenario en cadenas simples, b) hibridación con las regiones complementarias del ADN bicatenario con los cebadores y c) síntesis o extensión del ADN de la región delimitada por los cebadores para su polimerización, así que, por cada ciclo sucesivo de las 3 etapas mencionadas, el número de secuencias se duplica logrando un aumento exponencial de la región ADN seleccionada (4,83). Las secuencias ADN diana para el diagnóstico de *L. monocytogenes* son los genes *prfA*, *iap*, *hly* y *ADNr* (subunidad 16S) (16,84), por otro lado, se sugiere que es posible mejorar el umbral de detección del método, mediante el uso de cebadores o primers selectivos con secuencias de ARN ribosómico específicas de *L. monocytogenes* (4).

Debido a que cada ciclo inicia con la desnaturalización a temperaturas altas, esto implica que se requiere una enzima nueva para finalizar un ciclo, así que, como se mencionó anteriormente se cuenta actualmente con el descubrimiento e inclusión de la *Thermus aquaticus* (Taq) ADN polimerasa termoestable, logrando superar esta

limitación y facilitar su transición a la automatización de este método diagnóstico, disminuyendo la probabilidad de error, el personal operativo, mejorando su especificidad y sensibilidad (4).

Método de Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE)

La técnica diagnóstica PFGE se ha empleado para la subtipificación de aislados de microorganismos hasta el nivel de especie a partir del ADN de la bacteria, en donde en los estándares de este método se requiere de fragmentos del mismo ADN en diferentes tamaños, empleando enzimas de restricción que separan de manera precisa fragmentos de tamaño mayor a 40 kilobases de ADN, los cuales son identificados cuando pasan a través de un gel de agarosa (74,79,84). Cada uno de los perfiles de PFGE pueden confrontarse para establecer el grado de parentesco, así que FSIS sugiere que los establecimientos de procesamiento pueden contemplar el uso de PFGE para realizar análisis comparativos entre los resultados de control de la presencia de *L. monocytogenes* y establecer si se está presentando un hábitat propicio o corresponde a contaminación cruzada durante el proceso (74). La tipificación de *L. monocytogenes* en cepas del serotipo 4b se logró mediante la PFGE, debido a que es un método discriminatorio y de reproducibilidad superior (85), sin embargo, cuenta con la desventaja de requerir un procedimiento que emplea entre 2 a 3 días y las enzimas de restricción y el equipo requerido representan altos costos. Por lo anterior, el Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, de acuerdo a sus siglas en inglés) en USA, estableció mecanismos de control como el programa PulseNet, una red de laboratorios en donde se estandarizaron protocolos para la PFGE de *Listeria* emplea enzimas endonucleasas *Apal* y *Ascl* (3,84,86) estandarizando este método. En consecuencia, el CDC desde 2017 está creando bases de datos obtenidos a partir de estos perfiles empleando la PFGE con fines de investigación epidemiológica (79,84).

Así que, mediante la combinación de las enzimas *Apal* y *Ascl*, se obtiene un patrón de bandas de ADN, en donde posteriormente se compara con cada aislado clasificándolos en diferentes pulsotipos. En adición, la PFGE es una técnica sensible

con la capacidad de identificar alteraciones genéticas, transposiciones y deleciones causantes de los perfiles distintivos en las variantes de cepas (84).

Método de diagnóstico utilizando hibridación de ADN

La hibridación es un método diagnóstico molecular que se basa en las características o diferencias del genoma y no son dependientes de enzimas que permitan una identificación o la expresión de factores antigénicos (87).

La hibridación es una técnica fundamentada en la detección y localización de secuencias objeto de estudio en el microorganismo, siendo una técnica que cuenta con el atributo de presentar una alta sensibilidad, tiempos de procesamiento hasta de 48 horas, y lograr diferenciaciones específicas de especie y subespecie (49).

Detectar la secuencia diana es posible empleando una sonda de oligonucleótidos como una cadena complementaria a la secuencia de ADN en estudio, la cual contiene un marcador fluorescente, como las sondas biotiniladas o las sondas de digoxigenina permitiendo su detección (88). En la actualidad existen diferentes pruebas de hibridación de ADN comerciales, las cuales han demostrado precisión y sensibilidad, siendo utilizadas de manera habitual en el análisis de alimentos (89). Por otra parte, existen pruebas disponibles comercialmente con el principio fundamentado en la hibridación de sondas de ADN marcadas con ARNm del agente viral, garantizando identificar únicamente las células aptas (87).

Métodos diagnósticos que han sido utilizados en plantas de beneficio animal

Se estimó por cada periodo la frecuencia del empleo de las diferentes técnicas diagnósticas en la totalidad de los artículos, para el periodo entre el año 1991 y el año 2001 (Figura 7), se observó que los primeros métodos utilizados para determinar la presencia de *L. monocytogenes*, a partir de muestras tomadas en la superficie de la canal y posteriormente al alistamiento de la misma en la última etapa del proceso en una planta de beneficio animal, se reflejó en un 67% con el aislamiento microbiológico y 33% mediante Electroforesis en Gel de Campo Pulsado

(PFGE).

Durante el segundo periodo entre el año 2002 y el año 2021 en correspondencia a los 19 artículos analizados (Figura 8), se emplearon las mismas técnicas diagnósticas en referencia al periodo anterior como el aislamiento microbiológico, y la PCR 47% y 32% respectivamente. Adicionalmente a estos métodos diagnósticos se evidenció el empleo de la PFGE en un 19% y Barrientos en el año 2015, en su investigación a partir de la toma de muestras en superficies de canales de porcinos en una planta de beneficio animal en Perú, luego del aislamiento microbiológico, incluyó en su estudio la hibridación como método diagnóstico molecular logrando identificar el patógeno (49), en donde por último la hibridación corresponde a un 2% como método empleado en la totalidad de estudios para el segundo periodo.

