

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A	COSMETIKIT®	DRY PLATES®	MUGPLUS
CRIOTECA®	CHROMOSALM	DESINFECTEST®	CCCNT
PLAQUIS®	KITPRO-PLUS	CROMOKIT®	MBS
M-IDENT®	SEILAGUA®	SALMOQUICK	AIREANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

## MONOGRAFÍA *Listeria monocytogenes*

### 1-El microorganismo y su interrelación con el ser humano

El género *Listeria* comprende diversas especies de bacilos cortos o cocobacilos, Gram positivos, no esporulados, con varios flagelos peritricos que les permiten moverse dando volteretas cuando se encuentran a 25°C. Son anaerobios facultativos, catalasa positivos y oxidasa negativos. Su óptimo de crecimiento son los 30-37°C aunque es capaz de crecer incluso entre 1-45°C. *Listeria monocytogenes* es la única especie del género que es patógena para el ser humano y su tasa de mortalidad es una de las más elevadas dentro de las toxiinfecciones alimentarias. Es muy ubicua, aunque su hábitat más frecuente es el suelo y los vegetales en descomposición, donde se comporta como saprófita. Dada su amplia distribución, tiene continuas oportunidades de contaminar los alimentos, vía principal por la que provoca infecciones en las personas, por lo que tras los grandes brotes que hubo hace 3 décadas en quesos y ensaladas en diversos países, la UE exige desde 2005 su búsqueda intensiva en alimentos y ambientes de las fábricas y otras superficies de la cadena alimentaria. Los alimentos más frecuentemente implicados en estas toxiinfecciones alimentarias son la leche, el queso, los vegetales frescos, el pollo, los cárnicos loncheados, el pescado ahumado, las setas..., sin que ello signifique que no puede provocarlas desde cualquier otro alimento donde esté presente, o incluso desde el agua. Su forma de infección es intracelular; resiste los enzimas digestivos y la bilis tras la ingestión y provoca una toxina (listeriolisina) cuando se encuentra ya ingerida en vacuolas digestivas de las células del huésped, lo que le confiere una gran resistencia y provoca una enorme tasa de mortalidad (30%) a los afectados con bacteriemia o meningoencefalitis. Los inmunodeprimidos (ancianos, enfermos...) son especialmente sensibles, con efectos mortales para el feto en prácticamente el 100% de las mujeres embarazadas afectadas.



## 2-Los tipos de productos donde la legislación exige su búsqueda o recuento, así como otros tipos de productos donde a nuestro criterio, sería recomendable analizarlos

- Alimentos, excepto aquellos donde se haya ido demostrando que no es capaz de sobrevivir
- Superficies de las fábricas de alimentos y otras superficies de la cadena alimentaria

## 3-Los métodos oficiales para su detección/recuento

**En alimentos**, desde que cambió la ISO 11290 en 2004 (addenda) y según la última versión 2018, se emplea preenriquecimiento en caldo semiFraser, enriquecimiento en caldo Fraser, Aislamiento en Agar Ottaviani & Agosti y otro medio en placa a elección del laboratorio (ej: Agar Palcam). Luego se debe emplear TSYE-Agar para aislar colonias e identificarlas/confirmarlas. La confirmación de *Listeria spp.* es suficiente con microscopio y catalasa + (errata: dice – en la ISO). La de *L.monocytogenes*, además, debe ser beta-hemólisis + (aunque haya cepas donde es -), Rhamnosa + y Xylosa -. Deben emplearse las 4 cepas ISO 11133-2 para verificar que todos los medios funcionan correctamente.

**En superficies**, según la guía ANSES y la ISO 18593:2019, es preferible emplear esponjas abrasivas o toallitas y una vez raspado el biofilm con ellas, tratarlas como si fuera una muestra más de alimento (protocolo indicado aquí arriba).

