

LISTERIA. UNA APROXIMACIÓN PRÁCTICA AL MICROORGANISMO

QBP Gabriela Itzel Tovar Pérez

QBP Iván Castillo Ramírez

M en C Elsa Irma Quiñónez Ramírez

M en C Oscar Rodolfo Rodas Suárez

Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional,

Dr. Carlos Vázquez Salinas

Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana,

Resumen

Listeria monocytogenes es el agente causal de la enfermedad conocida como listeriosis, la cual se transmite a través del contacto con los animales, infección cruzada entre recién nacidos en el hospital e infecciones transmitidas por los alimentos. Es sabido que los animales salvajes y domésticos, al igual que el hombre son portadores de *L. monocytogenes* y muchos de ellos pueden llegar a infectarse y sufrir la listeriosis. Es uno de los microorganismos más frecuentes que producen meningitis y es también un agente productor de graves septicemias en mujeres embarazadas y en pacientes inmunocomprometidos. La infección es adquirida mediante la ingestión de alimentos contaminados y aunque en la mayoría de los casos tienen carácter esporádico, diversas publicaciones han señalado la capacidad de *L. monocytogenes* para producir epidemias por el consumo de alimentos como: quesos frescos, ensaladas de col, productos cárnicos, hortícolas y de la pesca

Características del género *Listeria*

Listeria monocytogenes produce la enfermedad conocida con el nombre de listeriosis, listerilosis, listeriasis, infección listérica, granulomatosis infantiséptica (SSA, 1980).

Listeria monocytogenes se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, y se ha aislado de suelo, vegetales, aguas, ya sea de albañal, de ríos y canales, y también de agua salada de estuarios (Kampelmacher y van Noorle Jansen, 1975). Desde 1926, Murray, y colaboradores sugirieron que el tracto gastrointestinal podría ser la puerta de entrada para *Listeria monocytogenes* y la consecuente infección por la misma.

Se han descrito como reservorio de este microorganismo a 42 especies de animales domésticos que incluyen a ganado vacuno, ovino, y 17 especies de aves, incluyendo de vida libre. Se puede aislar de heces, secreciones nasales y genitales de portadores asintomáticos. También en el hombre se presenta en portadores asintomáticos, que mantienen viable al microorganismo en secreciones nasales, genitales, y heces (Bracked, 1988; Prasad y Grupta, 1990). De hecho *L. monocytogenes* se encuentra formando parte de la biota intestinal desde el 5-10% de la población total sin síntomas aparentes.

Alimentos:

Este microorganismo se ha aislado de leche cruda en un 45%, En 19.5% de la carne de cerdo, en el 60% de aves de corral, en el 79% de carne molida de res y en el 30 de las hortalizas como papa y rábanos, 0.57% de leche en polvo y alimentos elaborados con este producto como helado 3.79%, leche fría 3.03%, chocolate 1.20% y en el 8.55% en helado casero (Pinner et al, 1992; Schlech et al, 1983; Schuchat et al, 1992) y 79% de carne de res molida, 60% 1983; Schuchat et al. 1991). También se ha reportado en mantequilla 2.6-7.9 % al inicio de su procesamiento; se ha aislado de quesos, los cuales son en su mayoría suave, de fabricación casera, entre los que se reporta un estudio hecho en México en donde se aisló el serogrupo 4b, (Linnan, 1988).



Fig 3. Quesos: principales productos asociados a listeriosis humana

Patogenicidad y virulencia

Patogénesis:

La infección ocasionada por *L. monocytogenes* es principalmente adquirida por la ingestión de alimentos contaminados, y aunque en la mayoría de los casos tienen carácter esporádico, diversas publicaciones han señalado la capacidad de *L. monocytogenes* para producir epidemias por el consumo de alimentos como: quesos frescos, ensaladas de col, productos cárnicos, hortícolas y de la pesca (Farber y Peterkin, 1991). Su habilidad de multiplicarse a temperaturas de refrigeración hacen que los alimentos como leche, carne o vegetales almacenados en refrigeración, sean la principal vía de infección de listeriosis humana. Incluso este fenómeno parece incrementar la virulencia del microorganismo. (Farber y Peterkin 1991).