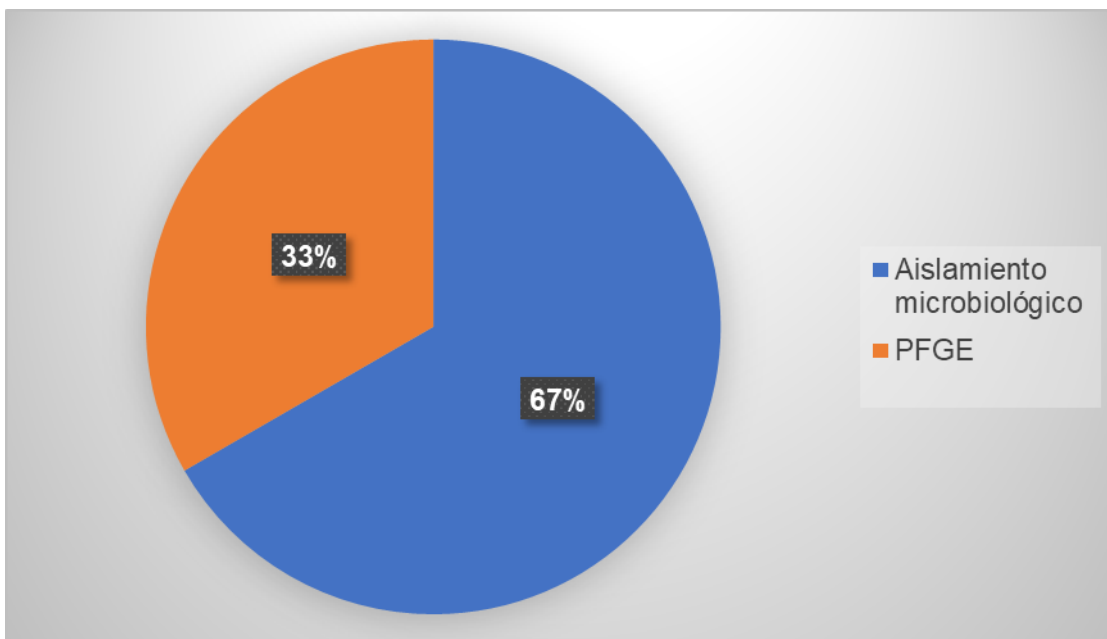


Figura 7. Frecuencia métodos diagnósticos periodo 1991 - 2001.

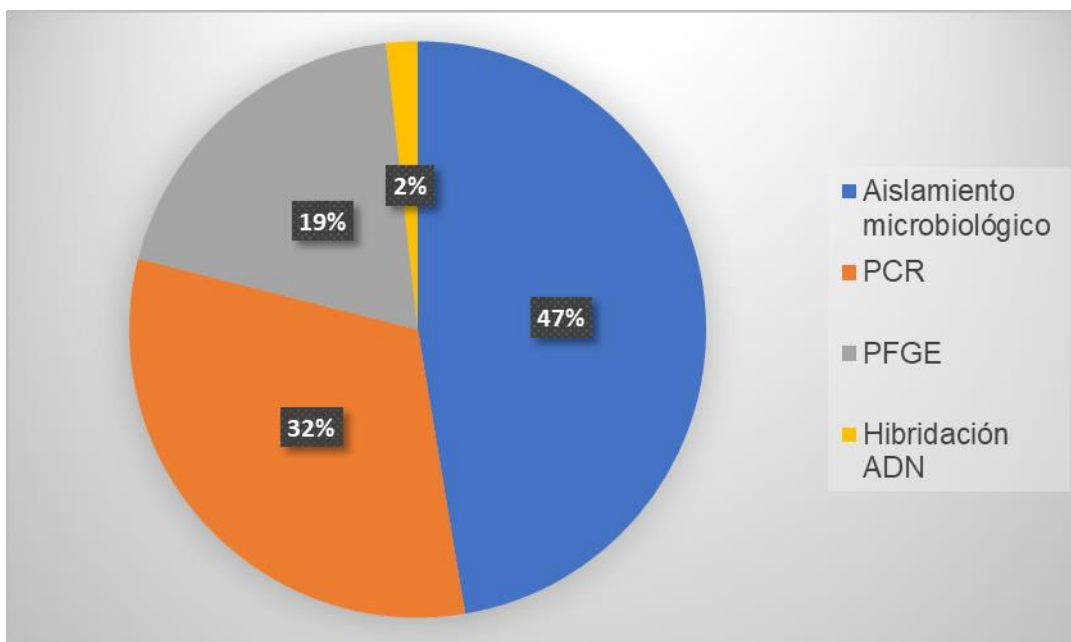


Figura 8. Frecuencia métodos diagnósticos periodo 2002 – 2021.

A partir de los textos estudiados, se consolidan las características y procedimientos que tuvieron en común las investigaciones realizadas en referencia a muestras tomadas directamente en la canal y en plantas de beneficio animal (Figura 9), elementos que son importantes para considerar en futuros estudios con el objeto de detectar *L. monocytogenes* en productos cárnicos en Colombia.

Este análisis nos permite dilucidar que, a través del tiempo, el número de técnicas empleadas de manera específica en plantas de beneficio animal, en referencia a los dos periodos estudiados, los métodos diagnósticos más utilizados son el aislamiento microbiológico y la PCR, considerando que para el último periodo entre 2002 y 2021, se observa la implementación de nuevas alternativas, aunque con un porcentaje mucho menor. Es probable que, en referencia a las características de cada técnica, estas son determinantes para que las plantas de beneficio animal opten por realizar verificaciones asociados a la presencia de *L. monocytogenes* incluidos en los programas de gestión de calidad y control de sus procesos, de lo cual, de acuerdo con la normativa nacional es relevante el hecho de no incluir a este patógeno como notificación oficial.

Las evidencias en diferentes estudios, así como también las descritas por Rivera *et al.* (2006), mencionan similitudes importantes en cuanto al diagnóstico mediante el

análisis tradicional microbiológico y por PCR múltiple. Sin embargo, el último cuenta con características importantes para obtener resultados rápidos y específicos en su aplicación diagnóstica en plantas de beneficio a partir de diferentes tipos de muestras (14,19), logrando resultados en 8 horas, mientras que en la técnica microbiológica se emplearon hasta 8 días (4,16,84).

Por otra parte, es importante considerar que los costos son mucho menores en el aislamiento microbiológico respecto a la PCR. El aislamiento microbiológico es el método de referencia en los seguimientos epidemiológicos y vigilancia de brotes, es una técnica muy sensible y no requiere equipos tecnificados, no obstante, cuenta con la probabilidad del crecimiento de microorganismos contaminantes enmascarando la presencia de los microorganismos investigados, inclusive el hecho de omitir variantes atípicas o lo que representa la experticia para interpretar el crecimiento en agares selectivos y diferenciales (84).

Tabla 11. Métodos diagnósticos empleados en plantas de beneficio animal, a partir del muestreo de la superficie de la canal *in situ*.

