

## REVISIONES

### Infección alimentaria por *Listeria monocytogenes*

REGUERA, J.I.; NIETO, J.C.; EIROS, J.M.\*; GONZÁLEZ SÁNCHEZ, Z.;  
ORTIZ DE LEJARAZU, R.\*; RODRÍGUEZ TORRES, A\*.

#### CLASIFICACION

*Taxonomía intergenérica.* Basándose fundamentalmente en los caracteres morfológicos, el género *Listeria* fue incluido en el grupo coryneforme. Sin embargo, posteriores estudios confirmaron la no relación del género *Listeria* con el grupo coryneforme, y la estrecha relación con los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*, y con los géneros *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Kurtzia*, observándose la máxima proximidad con *Brochothrix*.

*Taxonomía intragenérica.* En la última edición del Bergey's (1986) el género *Listeria* aparece constituido por ocho especies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi*, *L. murrayi*, y *L. denitrificans*. *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son patógenas del hombre y los animales, respectivamente.

Por lo que se refiere a la posición taxonómica de *L. denitrificans*, actualmente no existen dudas acerca de su no pertenencia al género *Listeria*, constituyendo un nuevo género (*Jonesia*) que contiene una sola especie, *J. denitrificans*.

Algunos estudios han comprobado que *Listeria grayi* y *Listeria murrayi* son

una misma especie, desapareciendo *Listeria murrayi*, que fue la última en describirse (1). Se ha descrito recientemente una nueva subespecie de *L. ivanovii* (*Listeria ivanovii* subespecie *londoniensis*).

#### PROPIEDADES BIOLÓGICAS

La especie *L. monocytogenes* está integrada por bacilos cortos, de extremos redondeados y, a veces, puntiagudos (cocobacilos), de 0,5-2 micras de largo por 0,5 micras de grueso. Observados al microscopio se presentan aislados, en parejas o cadenas cortas de 3-5 elementos, teniendo, en ocasiones, aspecto de V, Y o empalizadas. Carecen de cápsula y esporos. Son móviles, mediante flagelos peritricos, y Gram positivos, aunque en cultivos viejos pueden aparecer como Gram negativos al perder su capacidad de retener el colorante.

Respecto a la temperatura, sus límites de crecimiento están entre 1° C y 45° C, con una óptima de 30-37° C. Es psicrotrófico. En cuanto al pH, es capaz de desarrollarse entre 5,1 y 9,6. Pasados estos límites se inhibe su crecimiento pero puede sobrevivir. El crecimiento óptimo se produce en una atmósfera constituida por 5% de oxígeno y 5-10% de dióxido de carbono.

*L. monocytogenes* produce hemolisina  $\beta$ , característica relacionada con su patogenicidad. Se ha comprobado que mutantes no hemolíticos carecen de virulencia. Es un patógeno intracelular capaz de vivir en macrófagos y neutrófilos.

*L. monocytogenes* es más sensible a los ácidos que a los álcalis, multiplicándose en las proximidades de pH 9,6. Sobrevive a concentraciones de 25% de sal común. Se desarrolla a tasas de 10% de sal e, incluso, algunas cepas con 20% de este producto. En hierba, arena, tierra, paja, leche y otros productos alimenticios puede sobrevivir semanas y, en ocasiones, meses.

#### CONSTITUCIÓN ANTIGÉNICA

*L. monocytogenes* posee 13 (1 al 13) factores antigénicos somáticos (O) termoestables y 4 (A, B, C, D) antígenos flagelares (H) termolábiles. De acuerdo con su estructura antigénica, se distinguen tres grupos serológicos: 1/2, 3 y 4; y 13 serotipos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e y 7.

#### PATOGENIA

La vía de entrada de *L. monocytogenes* en el organismo en la mayoría de las formas naturales de listeriosis es la vía oral. La ingestión de alimento con cantidades suficientemente altas de *L. monocytogenes* provoca en gran número de casos una infección subclínica, a veces sólo apreciable por una ligera elevación de la temperatura corporal. La infección conduce inevitablemente a una bacteriemia, con diseminación de la bacteria a órganos linfoides y a otros órganos parenquimatosos, y con una elevación de la tasa circulante de anticuerpos. La bacteria se excreta en las heces y en la leche en el curso de una bacteriemia (2). La vía concreta de entrada de la bacteria (lugar de

penetración en el tracto digestivo) es aún objeto de discusión (3-5).

