



El riesgo de **LISTERIA MONOCYOTGENES** en productos cárnicos listos para consumir

VIRGINIA MENDOZA GUZMÁN

Facultad de Ciencias Químicas/Universidad Autónoma de Chihuahua

El Servicio de Inspección y Seguridad de Alimentos de Estados Unidos define los alimentos “listos para consumir” como aquellos que son comestibles sin que requieran tratamientos adicionales que aseguren su inocuidad. En estos productos, las barreras impuestas por las técnicas de preservación, en combinación con la refrigeración o congelación, son las que determinan su seguridad. El principal riesgo microbiológico de estos alimentos lo constituye el crecimiento del patógeno psicrotrófico *Listeria monocytogenes*, ya que tiene la característica de crecer bajo temperaturas de refrigeración, además de ser muy resistente y con amplia capacidad de adaptación frente a medios ambientes adversos; para su control se ha aplicado una gran diversidad de obstáculos al crecimiento microbiano, de tipo físico, químico y biológico; sin embargo, las condiciones de estrés subletal producen respuestas de adaptación del patógeno, aumentando su resistencia ante condiciones de mayor estrés.

Esta revisión aborda aspectos acerca del riesgo que representa *L. monocytogenes* en los productos cáрни-



Isamar M. Y. ROMERO LUJÁN: Bienvenida.



Isamaro M. Y. ROMERO LUÁN: El regreso.

bacteriana ante el estrés causado por las tecnologías de preservación.

Los alimentos listos para consumir (LPC) son actualmente una opción popular de consumo, debido principalmente a que la mayoría de ellos no requiere de ningún tratamiento antes de consumirlos. Sin embargo, dentro de estos, algunos productos preparados son perecederos, y después de cocinados requieren de refrigeración y son llamados *cook-chill* por Rodgers (2004).

La microbiota que presenta este tipo de alimentos es producto de las etapas y condiciones de su manufactura, ya que la elaboración de platillos cárnicos preparados involucra tres etapas. En la primera se realiza el procesamiento térmico, que por una parte favorece al desarrollo de características sensoriales y por otra reduce la carga microbiana. Si este proceso es adecuado, el producto es microbiológicamente seguro. En la segunda etapa se realizan operaciones como el rebanado, cortado, pesado y empaçado; durante esta última puede suceder la contaminación post-procesado (Franklin y col., 2004; Katla y col., 2002). La tercera etapa corresponde al almacenaje en refrigeración, que actúa limitando el crecimiento de microorganismos mesófilos y deteriorativos, favoreciendo su vida en ana-

quel al retrasar la aparición de los cambios sensoriales por deterioro. Sin embargo, la refrigeración permite el desarrollo de microorganismos psicrófilos y psicrótróficos, que pueden no modificar las características sensoriales del alimento, pero representar un riesgo para los consumidores (Farber, 1991; Rodgers, 2004).

Entre los microorganismos patógenos psicrótróficos se ha considerado a *Listeria monocytogenes* como la bacteria más peligrosa en este tipo de alimentos, debido a su habilidad para crecer a temperaturas de refrigeración (Doyle y col., 2001), además de que presenta una termotolerancia considerada como de las más elevadas entre los microorganismos que no forman esporas (Lin y Chou, 2004; Pagán y col., 1997), y por su gran adaptabilidad que le permite sobrevivir, crecer y multiplicarse en un amplio rango de pH y Aw (Lund y col., 2000; Singh y col., 2003). Otra característica que destaca su importancia es un elevado rango de mortalidad entre 20 y 30%, el segundo en importancia debido a bacterias (Murphy y col., 2005).

L. monocytogenes fue reportada por primera vez en 1926 como patógeno de especies animales. Inicialmente se llamó *Bacterium monocytogenes* debido a que infectaba monocitos de la sangre (Reuman, 2000). En 1930 se reportó una infección similar en hígado de gerbos enfermos y la llamaron *Listerella hepatolítica*, en honor del cirujano Joseph Lister; y fue en el año de 1940 cuando se le nombró *Listeria monocytogenes* (*Lm*). En 1966 se reportó por primera vez la enfermedad en humanos (Reuman, 2000).

Lm es una bacteria Gram positiva, cuya forma puede ir desde cocoide hasta bacilar; es anaerobia facultativa; no forma esporas; peritrica y móvil cuando se cultiva entre 20 y 26°C (Lund y col., 2000). El rango de temperatura de crecimiento corresponde al de bacterias psicrótróficas o psicrófilas facultativas. Aunque en 1983 se reportó que resiste las temperaturas de pasteurización de la leche, nunca fue aislada de la leche considerándose como contaminación post-pasteurización de acuerdo con Doyle y col. (2001). En el cuadro 1 se reportan rangos de temperaturas de crecimiento de psicrófilos, psicrótróficos y de *Lm*.