METODO DIAGNOSTICO	PRINCIPIO	PROCEDIMIENTOS Y MEDIOS ALTERNATIVOS EMPLEADOS	REFERENCIAS
Aislamiento Microbiológico	Muestra en medio de enriquecimiento recuperando organismos incluso estresados, lo que permite el crecimiento de la bacteria alcanzando niveles detectables mínimo de 10 ⁴ ufc/ml y se extienden las colonias obtenidas en un medio selectivo de cultivo, confirmación bioquímica	<p>Medios de enriquecimiento para <i>Listeria monocytogenes</i>, medio bacteriológico y analítico-BAM (FDA): Caldo Fraser Caldo tamponado (BLEB) Caldo de enriquecimiento selectivo para <i>Listeria</i> modificado (UVM) Oxoid (Basingstoke, Reino Unido) Incubación durante 24-48 h a 37 °C.</p> <p>Medios para el aislamiento: PALCAM (polimixina, acriflavina, cloruro de litio, ceftazidima, manitol y esculina) Oxford Oxoid Incubación durante 24-48 h a 37 °C.</p> <p>Confirmación: Agar nutritivo con un 5% de sangre de cordero (USDA), vertiéndolo para formar un lecho fino sobre agar base nutritivo. Sembrar formando una estría con <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 1803 y <i>Rhodococcus equi</i> NCTC 1621, incubar a 35 °C. toda la noche. El resultado es positivo cuando se observa un aumento de la zona de hemolisis entre los dos cultivos.</p> <p>Identificación de colonias: Pruebas bioquímicas y el test CAMP.</p> <p>Identificación de especies de <i>Listeria sp</i>: API-<i>Listeria</i> kits (Bio-Merie'ux, Rhone, France)</p>	<p>Van den Elzen <i>et al.</i> (1993); Korsak <i>et al.</i> (1998); Ojeniyi <i>et al.</i> (2000); Miettinen <i>et al.</i> (2001); Rho <i>et al.</i> (2001); Kanuganti <i>et al.</i> (2002); Betancourt <i>et al.</i> (2004); Rivera <i>et al.</i> (2006); Barros <i>et al.</i> (2007); Guerini <i>et al.</i> (2007); Villamil <i>et al.</i> (2007); Wesley <i>et al.</i> (2008); Elen <i>et al.</i> (2009); Hellström <i>et al.</i> (2010); Sakaridis <i>et al.</i> (2011); Galvao <i>et al.</i> (2012); Rahimi <i>et al.</i> (2012); Barrientos <i>et al.</i> (2015); Palma <i>et al.</i> (2016); Ayaz <i>et al.</i> (2018); Figueroa <i>et al.</i> (2019); Moura <i>et al.</i> (2019); Demaitre <i>et al.</i> (2020); Jalusa <i>et al.</i> (2020)</p>
PCR	Amplificación de una secuencia de ADN bicatenaria diana mediante un proceso enzimático, inicialmente la enzima ADN polimerasa interviene mediante una reacción que logra producir una cadena de ADN complementaria a la cadena monocatenaria inicial	<p>Volumen total: 50 µL Muestra: 0,5 ng del ADN de la muestra Cebadores o primers: 50 pmol de cada uno (U1, L11, Lis-1 y Lis-2) - amplifican la región del gen 16S rRNA y la región del gen que codifica para el listeriolisina O (hly A) Replicación ADN (elongación): 1,25 U de Taq DNA polimerasa Amplificación: muestra, primers, Taq-polimerasa, 200 µM de cada nucleótido (dATP, dCTP, dTTP y dGTP), 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl y 6,5 mM de MgCl₂ Termociclador (9700 Applied Biosystems, EUA): Desnaturalización 94°C × 4 min, luego 25 ciclos 94°C × 1 min Hibridación 60°C × 1 min Extensión 72°C durante 1 min Amplificación final 72°C durante 5 min Mantenimiento: 4°C la temperatura final Separación de productos: mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% (60V × 1,5 h), previamente teñidos con Tris-borato-EDTA (TBE) Visualización: sistema Gel Doc 1000 (Bio-Rad, Richmond, California, EUA) ADN de peso molecular VI (Boehringer Mannheim Biochemicals): comparación del tamaño de bp Agua libre de DNasa como control negativo y positivo.</p>	<p>Kanuganti <i>et al.</i> (2002); Rivera <i>et al.</i> (2006); Guerini <i>et al.</i> (2007); Wesley <i>et al.</i> (2008); Hellström <i>et al.</i> (2010); Sakaridis <i>et al.</i> (2011); Rahimi <i>et al.</i> (2012); Palma <i>et al.</i> (2016); Ayaz <i>et al.</i> (2018); Figueroa <i>et al.</i> (2019); Moura <i>et al.</i> (2019); Demaitre <i>et al.</i> (2020)</p>

<p>Subtipificación de aislados de microorganismos hasta el nivel de especie, a partir del ADN de la bacteria, desde estos fragmentos de ADN en diferentes tamaños, empleando enzimas de restricción que separan de manera precisa fragmentos de tamaño mayor a 40 kilobases de ADN, los cuales son identificados cuando pasan a través de un gel de agarosa</p>	<p>Protocolo referente: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades CDC (PulseNet 2009) y PulseNet</p> <p>Enzimas de restricción: Ascl y Apal (New England BioLabs, Massachusetts, EE.UU.)</p> <p>*Los productos de escisión se separaron en un gel de agarosa al 1% (Pulsed Field Agarose, BioRad)</p> <p>Tampón TBE 0,5X (base de Tris 0,9M, ácido bórico 0,9M, EDTA 0,02M, pH 8,0)</p> <p>Tiempo: 19 horas (6 V/cm-1)</p> <p>Tiempos de pulso: inicial 4 segundos y final 40 segundos (Equipo de electroforesis de campo pulsado)</p> <p>Cepa referencia: Salmonella Braenderup (ATCC BAA-664), escindida con la enzima XbaI (Roche Diagnostics)</p> <p>Tinción del gel: solución de bromuro de etidio (10mg/mL) diluida (1:10.000) en agua destilada</p> <p>Captura de imágenes: Equipo Imagequant (Gelifesciences) captura bajo luz UV-travioleta</p> <p>Perfil de macro restricción se analizó visualmente y cada posición de banda se determinó por comparación con la cepa de referencia. Los aislados con una banda de diferencia se consideraron de diferentes pulstipos</p> <p>Software Análisis: Molecular Analyst BioNumerics v. 3.0 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica), análisis de conglomerados y la construcción de dendogramas</p>	<p>Ojeniyi et al. (2000); Miettinen et al. (2001); Guerini et al. (2007); Wesley et al. (2008); Hellström et al.(2010); Galvao et al. (2012); Palma et al.(2016); Demaitre et al. (2020)</p>
<p>Detección y localización de una secuencia diana, empleando una sonda de oligonucleótidos, como una cadena complementaria a la secuencia de ADN diana, la cual contiene un marcador fluorescente, como lo son las sondas biotiniladas o las sondas de digoxigenina permitiendo su detección</p>	<p>Kit GeneQuence® <i>L. monocytogenes</i> (Neogen)</p> <p>Secuencia de ADN sintetizada</p> <p>Tampón SSC 5x (sonda marcada)</p> <p>Sumergir el soporte sólido con el ADN monocatenario diana en tampón SSC 5x</p> <p>Tiempo: 14-16 h</p> <p>Lavado: tampón SSC</p> <p>Reasociación competitiva: entre de ADN diana no marcado y la sonda de ADNm marcada</p> <p>ADNm de referencia: longitud larga</p> <p>Los filtros se seleccionan con un medidor Geiger-Muller</p> <p>Negativa: Absorbancia (A450) < a 0,10</p> <p>Positiva: ≥ 0,10</p> <p>Confirmación: cultivo estándar y bioquímica.</p>	<p>Barrientos et al. (2015)</p>

Por otro lado, como se describió anteriormente la PFGE cuenta con la capacidad de subtipificar aislados, sin embargo, requiere tiempo, costos y mano de obra adicionales en comparación con otras técnicas moleculares fundamentadas en la amplificación de fragmentos como Polimorfismo de longitud de fragmento amplificado (AFLP) (40,79). Así como también, la hibridación de ADN, es una técnica molecular que se convirtió en otra alternativa a las técnicas microbiológicas o serológicas, se caracteriza por ser una técnica rápida y precisa para el diagnóstico (87,90).