La patogenicidad es la capacidad de un agente infeccioso de producir enfermedad en un huésped susceptible. La virulencia es un término cuantitativo que define el grado en que un patógeno puede causar enfermedad; esto a menudo está relacionado con el número de microorganismos que se requieren para causar la infección o la frecuencia de infección en una población dada y los determinantes de virulencia de la cepa (Perea et al. 1992).

En promedio, en adultos sanos, las infecciones causadas por *L. monocytogenes* son usualmente asintomáticas o en la mayoría produce síntomas parecidos a la gripa y menos común produce diarrea y dolor abdominal en personas inmunocomprometidas tales como SIDA, cáncer, diabetes personas de edad avanzada y alcohólicos causa severas infecciones, ocasionando bacteremias fates e infecciones en el sistema nervioso central (meningitis y encefalitis), y aunque la dosis infectiva de la listeriosis en humanos no es bien conocida, la susceptibilidad del huésped muy probablemente influye en el tamaño del inoculo que puede producir la enfermedad (Schuchat y col. 1991)

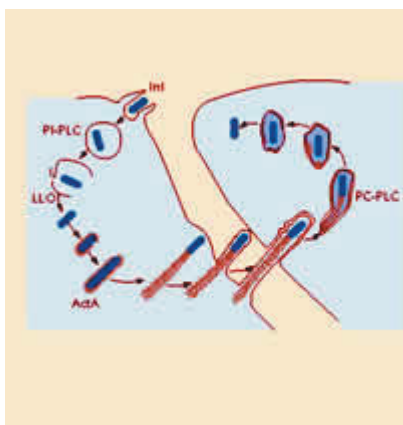


La infección puede también ser transmitida de la madre al feto durante la gestación, ya que es una de las pocas bacterias capaces de atravesar la barrera trasplacentaria, la cual usualmente actúa como una barrera de filtración para evitar la entrada de patógenos hacia el feto. En mujeres embarazadas infectadas pueden presentarse nacimientos prematuros, bacteremia en el recién nacido (Fig 4) e incluso abortos. Peor aun parece ser que el embarazo incrementa la susceptibilidad de las mujeres a la infección por *L. monocytogenes*.

Fig. 4 listeriosis precoz

Listeria monocytogenes es considerado un parásito intracelular (Fig.5), capaz de sobrevivir en macrófagos e invadir células no fagocíticas como las células epiteliales, hepatocitos y células endoteliales. Posee varios factores de virulencia que le permiten mantener la infección y que son regulados por genes específicos (*PrfA*). La presencia y concentración de algunas sustancias en el medio (ej. Fierro), inducen un incremento de producción de *listeriolisina O* cuando existe en baja concentración (Bohne, et al. 1996).

La *listeriolisina O* (LLO), es una hemolisina que se comporta como un importante factor de virulencia, tiene un peso molecular de 60 kdaltones y está formada por 504 aminoácidos. Es producida principalmente en la fase exponencial con concentraciones máximas después de 8 a 10 horas de crecimiento (James, 1994).



La fagocitosis de *Listeria* estimula la liberación de *listeriolisina O*. Ésta se une a las membranas de los macrófagos, y lisa a la célula hospedera formando poros en la membrana (Saylers y Whitt, 1994).

Listeria produce en menor cantidad otras dos hemolisinas: fosfatidilinositol, fosfolipasa específica C (PI-PLC) y la fosfatidilcolina fosfolipasa específica C (PC-PLC) también llamada esta última lecitinas. Las fosfolipasas destruyen a la célula hospedera por hidrólisis de los lípidos de la membrana (Salyers y Whitt, 1994).