#### FACTORES DE PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA

*L. monocytogenes* es capaz de sobrevivir y multiplicarse en el interior de los macrófagos (6), siendo este fenómeno crucial en la patogénesis de la listeriosis por *L. monocytogenes*. *L. monocytogenes* es por tanto un parásito intracelular facultativo. No sólo es capaz de sobrevivir y multiplicarse en las células del sistema mononuclear fagocítico, sino que lo puede hacer en las células no fagocíticas (p. ej., epiteliales), tras el oportuno proceso de invasión activa.

El proceso de penetración lleva consigo el que las células bacterianas queden englobadas en el interior de un fagosoma, del que posteriormente escapan para multiplicarse libremente en el citoplasma (7, 8). Una vez que se encuentran multiplicándose libremente en el citoplasma, las células de *L. monocytogenes* comienzan a moverse rápidamente por el citoplasma de la célula mediante un proceso cuyo mecanismo exacto todavía se desconoce. Algunas de las células bacterianas se dirigen, con movimiento centrífugo, hacia la periferia de la célula infectada y, al llegar a la membrana citoplásmica, hacen protrusión en el interior de proyecciones citoplásmicas que invaden las células contiguas. Estas evaginaciones son fagocitadas por la nueva célula invadida, en la cual las bacterias aparecen en el interior de fagosomas delimitados por una doble membrana, la interna procediendo de la célula de la que provienen las proyecciones citoplásmicas. Las listerias escapan de nuevo de este «doble» fagosoma, por disolución de sus membranas, iniciando un nuevo ciclo de multiplicación intracelular y de invasión directa célula-célula (9-12) (Figura 1).

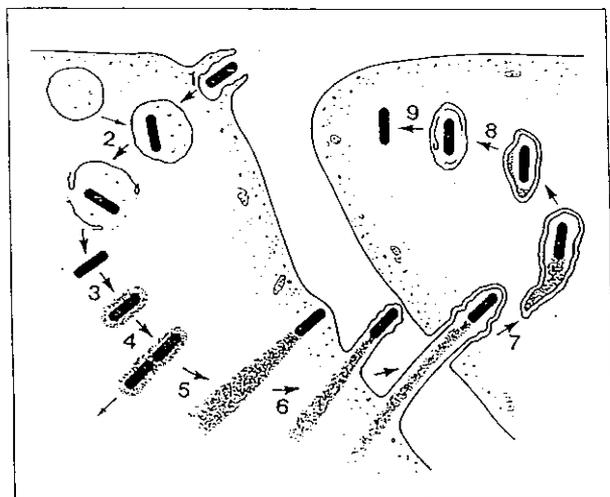


FIGURA 1: Representación esquemática de la biología de la infección intracelular por *Listeria monocytogenes*.

Las cepas patógenas de *Listeria*, a diferencia de las avirulentas, son capaces de lisar las membranas celulares, entre ellas las de los glóbulos rojos, lo que se traduce en el fenotipo hemolítico que las caracteriza al crecer sobre agar sangre (13-16). El gen *hly* que se expresa como unidad monocistrónica y que codifica a la toxina tiolactivada listeriolisina O (LLO) (de la familia de la estreptolisina O), es el principal factor responsable de la actividad hemolítica de *L. monocytogenes* (17-19).

Recientemente se ha caracterizado un segundo factor citolítico relacionado con la virulencia de *L. monocytogenes*. Se trata de la fosfolipasa C Zinc-dependiente responsable de la actividad lecitinasasa que también caracteriza a las cepas patógenas de *Listeria*. Su determinante genético, *plcB*, ha sido recientemente identificado y secuenciado (20-22).

#### FACTORES DETERMINANTES DE SUSCEPTIBILIDAD

La aparición de casos clínicos de listeriosis exige la concurrencia de diversos factores, no completamente caracterizados, y que radican tanto en el microorga-

nismo responsable (*L. monocytogenes*) como en el hospedador y su entorno (23). De los caracteres propios del hospedador que inciden de manera directa en la susceptibilidad de éste a la listeriosis deben destacarse los siguientes:

**Gestación.** Las mujeres gestantes constituyen un grupo de alto riesgo. La listeriosis perinatal es uno de los síndromes clínicos característicos y, por el número de casos que se engloban bajo este concepto, el más importante desde el punto de vista sanitario.