A partir de los métodos diagnósticos analizados, la literatura seleccionada evidencia avances importantes para tener en cuenta en el contexto de la inocuidad y controles sanitarios en las plantas de beneficio animal. Jalusa *et al.* (2020) evidenciaron en su estudio, una prevalencia baja para la detección de *L. monocytogenes* debido al estudio diseñado por los investigadores observando que presentó una baja capacidad de detección, siendo el aislamiento microbiológico la técnica seleccionada, aunque aseveran que se ha evidenciado en otros estudios prevalencias altas concentradas en una sola planta de beneficio animal, lo cual afirma que las malas prácticas de desinfección de la planta, prácticas de manufactura inadecuadas, como utilización de cuchillos y utensilios, así como también, la formación de biopelículas representan un factor importante para la contaminación de las canales durante su procesamiento (91), reafirmando que *L. monocytogenes* cuenta la habilidad de adaptarse a temperaturas bajas y ambientes húmedos, los cuales son ambientes característicos y permanentes en las plantas de beneficio y procesamiento de cárnicos (85,90,92–94).

Es posible que exista una transferencia de este patógeno a las canales de bovinos desde las primeras etapas del proceso como por ejemplo durante el desollado manual (93)(85); en referencia a las canales de porcinos las áreas más contaminadas son las ventrales y anteriores, probablemente debido al lavado inadecuado de los animales durante su permanencia en las zonas sucias de la planta de beneficio o la contaminación de la canal durante la evisceración. En adición, Demaitre *et al.* (2020) evidencian en su investigación mediante PFGE la presencia de una cepa persistente y dominante en la planta de procesamiento

contaminando las canales y en más de la mitad de los aislados obtenidos en diferentes plantas de beneficio animal (85,93,95).

Es importante considerar que *L. innocua* hace parte del espectro de microorganismos que se encuentran en ambientes de plantas de procesamiento, así como también la presencia de *L. welshimeri* en zonas asociadas a tanques de refrigeración, así que, según Moura *et al.* (2019) a partir de la identificación de *L. innocua* mediante PCR en productos almacenados a bajas temperaturas o congelados, los autores aseveran que es posible que se trate de *L. monocytogenes*, en donde el estrés como consecuencia de estos factores ambientales influyen en la expresión reducida de *hly A* (15,16,84,90,94), por lo anterior, la identificación de diversas especies de *Listeria* en las áreas de procesamiento denota que estos son lugares que favorecen el crecimiento del patógeno en estudio (94).

Es relevante, que las características adicionales de *L. monocytogenes* con respecto a los serotipos encontrados en plantas de procesamiento de productos cárnicos, algunos estudios mencionan en sus hallazgos el serotipo 4b identificado mediante PCR y PFGE , como el serotipo más frecuente, seguido de los serotipos 1/2c y 1/2a (85,86,96). En consecuencia, la importancia de lograr estos hallazgos para la salud pública es su relación con casos de listeriosis en humanos, en donde más del 95% y los principales brotes de Listeriosis son originados por *L. monocytogenes* (40,58,85,86), así como también, el hallazgo frecuente de cepas del serotipo 1/2c en alimentos aunque no sean recurrentes en aislamientos de origen clínico.

Los hallazgos evidenciados en la literatura estudiada, permitieron entender la importancia de realizar actividades más eficaces de saneamiento y desinfección de las plantas de beneficio animal, garantizar el cumplimiento continuo de las buenas prácticas de manufactura y por consiguiente, sugerir los seguimientos y controles microbiológicos tanto en superficies de cada área de procesamiento, como de utensilios y de la canal, considerando que estos son ambientes propicios para el crecimiento de *Listeria*, sus diferentes serotipos y entre estos *L. monocytogenes*.

Existen diferentes factores de riesgo ya estudiados y evidenciados en publicaciones científicas determinantes para la contaminación cruzada durante el proceso de productos cárnicos, lo cual de acuerdo a la normativa Colombiana, aunque no se

establece un direccionamiento de cumplimiento para los controles oficiales de *L. monocytogenes*, las entidades internacionales de control de enfermedades y sus regulaciones para la salud pública, cuentan con manuales y directrices de obligatoriedad, que pueden ser parte del modelo nacional y de los establecimientos, como iniciativa y un acercamiento de las áreas de gestión de calidad e inocuidad de productos cárnicos, para alcanzar estándares internacionales de exportación y nuevas oportunidades comerciales para el país. De lo anterior, la pertinencia de haber realizado esta revisión de literatura, evidencia la importancia de implementar métodos de diagnóstico para los productos cárnicos en canal procesados en las plantas de beneficio animal en Colombia; esto significa que los organismos de regulación sanitaria, los profesionales en las plantas de beneficio animal y la academia, deben tener como propósito común un trabajo conjunto enfocando esfuerzos para garantizar la producción de productos cárnicos inocuos, la seguridad alimentaria y el crecimiento productivo de Colombia.

6. Conclusiones

La literatura seleccionada evidenció que los métodos de diagnóstico empleados con mayor frecuencia para detectar la presencia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos procesados en plantas de beneficio animal, a partir de muestras tomadas directamente en la superficie de la canal *in situ*, son el aislamiento microbiológico y la PCR en los dos periodos de las publicaciones referenciadas. No obstante, en el segundo periodo entre el año 2002 y 2021 se utilizaron otras alternativas como la PFGE y la Hibridación de ADN en un 20% y 2% respectivamente.

La normativa sanitaria internacional como en la Unión Europea, Estados Unidos y sus países afiliados establecen la notificación obligatoria de *L. monocytogenes*, sin embargo, en Colombia la reglamentación sanitaria aún no establece controles oficiales y de notificación obligatoria de este patógeno, por lo tanto, las entidades de información epidemiológica nacional aseguran que existen subregistros asociados a enfermedades transmitidas por alimentos sin lograr la identificación asertiva del origen microbiológico del total de los brotes reportados, en donde, en los últimos reportes ETA del SIVIGILA del INS evidencian para el periodo entre el año 2020 y 2022 de 2 a 3 brotes por cada reporte publicado de un total de 268 y 602 brotes respectivamente en cada año, los cuales asocian como agente etiológico a *L. monocytogenes*, dentro de los cuales no se ha reportado la presencia de otras especies de *Listeria* spp.

Adicionalmente, los mecanismos de control de la inocuidad de los alimentos como el sistema de APPCC se implementa en plantas de beneficio animal con fines de exportación de productos cárnicos, estándar de carácter obligatorio posterior a la autorización sanitaria del establecimiento bajo el Decreto 1500 de 2007, en consecuencia, en Colombia el número de plantas de beneficio animal que procesan actualmente tipo exportación representan el 8,1% del total de establecimientos en funcionamiento a nivel nacional.