Fig. 5. Mecanismo de virulencia

Otro factor de virulencia importante, es la movilidad ya que una vez instalada en una célula *Listeria* se comienza a reproducir rápidamente (1 vez cada minuto) posteriormente por la polimerización de la actina, se desplaza rápidamente (1.5 mm/seg) por el citoplasma e invade células adyacentes (Bottone y Namdari, 1995). Las colas que se forman por la polarización de actina se extienden de un solo extremo de la bacteria. Se sabe que la movilidad es regulada por el gen *Act A* (Iñigo et al. 1995).

Epidemiología

A pesar de que desde hace 50 años aproximadamente se reconoce a *Listeria* como causante de afecciones en animales y humanos, es hasta la década de los años 80 con brotes en algunas provincias de Canadá, E.U.A. y Europa, que se reconoce como un problema de salud pública, debido principalmente al consumo de alimentos contaminados. (Broome, 1990).

Muchos factores influyen en el crecimiento de *L. monocytogenes* en los alimentos; su naturaleza, concentración de nutrientes, pH, temperatura, actividad de agua y presencia de inhibidores. Del mismo modo que muchos microorganismos Gram positivos, es capaz de sobrevivir en el suelo y de aquí que el empleo del estiércol que contenga listerias pueda tener una gran importancia cuando se aplica a una tierra de cultivo, sobre todo cuando la cosecha que se obtiene de los cultivos son frutas u hortalizas que posiblemente no se sometan a un tratamiento térmico (Lovett et al, 1990)

Este microorganismo es ubicuo, se asocia con una gran variedad de alimentos crudos, contaminados de origen o durante su obtención y/o procesamiento (Farber & Peterkin, 1991; Ryser & Marth, 1988).

Los brotes y casos esporádicos de listeriosis durante la década de los 80 ha establecido que el ambiente de las plantas procesadoras de productos lácteos son una fuente potencial de la contaminación del producto vía post proceso, si el alimento es expuesto a *Listeria* (Farber, 1992; Pritchard et al, 1994).

El primer reporte de brotes de 41 casos de listeriosis ocasionado por alimentos fue en 1981 y se confirmó mediante la identificación de *L. monocytogenes* en una ensalada fresca de col, en Halifax, Nueva Escocia, Canadá (Schlech et al, 1983; Barza, 1985).

Cuadro No. 1 Brotes de listeriosis atribuidos a productos lácteos en diferentes países.

Año	País	Sinopsis de los casos
1953	Alemania	Mujer embarazada que bebió leche cruda proveniente de una vaca con mastitis atípica dio a luz antes de tiempo a gemelos muertos.
1966	Alemania	279 casos de abortos en mujeres embarazadas, asociado al consumo de leche pasteurizada y productos lácteos.
1983	Massachusetts	Contaminación atribuida a leche contaminada.
1983	Boston	49 casos (42 adultos, 7 parejas madre-hijo, 14 muertes) atribuidos a leche pasteurizada, que procedía de una granja en que había listeriosis diseminada en las vacas lecheras.
1985	Los Angeles, Cal.	142 casos (93 mujeres embarazadas, 49 adultos, 48 muertes, 30 abortos), atribuido a queso tipo mexicano elaborado con leche cruda contaminada y no pasteurizado.

1987	Reino Unido	Mujer embarazada inmunocomprometida, contrajo listeriosis clínica, atribuido al consumo de un queso blando.
1995	Suiza Occidental	57 casos, asociados al consumo de queso blando.

FUENTE: James, Microbiología moderna de los alimentos, 1994.

En 1983 en Massachusetts, EUA, el alimento implicado fue leche pasteurizada con 49 casos. En 1985 en California, EUA, el consumo de un queso estilo mexicano fue implicado en 100 casos de listeriosis, donde murieron 40 personas y desde entonces han ocurrido brotes esporádicos y casos epidémicos donde se indica que la principal vía es el consumo de alimentos contaminados. Se considera que la contaminación fue post pasteurización o una mezcla de leche cruda y pasteurizada utilizada en su elaboración (Schlech et al., 1983; Pritchard et al, 1994).