**Inmunodepresión.** Junto con la gestación, son los dos factores de mayor relevancia y más conocidos respecto a la susceptibilidad a la listeriosis. Además de las situaciones de inmunodeficiencia inducida (tratamientos inmunodepresores), todas aquéllas de carácter patológico que incidan negativamente sobre la inmunidad de base celular aumentan la susceptibilidad a la listeriosis: SIDA, ciertos tipos de linfomas...

**Portador fecal.** La condición de portador fecal es un factor de riesgo para otros individuos más que para el propio portador. Sin embargo, los portadores pueden convertirse en enfermos si se presenta un factor desencadenante, por ejemplo, gestación, inmunodepresión, etc.

Deben igualmente considerarse respecto a la susceptibilidad a la listeriosis, otros factores que, incidiendo directamente sobre el hospedador, no le son absolutamente propios, ya que están mediados por el entorno (24). De entre ellos destacan: alimentación (el más importante), micronutrientes, factores climáticos, estrés, especie animal, modo de infección, factores genéticos, tumores, edad y tratamientos antiulcerosos, entre otros.

#### MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA LISTERIOSIS

Las principales formas clinicopatológicas de la listeriosis son: Septicemia, Abor-

to, Meningitis, y Encefalitis y muerte neonatal. Exceptuando las formas encefalíticas, frecuentes en los rumiantes pequeños y raras en la especie humana, las infecciones listéricas con relevancia clínica se producen por la vía oral (23). Existen otras formas de listeriosis, mucho menos frecuentes, como son: Miocarditis, Dermatitis, Queratoconjuntivitis, Mamitis, Endocarditis e Infecciones de prótesis articulares.

#### EPIDEMIOLOGÍA

Aunque *L. monocytogenes* puede sobrevivir y replicarse en el citoplasma incluso de células fagocíticas, su hábitat biótico habitual es extracelular estando ampliamente distribuido en el medio ambiente y habiéndose aislado con frecuencia en aguas residuales, tierra, vegetales y materias fecales. Se cree que el hábitat principal del microorganismo es el suelo y material de origen vegetal en descomposición, donde está presente de modo saprófito. Por ello, algunos autores consideran que el suelo es el reservorio real de este microorganismo (25), tratándose de un germen telúrico. Los ensilados inadecuadamente fermentados repre-

sentan también un nicho importante para este microorganismo, siendo una de las causas primarias de infección de animales de abasto descritas con mayor frecuencia.

El hombre puede entrar en contacto con *L. monocytogenes* a través de los propios animales, carne, leche, productos lácteos, mariscos, vegetales, al igual que con insectos, aire, polvo, heces y otros seres humanos (Figura 2).

La listeriosis se puede presentar en cualquier persona, pero la mayoría de ellas son de bajo riesgo para dicha enfermedad; los grupos de alto riesgo son: personas inmunodeprimidas, bien por enfermedad o por medicamentos, mujeres embarazadas y personas de la tercera edad (26).

#### CONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS POR *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Los alimentos relacionados hasta el momento con brotes y casos esporádicos de listeriosis son: productos lácteos, pollo, embutidos cocidos y alimentos de origen vegetal que se consumen crudos (27-33). Prácticamente en todos los ali-