Considerando los reportes de entidades oficiales en Colombia de la prevalencia de *L. monocytogenes* en carnes de res y de cerdo es de un 2,5% y en productos derivados cárnicos 5,08% para el año 2002, así como también, otros estudios mencionan prevalencias de algunas especies de *Listeria* spp. asociadas a productos cárnicos sustentan un mayor porcentaje a la presencia *L. monocytogenes* 29%, seguida de *L. innocua* 21% y *L. ivanovii* 4%. Este microorganismo cuenta con factores de virulencia expresados que se adaptan a las condiciones ambientales de las plantas de beneficio animal y post procesos, en donde se identificaron cepas que permanecen y se transfieren a lo largo del tiempo y adicionalmente, se detectaron los serotipos 4b, 1/2c y 1/2a de *L. monocytogenes* asociados a Listeriosis en humanos transmitida por alimentos. Por lo anterior, se resalta la importancia de proponer estudios preliminares que permitan determinar la presencia de este microorganismo patógeno específicamente en plantas de beneficio animal, y orienten a la consolidación de una base que sustente la pertinencia de establecer normativamente unos criterios microbiológicos, ya que, estas exigencias pueden representar un incremento en los costos de los programas de gestión de la inocuidad de alimentos en las plantas de beneficio animal. Si bien es cierto, que en otros países se cuenta con diversos métodos diagnósticos para detectar la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos empleados de carácter obligatorio dentro de sus procesos.

7. Recomendaciones

Es importante realizar estudios de identificación y seguimiento a la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos, desde el contexto de las entidades de regulación sanitaria, sectores productivos y la industria de productos cárnicos.

Las evidencias demuestran la persistencia de una variedad de serotipos de *L. monocytogenes* en los ambientes de plantas de beneficio animal y post proceso de productos cárnicos. Por lo tanto, se recomienda realizar seguimientos a las estrategias implementadas de la eficacia de los procedimientos de saneamiento y desinfección de instalaciones y equipos, así como también, de las buenas prácticas de manufactura, replanteando la oportunidad de implementar el sistema de ACCPP como requisito normativo en la totalidad de las plantas de beneficio animal, para garantizar la calidad e inocuidad de los productos cárnicos, antes de la distribución de la canal a los expendios.

En el presente trabajo se logró evidenciar que no existen estudios preliminares o una normativa en Colombia, que establezcan o determinen la pertinencia del control obligatorio de *L. monocytogenes* en productos cárnicos en canal en las plantas de beneficio animal, si bien se cuenta con la regulación oficial de cárnicos procesados o derivados cárnicos, es importante considerar que el INS menciona en sus reportes de epidemiológicos que existe un subregistro de brotes asociados a ETA en relación con este patógeno, por lo tanto, se recomienda realizar estudios *in situ* que permitan fortalecer los seguimientos epidemiológicos que garanticen la inocuidad y seguridad alimentaria del país.

8. Referencias

1. Mammina C, Aleo A, Romani C, Pellissier N, Nicoletti P, Pecile P, et al. Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates from Human Listeriosis Cases in Italy. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2009 Sep;47(9):2925–30. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00102-09>
2. FDA Food and Drug Administration, Department of Agriculture's Food Safety and Inspection Service. Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health From Foodborne *Listeria monocytogenes* Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods [Internet]. *Perspectives chinoises* 2003 p. 74–84. Available from: <https://www.fda.gov/food/cfsan-risk-safety-assessments/quantitative-assessment-relative-risk-public-health-foodborne-listeria-monocytogenes-among-selected>
3. Wiedmann M. Molecular Subtyping Methods for *Listeria monocytogenes*. *J AOAC Int* [Internet]. 2002 Mar 1;85(2):524–32. Available from: <https://academic.oup.com/jaoac/article/85/2/524-532/5656822>
4. Norton DM. Polymerase Chain Reaction-Based Methods for Detection of *Listeria monocytogenes*: Toward Real-Time Screening for Food and Environmental Samples. *J AOAC Int* [Internet]. 2002 Mar 1;85(2):505–15. Available from: <https://academic.oup.com/jaoac/article/85/2/505-515/5656697>
5. Barra-Carrasco J, Hernández-Rocha C, Ibáñez P, Guzmán-Durán AM, Álvarez-Lobos M, Paredes-Sabja D. Esporas de *Clostridium difficile* y su relevancia en la persistencia y transmisión de la infección. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2014 Dec [cited 2021 Feb 28];31(6):694–703. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014000600010&lng=en&nrm=iso&tlng=en
6. Kim J-W, Siletzky RM, Kathariou S. Host Ranges of *Listeria* -Specific Bacteriophages from the Turkey Processing Plant Environment in the United States. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2008 Nov;74(21):6623–30. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01282-08>
7. Pan Y, Breidt F, Kathariou S. Competition of *Listeria monocytogenes* Serotype 1/2a and 4b Strains in Mixed-Culture Biofilms. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2009 Sep 15;75(18):5846–52. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00816-09>
8. Instituto Nacional de Salud. Semana Epidemiológica 04 2019 [Internet]. *Boletín Epidemiológico Semanal*. Bogota colombia; 2019. 1–26 p. Available from: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018Boletín epidemiológico semana 52.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018Boletin%20epidemiologico%20semana%2052.pdf)
9. Ministerio de Protección Social. Decreto Número 1500 De 2007 [Internet].

Control COLOMBIA; 2007 p. 1–41. Available from:
[https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resolucion 2905 de 2007.PDF](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resolucion%202905%20de%202007.PDF)

10. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 240 de 2013. Requisitos sanitarios para el funcionamiento de las plantas de beneficio animal de las especies bovina, bufalina y porcina, planta de desposte y almacenamiento, comercialización, expendio, transporte, importación o exportación de [Internet]. 2013 p. 114. Available from:
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/ride/de/dij/resolucion-0240-de-2013.pdf>
11. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 241 de 2013. Requisitos sanitarios que deben cumplir las plantas especiales de beneficio de aves de corral. [Internet]. 2013. Available from: https://fenavi.org/wp-content/uploads/2019/02/Resolucion_0241_de_2013.pdf
12. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 242 de 2013. Requisitos sanitarios para el funcionamiento de las plantas de beneficio de aves de corral, desprese y almacenamiento, comercialización, expendio, transporte, importación o exportación de carne y productos cárnicos comestibles. [Internet]. 2013. Available from:
[https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolución 0242 de 2013.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci3n%200242%20de%202013.pdf)
13. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 2690 del 2015 [Internet]. COLOMBIA; 2015 p. 0–3. Available from:
[https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolución 2690 de 2015.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci3n%202690%20de%202015.pdf)
14. Kanuganti SR, Wesley I V., Reddy PG, McKean J, Hurd HS. Detection of *Listeria monocytogenes* in Pigs and Pork†. *J Food Prot* [Internet]. 2002 Sep 1;65(9):1470–4. Available from:
<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/65/9/1470/167378/Detection-of-Listeria-monocytogenes-in-Pigs-and>
15. Deneer HG, Boychuk I. Species-specific detection of *Listeria monocytogenes* by DNA amplification. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1991 Feb;57(2):606–9. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.57.2.606-609.1991>
16. Rivera P. FH, Wesley I, Hurd S, Simoes D, Sosa A, Rivera S. Determinación microbiológica y molecular de *Listeria* sp. y *Listeria monocytogenes* en cerdas a nivel de una planta beneficiadora en EUA. *Rev Cient la Fac Ciencias Vet la Univ del Zulia* [Internet]. 2006;16(3):297–307. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000300012&lng=es.
17. International Organization for Standardization. Microbiology of food and

animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method (ISO 11290-1:1996). SUIZA; 1996.