Este patógeno ha sido reconocido desde 1980, como causante de brotes en grupos susceptibles (Farber & Peterkin, 1991). La incidencia de listeriosis ha disminuido en los últimos años (Tappero et al, 1995), en aquellos países en donde se lleva un control de alimentos. En los países en donde se han presentado casos y brotes en años recientes son Suiza y Francia (Bula et al, 1995; Rocout, 1995; Salvat et al, 1995).

No se disponen de datos actualizados de la incidencia de este microorganismo en México, ya que los procesos gastroentéricos por *L. monocytogenes* no se declaran, o bien son incluidos en otros procesos diarreicos por no seguirse su análisis en forma rutinaria.

Listeria monocytogenes pertenece a la familia *Corynebacteriaceae*, se describe como un bacilo corto, Gram positivo, móvil a 22°C, anaerobio, intracelular facultativo, oportunista, no esporulado; mide de 1 a 2 mm de largo por 0.5 mm de ancho, sus extremos son curvos.(Fig.1) Son microorganismos con grandes capacidades de adaptación, crecen a temperaturas relativamente bajas de 4 a 10°C y con límites superiores de 40 a 42°C, al observarlo al microscopio presenta un movimiento de deslizamiento muy particular a temperatura ambiente, semejante a un espiral, se asemeja a las corinebacterias o a los diplococos Gram positivos, en cultivos viejos se pueden apreciar estructuras filamentosas largas que miden de 6-20 m de longitud, presentando una tinción irregular. (Seeliger y Jones, 1986: Jones y Seeliger, 1992: Bayles et al, 1996).

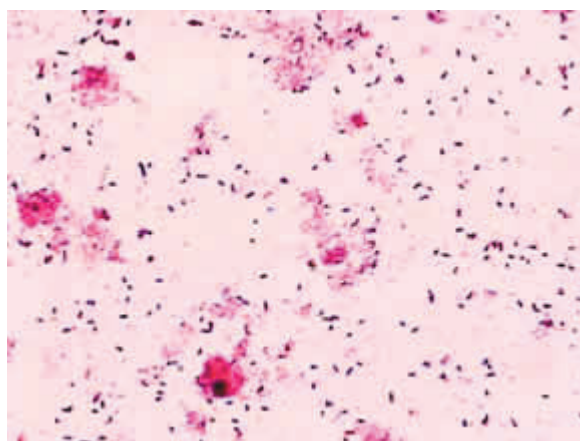


Fig.1 Bacilos G(+) de *Listeria monocytogenes*



Fig2. Movilidad en medio SIM

Se considera un anaerobio facultativo y microaerofílico ya que crece preferentemente en un medio con 10% de CO₂ y se inhibe en medios con 70% de CO₂ y 30% de N₂, es psicrotrófico ya que puede mantenerse viable a bajas temperaturas, posee flagelos peritricos, que dan un aspecto de "sombra" (Fig.2) al medio de movilidad a 20-25 °C, (Seeliger y Jones, 1986) crece en un intervalo de pH de 5.0 a 9.0 con óptimo de 5.8 a 7.0, (Juntilla, Niemala y Hirn, 1988), aunque se sabe que sobrevive con valores de pH fuera de este intervalo (Seeliger, 1961; Gray y Killiger, 1966); también sobrevive a concentraciones de NaCl hasta de 25.5% a 4 °C.; (McClure, et al. 1989; Marth, 1990)

En la 9ª edición del Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey, se listan 6 especies del género *Listeria* que son los siguientes: *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, y *L. desnitrificans*. Recientemente *L. desnitrificans*, se ha ubicado en un nuevo género, *Jonesia*. (Holt, et al. 1984).

Las cinco verdaderas especies del género *Listeria* por serotificación dan origen a 17 serovariedades de acuerdo a su antígeno somático O (1-4) y 15 serovariedades de acuerdo a sus cinco antígenos flagelares o antígenos H (a-e) (Seeliger y Höhne, 1979).

