

**GÉNERO *LISTERIA* EN PRODUCTOS CÁRNICOS:  
MÉTODOS MOLECULARES PARA SU DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN**

Lell M, Epifane E, Cañete VA, Cuesta AI, Malis JE

**INTI Carnes**

acuesta@inti.gob.ar

**INTRODUCCIÓN**

El género *Listeria* agrupa microorganismos cuyas características son bacilos Gram positivos, no esporulados, aerobios-anaerobios facultativos. Numerosas especies pertenecen al género *Listeria*: *Listeria innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi* y *L. monocytogenes*; sólo esta última es patógena para el hombre.

*Listeria monocytogenes* es una bacteria ampliamente difundida en la naturaleza. Su presencia en los alimentos está determinada por su extensa distribución en el ambiente - tierra, aguas servidas, materia fecal, vegetación, ensilados y entorno de la producción de alimentos - lo que confiere una importante oportunidad para contaminarlos.

El control y detección de este microorganismo patógeno forma parte de sistemas de calidad como el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP) y monitoreo de inocuidad por SENASA.

**OBJETIVO**

Evaluar las características de métodos moleculares aplicados en la confirmación de aislamientos sospechosos de género *Listeria* y/o *Listeria monocytogenes* provenientes de muestras de salazones crudas y cocidas.

**DESCRIPCIÓN**

El laboratorio de microbiología de INTI-Carnes está trabajando en la implementación de metodologías para detección de patógenos en productos cárnicos, en particular se están validando métodos para detección e identificación de patógenos según metodologías ISO y USDA. (Figura 1 y 2)

Con la finalidad de evaluar métodos moleculares para identificar *Listeria monocytogenes* y género *Listeria*, se realizaron en paralelo el método de USDA (referencia 3) y métodos moleculares (referencia 1 y 2) para identificación de género y especie para muestras de salazones crudas y cocidas.

Los aislamientos obtenidos a partir de matrices cárnicas provenientes de 49 muestras de

salazones crudas y cocidas se han evaluado mediante la identificación de genes empleando cebadores prs F /prs R para género *Listeria* (1) y cebadores Lip1 F1/ Lip2 R1 para *Listeria monocytogenes* (Jofré et al.2005 referencia (2). (Tabla 1)

En todos los casos, se realizaron controles empleando material de referencia microbiológico: *Listeria monocytogenes* ATCC 19114, *Listeria ivanovii* ATCC 19119 y *Listeria innocua* ATCC 33090.

**Tabla 1:** Cebadores y amplicones específicos de género *Listeria* y *Listeria monocytogenes*.

Gen target	Secuencia de cebadores (5'-3')	Amplicon (pb)	Especificidad	ref
prs F	GCTGAAGA GATTGCCA AAGAAG	370	Género <i>Listeria</i>	1
prs R	CAAAGAAA CCTTGGAT TTGCGG		Género <i>Listeria</i>	1
Lip1 F1	GATACAGA AACATCGG TTGGC	406	<i>Listeria monocytogenes</i>	2
Lip2R1	GTGTAAC TGATGCCA TCAGG		<i>Listeria monocytogenes</i>	2



**Figura 1:** Laboratorio INTI-Carnes.



Figura 2: Salazones crudas.

## RESULTADOS

Los productos de la amplificación se revelaron mediante Electroforesis en gel de agarosa (Figura 3).

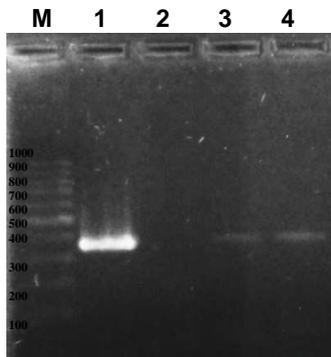


Figura 3: Electroforesis en gel de agarosa conteniendo amplicones de 370-bp correspondiente al gen *prs*. Calle M: Marcador de peso molecular (100bp Marker); Calle 1: *Listeria innocua* ATCC 33090; Calle 2: control de reactivos; Calle 3: aislamiento *Listeria innocua*; Calle 4: aislamiento *Listeria innocua*.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 2. En todos los casos para *Listeria innocua* se detectó el gen *prs* y no se detectó el gen *Lip*.

Tabla 2: Resultados obtenidos para los aislamientos que presentaron ennegrecimiento del Fraser y Mox mediante método de referencia (USDA) y metodologías moleculares.

Aislamientos	Cantidad evaluados	Resultados positivos Método (1)	Resultados positivos Método (2)	Resultados positivos USDA (3)
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	-	-	-
<i>Listeria ivanovii</i>	0	-	-	-
<i>Listeria innocua</i>	7	7	0	0
<i>Listeria welshimeri</i>	0	-	-	-
<i>Listeria seeligeri</i>	0	-	-	-
géneros <i>Bacillus</i> / <i>Clostridium</i>	2	0	0	0
géneros <i>Enterococcus</i> / <i>Streptococcus</i>	8	0	0	0
<i>Lmonocytogenes</i> ATCC 19114	1	1	1	1
<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	1	1	0	0
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	1	1	0	0

## CONCLUSIONES

Estos resultados preliminares indican que la PCR es especialmente útil en el análisis para investigación de *Listeria monocytogenes* en salazones por su gran sensibilidad y su alta especificidad.

Cobra importancia este método alternativo y complementario de identificación debido a la dificultad de diferenciar aislamientos de *Listeria monocytogenes* y *Listeria innocua*.

## BIBLIOGRAFÍA

(1) Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR Journal of clinical microbiology; 2004 : 3819–3822.

(2) Jofre A, Martina B, Garrigaa M, Hugasa M, Plab M, Rodríguez-L!azarob D, T. Aymerich T Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by multiplex PCR in cooked ham. Food Microbiology; 2005 (22):109–115.

(3) United States Department of Agriculture (USDA) Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, and Environmental Samples MLG 8.09; 05/01/2013.