18. Chasseignaux E, Toquin M-T, Ragimbeau C, Salvat G, Colin P, Ermel G. Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from the environment, raw meat and raw products in two poultry- and pork-processing plants. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2001 Nov 23;91(5):888–99. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2001.01445.x>
19. Wesley I V., Harmon KM, Dickson JS, Schwartz AR. Application of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for the Simultaneous Confirmation of *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria* Species in Turkey Sample Surveillance†. *J Food Prot* [Internet]. 2002 May 1;65(5):780–5. Available from: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/65/5/780/168234/Application-of-a-Multiplex-Polymerase-Chain>
20. Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, Rusniok C, Amend A, Baquero F, et al. Comparative Genomics of *Listeria* Species. *Science* (80-) [Internet]. 2001 Oct 26;294(5543):849–52. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1063447>
21. MELONI D, PIRAS F, MUREDDU A, FOIS F, CONSOLATI SG, LAMON S, et al. *Listeria monocytogenes* in Five Sardinian Swine Slaughterhouses: Prevalence, Serotype, and Genotype Characterization. *J Food Prot* [Internet]. 2013 Nov 1;76(11):1863–7. Available from: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/76/11/1863/173649/Listeria-monocytogenes-in-Five-Sardinian-Swine>
22. Oswaldi V, Dzierzon J, Thieme S, Merle R, Meemken D. Slaughter pigs as carrier of *Listeria monocytogenes* in Germany. *J fur Verbraucherschutz und Leb* [Internet]. 2021;16(2):109–15. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00003-021-01322-4>
23. International Organization for Standardization. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. Part 1: Detection method ISO-11290-1-2017. SUIZA; 2017.
24. Torres K, Poutou R, Carrascal A, Sierra S, Mercado M. Validación de PCR para detección de *Listeria monocytogenes* en carnes de res y pollo. *Rev MVZ Córdoba* [Internet]. 2004 Jul 1;9:414–27. Available from: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/483>
25. 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. *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2004;27–39. Available from:

<http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3135997>

26. Villamill D, Gallego M. MI, Torres OA, Ramírez MF. *Listeria monocytogenes* en canales de bovinos cebú en una planta de sacrificio de la sabana de Bogotá (Colombia). *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2007 Jun 30;10(1). Available from: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/570>
27. Ministerio de Salud y Protección Social - INS. Evaluación de riesgo de *Listeria monocytogenes* en salchicha, jamón, mortadela y salchichón en Colombia [Internet]. Bogotá Colombia; 2015. Available from: <http://www.ins.gov.co/Paginas/inicio.aspx>.
28. Freitag NE, Port GC, Miner MD. *Listeria monocytogenes* — from saprophyte to intracellular pathogen. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2009 Sep 3;7(9):623–8. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrmicro2171>
29. Zahedi Bialvaei A, Sheikhalizadeh V, Mojtahedi A, Irajian G. Epidemiological burden of *Listeria monocytogenes* in Iran. *Iran J Basic Med Sci* [Internet]. 2018 Aug;21(8):770–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30186562>
30. Rahimi E, Shakerian A, Raissy M. Prevalence of *Listeria* species in fresh and frozen fish and shrimp in Iran. *Ann Microbiol* [Internet]. 2012 Mar 18;62(1):37–40. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13213-011-0222-9>
31. Mateus T, Silva J, Maia RL, Teixeira P. Listeriosis during Pregnancy: A Public Health Concern. *ISRN Obstet Gynecol* [Internet]. 2013 Sep 26;2013:1–6. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/851712/>
32. Momtaz H, Yadollahi S. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh seafood samples in Iran. *Diagn Pathol* [Internet]. 2013 Dec 13;8(1):149. Available from: <https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1596-8-149>
33. Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2010 Jan;16(1):16–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X1461778X>
34. Matle I, Mbatha KR, Madoroba E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. *Onderstepoort J Vet Res* [Internet]. 2020 Oct 9;87(1):1–20. Available from: <http://www.ojvr.org/index.php/OJVR/article/view/1869>
35. Rossmanith P, Wagner M. The challenge to quantify *Listeria*

- monocytogenes- a model leading to new aspects in molecular biological food pathogen detection. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2011 Mar;110(3):605–17. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2010.04915.x>
36. Larsen MH, Kallipolitis BH, Christiansen JK, Olsen JE, Ingmer H. The response regulator ResD modulates virulence gene expression in response to carbohydrates in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol* [Internet]. 2006 Sep;61(6):1622–35. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2958.2006.05328.x>
 37. Conficoni D, Losasso C, Cortini E, Di Cesare A, Cibin V, Giaccone V, et al. Resistance to Biocides in *Listeria monocytogenes* Collected in Meat-Processing Environments. *Front Microbiol* [Internet]. 2016 Oct 19;7(October):1–9. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01627/full>
 38. Miettinen MK, Siitonen A, Heiskanen P, Haajanen H, Björkroth KJ, Korkeala HJ. Molecular Epidemiology of an Outbreak of Febrile Gastroenteritis Caused by *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Rainbow Trout. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1999 Jul;37(7):2358–60. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.37.7.2358-2360.1999>
 39. Meloni D. Focusing on The Main Morphological and Physiological Characteristics of the Food-Borne Pathogen *Listeria monocytogenes*. *J Vet Sc Public Heal* [Internet]. 2014;7(1):62–71. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/265178371>
 40. Jamshidi A, Zeinali T. Significance and Characteristics of *Listeria monocytogenes* in Poultry Products. *Int J Food Sci* [Internet]. 2019 Apr 18;2019:1–7. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2019/7835253/>
 41. FDA US. Center for food safety and applied. Bacteriological Analytical Manual Online Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. 2008;(January 2003):1–29. Available from: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-07/documents/fda-bam-chap10.pdf>
 42. Ohshima C, Takahashi H, Phraephaisarn C, Vesaratchavest M, Keeratipibul S, Kuda T, et al. Establishment of a Simple and Rapid Identification Method for *Listeria* spp. by Using High-Resolution Melting Analysis, and Its Application in Food Industry. Chang Y-F, editor. *PLoS One* [Internet]. 2014 Jun 11;9(6):e99223. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0099223>
 43. O’Driscoll B, Gahan CGM, Hill C. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1996

May;62(5):1693–8. Available from:
<https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.62.5.1693-1698.1996>