Se reconocen 11 serotipos (1/2 a, 1/2 b, 1/2 c, 3a, 3b, 4a, 4 ab, 4 b, 4c, 4d, y 4e). Los determinantes antigénicos de los antígenos (O) son ácidos teicoicos y ácidos lipoteicoicos de la envoltura celular, los anticuerpos dirigidos contra antígenos (O) de *Listeria monocytogenes*, presentan reacción cruzada con algunas otras bacterias Gram positivas, como *Corynebacterium*, *Staphylococcus aureus* y con los enterococos. (James, 1994).

Glosario:

Acidos lipoteicóicos: Es la asociación de ácidos teicóicos con lípidos de la membrana citoplasmática de bacteria Gram positivas.

Acidos teicóicos: Polisacáridos ácidos unidos a la pared celular de bacterias Gram positivas

Célula endotelial: Célula que forma parte del endotelio de un tejido.

Célula fagocítica: Célula que lleva acabo la ingestión de materia particulado.

Diplococo: Agrupación formada por dos cocos unidos entre sí.

Fosfolipasa: Enzima capaz de hidrolizar fosfolípidos.

Hemolisina: Toxina bacteriana capaz de lisar glóbulos rojos.

Lecitinasa: Enzima que emplea a menudo como sustrato a la lecitina (fosfatidilcolina)

Listeria monocytogenes: Bacilo corto Gram positivo, agente causal de la Listeriosis

Macrófago: Célula fagocítica que no circula por la sangre y que participa en la fagocitosis y en el proceso de producción de anticuerpos.

Micrómetro (mm): Se refiere a la millonésima parte de un metro, y es la unidad utilizada para medir microorganismos.

Psicrotrófico: Son microorganismos que tienen la capacidad de crecer a temperaturas de refrigeración (hasta -5°C) pero su óptima es de $20 - 35^{\circ}\text{C}$.

Serotipificación: Es un método para caracterizar bacterias con base a sus propiedades antigénicas

Bibliografía

Bayles, D.O., B.A. Annous y B.J. Wikilson. 1996. *Cold stress proteins induced in Listeria monocytogenes in response to temperature down shock and growth at low temperatures*. Appl. Environ. Microbiology. 62: 1116-1119.

Farber, J.M. y P. I. Peterkin. 1991 *Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen*. Microbiol. Rev., 55: 476-511.

Farber, J. M., P. I. Peterkin, A. O. Carter, P. V. Varughese, F. E. Ashton y E. P. Ewan. 1991. *Neonatal listeriosis due to cross-infection confirmed by isoenzyme typing and DNA fingerprinting*. J. Infect. Dis. 163:927-928.

Halt, H.G., W. R. Krieg, A. Sneath, J. T. Staley y S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, en Williams and Wilkins. 9a edición. Baltimore, EUA. p.p: 565-570.

James, M. T. 1994. *Listeriosis transmitida por alimentos*. En: *Microbiología Moderna de los Alimentos*. 6a edición. México D.F., p.p: 215-124.

Jones, D. y H.P.R. Seeliger. 1992. The genus *Listeria*. Balows, A., H.G.Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleiser (Ed.). En *The procaryotes. A handbook on the biology of bacteria: edophysiology, isolation, identification and applications*. 2a edición. Springer-Berlang. New York. p.p: 1595-1616.

Seeliger H.P.R y D. Jones. 1986. *The genus Listeria*. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. p.p. 1235-1245.

Schuchat, A.B. y C. V. Broome. 1991. **Epidemiology of human listeriosis**. Clin. Microbiol. Rev. 4: 169-183.

Schuchat, A., K. Robinson, J. D. Wenger, L. H. Harrison, M. Farley, A. L. Reingold, L. Lefkowitz, y B. A. Perkins. 1997. *Bacterial meningitis in the United States in 1995*. Active surveillance team. N. Engl. J. Med. 337:970-976