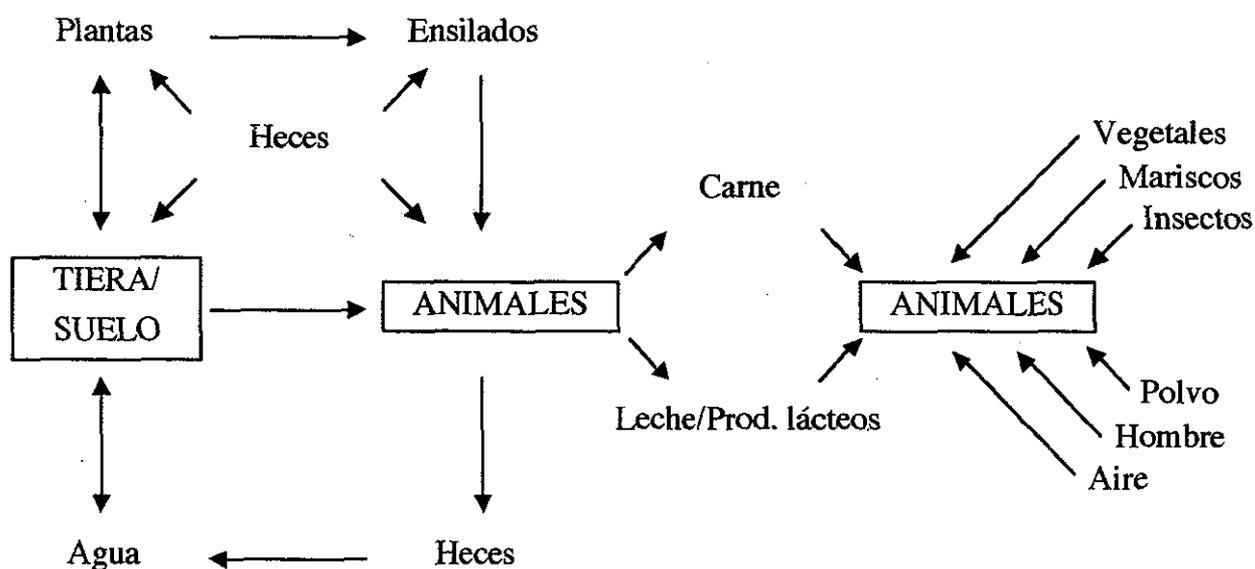


FIGURA 2: Hábitat de *L. monocytogenes* y vías de contaminación.

mentos y en todos los países en los que se ha buscado, se ha encontrado *L. monocytogenes*. Los alimentos más frecuentemente contaminados con dicha bacteria son:

— Los productos lácteos, especialmente los quesos, detectándose en todos los tipos, aunque con más frecuencia en los de pasta blanda (34-36).

— Los productos cárnicos, sobre todo la carne de aves y derivados, siendo de destacar el aislamiento de carnes cocidas y/o curadas de consumo directo (37-42).

— Platos cocinados y refrigerados hasta su consumo (43, 44).

Los alimentos elegidos al azar en los que se dan recuentos más elevados de *L. monocytogenes* son los quesos blandos y los patés (41, 42, 45, 46).

El serotipo más frecuente en casos esporádicos y brotes es el 4b; por el contrario, en los alimentos obtenidos al azar el serogrupo más frecuente es el 1/2, salvo en un estudio de patés que lo fue el 4b (41, 42).

En España los informes disponibles muestran porcentajes de alimentos con *L. monocytogenes* similares al resto de los países.

#### CONTROL Y PREVENCIÓN EN ALIMENTOS

De los distintos tratamientos tecnológicos a que puede someterse a un alimento algunos ejercen una acción *anti-Listeria* importante. En función del tratamiento y de otros factores puede conseguirse una acción listericida o listeristática.

#### TRATAMIENTOS FÍSICOS

##### 1. *Tratamientos térmicos*

*Pasteurización de la leche.* La pasteurización baja (63° C durante 30 minutos)

representa uno de los tratamientos para *L. monocytogenes* (47). Los tratamientos mínimos de pasteurización HTST (71,7° C durante 15 segundos) de la leche son aceptados generalmente (48).

*Tratamientos térmicos de los huevos.* Los tratamientos mínimos de pasteurización para huevo líquido parecen asegurar la inactivación de las listerias en los niveles encontrados en huevo (<100 ufc/g) (49).

*Tratamientos térmicos en carne cruda.* Es esperable que un calentamiento a 70° C durante 2 minutos asegure la inactivación de las listerias presentes en carne cruda (47).

##### 2. *Tratamiento mediante radiaciones ionizantes*

En general, dosis de 2,5-3 kGy son suficientes para inactivar las listerias habitualmente presentes en los alimentos.

#### TRATAMIENTOS QUÍMICOS

Los tratamientos químicos *anti-Listeria* de los alimentos se realizan con: ácidos orgánicos y sus sales, sorbato potásico, propionato sódico, benzoato sódico, ácidos grasos, monoglicéridos y antimicrobianos naturales (combinación de lisozima-EDTA y la activación del sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrógeno) (50-56). Otros tratamientos, como ahumado (57), adición de especias (58) y determinados antioxidantes (59) pueden contribuir a la inhibición de *L. monocytogenes*.

#### TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

*Bacteriocinas.* La incorporación de nisina puede contribuir a la reducción de la población de *Listeria* (60). La adición de cepas de *Pediococcus acidilactici* productoras de pediocina AcH o de esta bac-

teriocina acelera la inactivación de *L. monocytogenes* en alimentos (61). Algunas otras bacterias acidolácticas también han demostrado su eficacia en la inhibición de *L. monocytogenes* (62).

#### DESINFECTANTES

El control del género *Listeria* no es un problema de desinfección, y los desinfectantes habituales (63, 64), para la eliminación de otros gérmenes patógenos, también son efectivos para *L. monocytogenes*, siempre y cuando la limpieza entendida en su sentido global se efectúe en correctas condiciones.

#### CONCLUSIÓN

Las medidas de prevención y control que puedan adoptarse en los alimentos tienen su fundamento en: el autocontrol industrial; la adaptación y actuación de conductas higiénicas por parte de los diversos sectores comerciales implicados; y la actuación de las redes de vigilancia.

Se considera de interés: la información y concienciación de los consumidores en general; la información y establecimiento de pautas alimenticias en la población de riesgo; la inclusión de elementos barrera que dificulten la transmisión de *Listeria monocytogenes*; el mantenimiento de la temperatura adecuada; y la higiene en la manipulación de alimentos preparados no envasados o que requieran su fraccionamiento en la venta.

#### POSICIÓN DE LOS ORGANISMOS INTERNACIONALES COMPETENTES ANTE LA LISTERIOSIS ALIMENTARIA

En 1986, en Berlín, la Organización Mundial de la Salud (OMS) organizó una Consulta sobre Prevención y Control de la listeriosis (65), y en 1988, convocó un

grupo de trabajo informal sobre listeriosis transmitida por alimentos (66). En ellas se hicieron algunas recomendaciones que hoy conocemos como normas de control y prevención.

Por otro lado, la Comisión del Codex Alimentarius del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, y en especial su Comité sobre Higiene de los Alimentos, ha venido prestando gran atención a *Listeria monocytogenes* transmitida por alimentos (67).

Los centros colaboradores de la OMS para la listeriosis de origen alimentario son: el Laboratorio de *Listeria* del Instituto Pasteur de París (68) y el Centro Nacional de Referencia de Listerias de Suiza.

La propuesta de la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) sobre *L. monocytogenes* es la siguiente:

1. *Alimentos con antecedentes de haber transmitido listeriosis o en los cuales la multiplicación de esa bacteria puede ocurrir.*

Para la población "normal", esto es, personas que no tienen una susceptibilidad aumentada, la presencia de menos de 100 ufc (unidades formadoras de colonia) por gramo no parece crear un peligro serio.

2. *En alimentos que están destinados a personas con una susceptibilidad aumentada esa exigencia podría darse en 25 g de muestra.*

La Directiva del Consejo de la Comunidad Económica Europea (CEE) 92/46/CEE, del 16 de junio de 1992, establece las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos (69). En la misma, se establecen los criterios microbiológicos para la leche de consumo y los productos lácteos. Los criterios obligatorios para gér-

menes patógenos requieren la ausencia de *L. monocytogenes* en 25 gramos de queso para quesos distintos de los de pasta dura, y en 1 gramo para otros productos.

#### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN ALIMENTOS

Son numerosos los métodos y medios de cultivo probados (70, 71), pero ninguno se ha aceptado de forma unánime, ya que no se ha valorado su eficiencia suficientemente.

En Estados Unidos, para los productos lácteos, se utiliza la técnica preconizada por la FDA, que conlleva el uso de un caldo de enriquecimiento y un agar de aislamiento. En Europa, la FIL ha propuesto un método para el aislamiento e identificación de *L. monocytogenes* en productos lácteos, que es una modificación del método de la FDA en algunos detalles (Figura 3). En 1987, comenzó oficialmente un control en Estados Unidos por parte del FSIS (Food Safety and Inspection Service). Este Organismo propone una técnica para investigación de *L. monocytogenes* en carnes y subproductos de la carne en la que se utilizan caldos de enriquecimiento y medio sólido de aislamiento.

#### MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN ALIMENTOS

- MÉTODO PARA PRODUCTOS LÁCTEOS (FDA/FIL)
- MÉTODO PARA PRODUCTOS CÁRNICOS (FSIS)

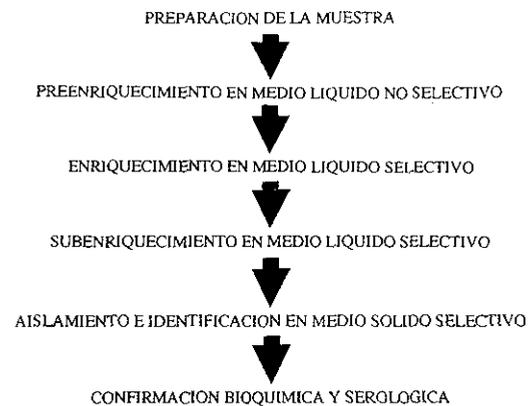


FIGURA 3: Métodos de análisis microbiológico en alimentos.

En cuanto a las perspectivas futuras, en la investigación de *L. monocytogenes* sería conveniente acortar el tiempo de duración de los análisis, y, en este sentido, varios autores han desarrollado y valorado varios métodos rápidos (enzimoinmunoanálisis, inmunofluorescencia, hibridación de ácidos nucleicos, PCR,...) (72-74).

6. Hemos observado en los últimos años un aumento significativo de *Meninogococo* tipo C.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. ROCOURT, J.; BOERLIN, P.; GRIMONT, F.; JACQUET, C.; PIFFARETTI, J.C. (1992): Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*; 42: 171-174.
2. BLOBEL, H.; SCHLIESSER, T. (1980): *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Stuttgart. Gustav Fisher Verlag.
3. MACDONALD, T.T.; CARTER, P.B. (1980): Cell-mediated immunity to intestinal infection. *Infect. Immun.*; 28: 516-523.
4. MARCO, A.J.; PRATS, N.; RAMOS, J.A., y cols. (1992): A microbiological, histopathological and immunohistological study of the intragastric inoculation of *Listeria monocytogenes* in mice. *J. Com. Pathol.*; 107: 1-9.
5. RACZ, P.; TENNER, K.; MÉRO, E. (1972): Experimental listerias enteritis. I. An electron microscopic study of the epithelial phase in experimental listeria infection. *Lab. Invest.*; 26: 694-700.
6. MACKANESS, G. B. (1962): Cellular resistance to infection. *J. Exp. Med.*; 116: 381-486.
7. COSSART, P.; MENGAUD, J. (1989): *Listeria monocytogenes*, a model system for the molecular study of intracellular parasitism. *Mol. Biol. Med.*; 6: 463-474.
8. GAILLARD, J.L.; BERCHE, P.; MOUNIER, J.; RICHARD, S.; SANSONETTI, P. (1987): In vitro model of

- Higiene de los alimentos. Washington. ALI-NORM 93/13.
68. ROCOURT, J.; JACQUET, Ch. (1992): List of Food Microbiologists currently engaged in studies related to *Listeria*. Ginebra. WHO Collaborating Centre for Foodborne Listeriosis. WHO/HPP/FOS/92.1.
69. DIARIO OFICIAL DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. (1992): Directiva 92/46/CEE por la que se establecen las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*; L268: 1-32.
70. CURTIS, G. D. W.; MITCHELL, R. G.; KING, A. F.; GRIFFIN, E. J. (1989): A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.*; 8: 95-98.
71. FRASER, J. A.; SPERBER, W. H. (1988): Rapid Detection of *Listeria* spp. in food and environmental Samples by Esculin Hydrolysis. *J. Food Prot.*; 51: 762-765.
72. DATTA, A. R.; WENT, B. A.; HILL, W. E. (1987): Detection of hemolytic *Listeria monocytogenes* by using DNA colony hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*; 53: 2256-2259.
73. ROSSEN, L.; HOLMSTROM, K. (1991): A rapid polymerase chain reaction (PCR) based assay for the identification of *Listeria monocytogenes* in food Samples". *Int. J. Food Microbiol.*; 14: 145-152.
74. WERNARS, K. C.; HEULVEMAN, C. J.; CHAKRABORTY, T.; NORTERMAS, S. H. W. (1991): Use for the Polymerase chain reaction for direct detection of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. *J. Appl. Bacteriol.*; 70: 121-126

*Petición de separatas:*

JUAN IGNACIO REGUERA USEROS  
C/ Teniente Andrés Velasco, 8, 2º D  
34002 PALENCIA