44. Doijad SP, Barbuddhe SB, Garg S, Poharkar K V., Kalorey DR, Kurkure N V., et al. Biofilm-Forming Abilities of *Listeria monocytogenes* Serotypes Isolated from Different Sources. Ahmed N, editor. PLoS One [Internet]. 2015 Sep 11;10(9):e0137046. Available from:
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0137046>
45. Figueroa-López AM, Maldonado-Mendoza IE, López-Cervantes J, Verdugo-Fuentes AA, Ruiz-Vega DA, Cantú-Soto EU. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from pork meat and on inert surfaces. Brazilian J Microbiol [Internet]. 2019 Jul 11;50(3):817–24. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s42770-019-00073-7>
46. Trudeau K, Vu KD, Shareck F, Lacroix M. Capillary Electrophoresis Separation of Protein Composition of γ -Irradiated Food Pathogens *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Hensel M, editor. PLoS One [Internet]. 2012 Mar 12;7(3):e32488. Available from:
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0032488>
47. Liu F, Du L, Zhao T, Zhao P, Doyle MP. Effects of phenyllactic acid as sanitizing agent for inactivation of *Listeria monocytogenes* biofilms. Food Control [Internet]. 2017 Aug;78:72–8. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713517300968>
48. Thevenot D, Dernburg A, Vernozy-Rozand C. An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. J Appl Microbiol [Internet]. 2006 Jul;101(1):7–17. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2006.02962.x>
49. Barrientos H. EW, Lucas L. JR, Ramos D. D, Rebatta T. M, Arbaiza F. T. Presencia de *Listeria monocytogenes* en Canales Porcinas en Lima, Perú. Rev Investig Vet del Perú [Internet]. 2015 Feb 13;26(1):135. Available from:
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/10907>
50. Li H, Wang P, Lan R, Luo L, Cao X, Wang Y, et al. Risk Factors and Level of *Listeria monocytogenes* Contamination of Raw Pork in Retail Markets in China. Front Microbiol [Internet]. 2018 May 29;9(MAY):1–10. Available from:
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.01090/full>
51. Elmali M, Can HY, Yaman H. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat. Food Sci Technol [Internet]. 2015 Oct 27;35(4):672–5. Available from:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612015000400672&lng=en&tling=en
52. Cherifi T, Arsenault J, Pagotto F, Quessy S, Côté J-C, Neira K, et al.

- Distribution, diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in swine slaughterhouses and their association with food and human listeriosis strains. Chang Y-F, editor. PLoS One [Internet]. 2020 Aug 6;15(8):e0236807. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0236807>
53. Van den Elzen AMG, Snijders JMA. Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*. Vet Q [Internet]. 1993 Dec;15(4):143–5. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01652176.1993.9694393>
 54. Stessl B, Szakmary-Brändle K, Vorberg U, Schoder D, Wagner M. Temporal analysis of the *Listeria monocytogenes* population structure in floor drains during reconstruction and expansion of a meat processing plant. Int J Food Microbiol [Internet]. 2020 Feb;314(September 2019):108360. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108360>
 55. Ortiz S, López-Alonso V, Rodríguez P, Martínez-Suárez J V. The Connection between Persistent, Disinfectant-Resistant *Listeria monocytogenes* Strains from Two Geographically Separate Iberian Pork Processing Plants: Evidence from Comparative Genome Analysis. Björkroth J, editor. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2016 Jan;82(1):308–17. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.02824-15>
 56. Fagerlund A, Langsrud S, Schirmer BCT, Møretrø T, Heir E. Genome Analysis of *Listeria monocytogenes* Sequence Type 8 Strains Persisting in Salmon and Poultry Processing Environments and Comparison with Related Strains. Boneca IG, editor. PLoS One [Internet]. 2016 Mar 8;11(3):e0151117. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0151117>
 57. Liu D. Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. J Med Microbiol [Internet]. 2006 Jun 1;55(6):645–59. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.46495-0>
 58. Yildirim S, Lin W, Hitchins AD, Jaykus L-A, Altermann E, Klaenhammer TR, et al. Epidemic Clone I-Specific Genetic Markers in Strains of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b from Foods. Appl Environ Microbiol [Internet]. 2004 Jul;70(7):4158–64. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.70.7.4158-4164.2004>
 59. Gamboa-Marín A, Buitrago M S, Pérez-Pérez K, Mercado R M, Poutou-Piñales R, Carrascal-Camacho A. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in pork-meat and other processed products from the Colombian swine industry. Rev MVZ Córdoba [Internet]. 2012 Jan 4;17(1):2827–33. Available from: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/250>
 60. Carrascal-Camacho Ana, Diana CM-W, Viviana G-R, A. Poutou-Piales Ral. Risk factors favoring the presence of *Listeria monocytogenes* in Colombian

pork-meat processing plants. African J Microbiol Res [Internet]. 2014 Apr 30;8(18):1899–908. Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/53c5/ed9855ff061f123ed2807adb62bb86ef2bdd.pdf?_ga=2.15991478.1403160206.1646440608-1686045177.1644638547

61. Instituto Nacional de Salud. Boletín epidemiológico INS Vigilancia brotes de enfermedades transmitidas por alimentos ETA. 2022;2. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2022_Boletin_epidemiologico_semana_4.pdf
62. USDA. Report Name : Livestock and Products Annual [Internet]. USA; 2022. Available from: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Livestock and Products Annual_Brasilia_Brazil_08-15-2021.pdf
63. USDA. Report Name : Poultry and Products Annual [Internet]. USA; 2022. Available from: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Poultry and Products Annual_Brasilia_Brazil_09-01-2021.pdf
64. ABIEC. Beef Report Perfil da Pecuária no Brasil 2021 [Internet]. BRASIL; 2021. Available from: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2021/>
65. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Products by Country - Colombia [Internet]. 2021. Available from: https://www.fao.org/faostat/es/#rankings/commodities_by_country_exports
66. ICA - Instituto Colombiano Agropecuario [Internet]. 2021. Available from: <https://www.ica.gov.co/noticias/ica-colombia-exporta-carne-bovina>
67. Ministerio de Agricultura de Colombia [Internet]. 2020. Available from: https://sioc.minagricultura.gov.co/Porcina/Documentos/2020-03-31_Cifras_Sectoriales.pdf
68. Porkcolombia - Fondo Nacional de Porcicultura de Colombia. 2020; Available from: <https://www.porkcolombia.co/hong-kong-y-costa-de-marfil-recibiran-primeras-toneladas-de-carne-de-cerdo-colombiana/>
69. DNP - Departamento Nacional de Planeación de Colombia [Internet]. 2022. Available from: <https://www.dnp.gov.co/Paginas/Carne-y-pollo-del-campo-colombiano-a-los-mercados-asiaticos-y-norteamericanos.aspx>
70. Codex Alimentarius [Internet]. 2022. Available from: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/es/>
71. Codex Alimentarius. FAO. OMS. Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de *Listeria monocytogenes* (CAC/GL 61 - 2007) [Internet]. (CAC/GL 61-2007) Codex Alimentarius; 2009 p. 1–30. Available from: <https://www.fao.org/fao-who->

codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%25253A%25252F%25252Fworkspace.fao.org%25252Fsites%25252Fcodex%25252FStandards%25252FCXG%25