## 4-Los métodos alternativos que mejoran la rapidez de los resultados y la robustez del análisis

**LISTERIQUEICK** es un kit que acorta la incubación del método ISO 11290 (3 días) a la mitad (sólo 36h), con magníficos resultados según su validación interna comparando muestras de todo tipo con el método oficial. Además tiene en cuenta el efecto matriz en muestras con conservantes, el gran y terrible olvido en microbiología alimentaria. Se puede emplear en dos versiones: con medios deshidratados y con medios preparados. Al igual que en el método oficial, si salen colonias sospechosas deben confirmarse. Pero si no aparecen, la industria se ahorra 36h en stock



de producto en cuarentena que perdería, de seguir el método oficial.

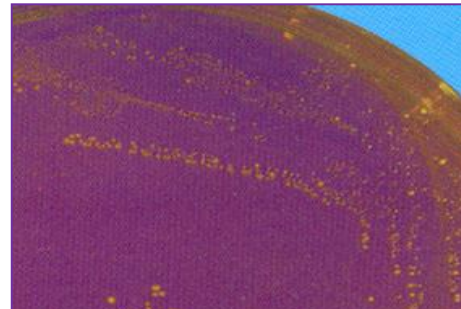


Izda: Negativo, crema.  
Dcha: Positivo para  
*Listeria spp.*, verde.

**LISTERISWABS-GREEN.** Aprovechando el despistaje negativo (ya que, si no hay *Listeria spp.*, no hay *Listeria monocytogenes*), se puede buscar el género, que es más fácil de interpretar que la especie gracias al medio oficial Ottaviani & Agosti, y descartar de entrada todas las muestras negativas, sin viraje a verde, desde las primeras 18h, con este kit de escobillón ISO 18593:2019. Otros kits se basan en el Fraser agarizado, y por ello dan una gran

proporción de falsos positivos de otros microorganismos Gram positivos inoos, que obligan a la industria a confirmar continuamente muestras que finalmente se demuestran negativas para *Listeria monocytogenes*. Validado por el fabricante (MICROKIT) con excelentes resultados.

**Confirmación de colonias sospechosas.** Al partir de agar cromogénico Ottaviani & Agosti, hay pocas opciones de confusión (a diferencia del uso de los ancestrales Agares Oxford, Palcam o Microblue o del aun más ancestral MacBride): *Listeria monocytogenes* crece con colonias verde-azuladas, pequeñas y con halo en el medio alrededor. Colonias verde-azuladas sin halo suelen ser de otras especies del género *Listeria* y colonias grandes, también verdes o azules, suelen ser de algunas especies de *Bacillus*. Crece en **Agar Bilis Esculina** (el medio confirmativo para enterococos fecales) y provoca **beta-hemólisis +**



Microblue Agar, un diseño de MICROKIT basado en la Rhamnosa, anterior al nacimiento de Ottaviani & Agosti, que lo eclipsó desde 2004



Izquierda: Rhamnosa Broth sin inocular.  
Centro: Rhamnosa positivo, *L.monocytogenes*.  
Derecha: Rhamnosa negativo, *L.ivanovii* u otra cepa

en agar sangre (salvo algunas cepas) y **CAMP +** (también hay cepas que no cumplen este criterio). Es **MR +**, **VP +**, Glucosa + (acidificación), Urea -, Indol -, SH<sub>2</sub> -, hidrólisis de gelatina -. Pero las pruebas que mejor confirman la especie para distinguirlas de las otras del género, sin necesidad de emplear medios con sangre, a partir de colonias verdes, pequeñas y con halo en el medio cromogénico Ottaviani & Agosti, son la **Xylosa -** y la **Rhamnosa +**.

## 5-Cómo vemos el futuro en la detección de este grupo

Tanto el método oficial como los métodos alternativos antes descritos, están funcionando muy correctamente, como se demuestra en intercomparación. No es un microorganismo difícil de detectar bien, como sí lo son *Campylobacter spp.*, *Clostridium spp.*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp* o *Burkholderia cepacia*.

Dada la ubicuidad de su hábitat, creemos que debería también buscarse activamente en agua de bebida, como ya han sugerido otros autores.