72. Unión Europea. Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 , relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos del EEE). Doc UE [Internet]. 2005;48:1–33. Available from: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%25253A%25252F%25252Fworkspace.fao.org%25252Fsites%25252Fcodex%25252FStandards%25252FCXG%25>
73. Comisión de la Unión Aduanera. Resolución de la Comisión de la Unión Aduanera del 28.05.2010 N299 “Sobre la aplicación de medidas sanitarias en la Unión Aduanera” [Internet]. UA; 2014. Available from: http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/decision_ndeg299-2010_-_sobre_la_aplicacion_de_medidas_sanitarias_en_la_union_aduanera.pdf
74. FSIS U. FSIS Compliance Guideline: Controlling Listeria monocytogenes in Post-lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products [Internet]. USA; 2014 p. 1–143. Available from: <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/d3373299-50e6-47d6-a577-e74a1e549fde/Controlling-Lm-RTE-Guideline.pdf?MOD=AJPERES>
75. Regulations Code of Federal. Subchapter A Agency Organization and Terminology ; Mandatory Meat and Poultry Products Inspection and Voluntary Inspection and Certification Part 300 — Agency Mission and [Internet]. USA; 1998 p. 89–614. Available from: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2015-title9-vol2/pdf/CFR-2015-title9-vol2-chapIII-subchapA.pdf>
76. Regulations Code of Federal. Subchapter E Regulatory Requirements Under the Federal Meat Inspection Act and the Poultry Products Inspection Act [Internet]. USA; 2011 p. 615–9. Available from: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2015-title9-vol2/pdf/CFR-2015-title9-vol2-chapIII-subchapE.pdf>
77. Ministerio de Salud y Protección Social. CIRCULAR 4000-0265-2021 RES. 2690 DE 2015. COLOMBIA; 2021.
78. FDA Food and Drug Administration. BAM Bacteriological Analytical Manual [Internet]. 2017. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
79. OIE World Organisation for Animal Health. Terrestrial Manual 2021 - Listeria Monocytogenes [Internet]. 2546. Available from: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.10.05_Listeria_monocytogenes.pdf

80. Law JW-F, Ab Mutalib N-S, Chan K-G, Lee L-H. An insight into the isolation, enumeration, and molecular detection of *Listeria monocytogenes* in food. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 Nov 3;6(NOV):1–15. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01227/abstract>
81. Radhakrishnan R, Poltronieri P. Fluorescence-Free Biosensor Methods in Detection of Food Pathogens with a Special Focus on *Listeria monocytogenes*. *Biosensors* [Internet]. 2017 Dec 20;7(4):63. Available from: <http://www.mdpi.com/2079-6374/7/4/63>
82. USDA United States of Agriculture. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat , Poultry , Ready-To-Eat , Siluriformes (Fish) and Egg Products , and Environmental Samples Effective Date : 10 / 01 / 2021 Description and purpose of change (s): Changes mad [Internet]. USA; 2021. Available from: https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-09/MLG-8.13.pdf
83. FDA Food and Drug Administration. BAM Protocol: Simultaneous Confirmation of *Listeria* species and *L. monocytogenes* isolates by real-time PCR [Internet]. USA; 2018. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-protocol-simultaneous-confirmation-listeria-species-and-l-monocytogenes-isolates-real-time-pcr>
84. Jadhav S, Bhave M, Palombo EA. Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2012 Mar;88(3):327–41. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701212000036>
85. Palma JM, Lisboa RC, Rodrigues DP, Santos AFM, Hofer E, Santana AP. Caracterização molecular de *Listeria monocytogenes* oriundas de cortes cárneos bovinos e de abatedouros frigoríficos de bovinos localizados no Distrito Federal, Brasil. *Pesqui Veterinária Bras* [Internet]. 2016 Oct;36(10):957–64. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2016001000957&lng=pt&tlng=pt
86. Guerini MN, Brichta-Harhay DM, Shackelford SD, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, et al. *Listeria* Prevalence and *Listeria monocytogenes* Serovar Diversity at Cull Cow and Bull Processing Plants in the United States†. *J Food Prot* [Internet]. 2007 Nov 1;70(11):2578–82. Available from: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/70/11/2578/172496/Listeria-Prevalence-and-Listeria-monocytogenes>
87. Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* : a review. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2005 Nov;29(5):851–75. Available from: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1016/j.femsre.2004.12.002>

88. Barbu V. Molecular hybridization techniques of nucleic acids. *Innov Rom Food Biotechnol* [Internet]. 2007;1(January 2007):1–12. Available from: <http://www.bioaliment.ugal.ro/ejournal.htm>
89. NEOGEN Commodities TD. DNA Hybridization Test for Detection of *Listeria monocytogenes* [Internet]. USA - CANADA; Available from: https://www.neogen.com/globalassets/pim/assets/original/10021/608013d-genequence-listeria_6708_kitinsert.pdf
90. Figueroa López A., Chavez A. Frecuencia e identificación de *Listeria monocytogenes* aislada de procesos de producción de carne de cerdo. *Av Investig en Inocuidad Aliment Mex* [Internet]. 2019;2. Available from: www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad
91. Rahimi E, Yazdi F, Farzinezhadizaeh H. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Listeria* Species Isolated from Different Types of Raw Meat in Iran. *J Food Prot* [Internet]. 2012 Dec 1;75(12):2223–7. Available from: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/75/12/2223/173314/Prevalence-and-Antimicrobial-Resistance-of>
92. Kich JD, Souza AIA, Montes J, Meneguzzi M, Costa EF, Coldebella A, et al. Investigation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pig carcasses in Southern Brazil. *Pesqui Veterinária Bras* [Internet]. 2020 Oct;40(10):781–90. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2020001000781&tlng=en
93. Demaître N, Van Damme I, De Zutter L, Geeraerd AH, Rasschaert G, De Reu K. Occurrence, distribution and diversity of *Listeria monocytogenes* contamination on beef and pig carcasses after slaughter. *Meat Sci* [Internet]. 2020;169(May):108177. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108177>
94. Moura G, Tomborelli P, Carvalho RCT, Sigarini C, Carvalho F, Vieira B, et al. *Listeria monocytogenes* and Other Species as Persistent Contaminants in the Processing of Chicken Meat. *J Appl Poult Res* [Internet]. 2019 Jun;28(2):470–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1056617119300509>
95. Ayaz ND, Onaran B, Cufaoglu G, Goncuoglu M, Ormanci FS, Erol I. Prevalence and Characterization of *Listeria monocytogenes* Isolated from Beef and Sheep Carcasses in Turkey with Characterization of Locally Isolated *Listeriophages* as a Control Measure. *J Food Prot* [Internet]. 2018 Dec 1;81(12):2045–53. Available from: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/81/12/2045/174263/Prevalence-and-Characterization-of-Listeria>
96. Miettinen MK, Palmu L, Björkroth KJ, Korkeala H. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Broilers at the Abattoir, Processing Plant, and Retail

Level. J Food Prot [Internet]. 2001 Jul 1;64(7):994–9. Available from:
<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/64/7/994/196804/Prevalence-of-Listeria-monocytogenes-in-Broilers>