Dada su capacidad para crecer en muy diversos hábitats, como en ensilajes, aguas de desecho de rastro, lesiones mastíticas y también en el intestino de seres humanos y animales, puede encontrarse en sus heces y a través de ellas se puede contaminar el agua, leche, carne y otros alimentos, tanto para animales como para humanos (Lund y col., 2000).

Cuadro 1. Temperatura de crecimiento de psicrófilos, psicrotróficos y de *Listeria monocytogenes*.

	Temperatura °C		
	Mínima	Óptima	Máxima
Psicrófilos	- 5 a + 5	12 a 15	15 a 20
Psicrotróficos	- 5 a + 5	25 a 30	30 a 35
<i>Listeria monocytogenes</i>	0 a 4	30 a 37	45

Abee, 2002; Kültz, 2005.

En los productos cárnicos LPC curados y no curados, el principal riesgo de seguridad es *Lm* (Zhu y col., 2005). Debido a este hecho y teniendo en cuenta que es casi imposible eliminar completamente del medio ambiente al patógeno (Murphy y col., 2005), las autoridades sanitarias, Food Safety Inspection Service (FSIS) del United States Department of Agriculture (USDA) en 1989 decretaron una política de “cero tolerancia” a la presencia del patógeno en los productos cárnicos LPC, quedando sujetos a decomiso en cuanto el patógeno sea detectado. En nuestro país no existen datos estadísticos que indiquen la prevalencia de este patógeno en alimentos, ni la incidencia de listeriosis.

El riesgo de los productos cárnicos LPC

Los datos estadísticos de monitoreo de FSIS desde 1993 a 1999 sugieren que los hot dogs y las carnes para almuerzo están particularmente relacionados como vehículos de *Lm*, sobrevivientes al procesado o contaminantes post-procesado y con capacidad de multiplicarse a temperaturas de refrigeración (Katla y col., 2002). En 2005 se detectó un incremento en la incidencia de *Lm* en carne y productos cárnicos, principalmente en productos LPC; de tal manera que el control de este patógeno se ha convertido en un reto, ya que se requiere inhibir su crecimiento, pero al mismo tiempo mantener la calidad y frescura de estos productos dada la preferencia del consumidor (Marcos y col., 2008).

Los microorganismos deteriorativos son capaces de multiplicarse hasta rangos peligrosos durante los periodos de abuso de temperatura y llegan a deteriorar los alimentos provocando cambios organolépticos que actúan como señal que evita su consumo (Rodgers, 2004), en tanto que la presencia de patógenos puede pasar desapercibida, pues no siempre desarrollan señales sensoriales que pudieran alertar al consumidor. Cualquier célula psicrotrófica sobreviviente al tratamiento térmico puede crecer más rápidamente que la microbiota de descomposición durante el almacenamiento en refrigeración (Pagán y col., 1997).

Control del riesgo

De acuerdo con datos del FSIS, durante 2005 en Estados Unidos, de un total de un millón 465 mil 333 libras de productos cárnicos LPC retirados voluntariamente del mercado por los propios productores debido a diferentes causas, el 34.6% de ellos fue retirado debido a la posible presencia de *Lm*. Estas cifras permiten visualizar el alcance del problema y su significado económico.

Considerando la ubicuidad del patógeno, se considera que la contaminación post-proceso es muy probable, además de la dificultad para mantener la cadena de frío durante el almacenamiento, transporte y distribución de los productos, por lo que el FSIS estableció tres alternativas para el control de *Lm* en las plantas de procesamiento de alimentos LPC (2003). A partir de esta disposición, los procesadores deberán seleccionar los lineamientos de alguna de ellas para controlar al patógeno, de acuerdo con el tipo de alimento que producen. La primera alternativa consiste en la aplicación de un tratamiento térmico posterior al envasado en combinación con la adición de un agente antimicrobiano. La segunda alternativa se enfoca en la aplicación de uno de los tratamientos anteriores; y la tercera en la aplicación de las normas de Buenas Prácticas de Manufactura. En contraparte, la severidad de la inspección durante las auditorías del FSIS a las industrias está de acuerdo con la astringencia de cada alternativa (Lund y col., 2000).

Metodologías de control

Se ha investigado una variedad de técnicas para controlar el crecimiento de *Lm* en productos cárnicos LPC, en combinación con almacenamiento refrigerado; entre ellos se encuentran métodos biológicos, químicos y físicos, que han alcanzado éxito mediano en el control del patógeno.

Métodos químicos. Entre los compuestos con actividad antimicrobiana se han investigado ácidos orgánicos y minerales, reportando a los primeros como los más efectivos. El orden decreciente de efectividad antimicrobiana: acético > láctico > cítrico > clorhídrico (Eswarandaram y col., 2004). Y entre las sales se reporta el uso de soluciones de NaCl 25% ($A_w < 0.90$) aunque no con mucho éxito, ya que se observó que la bacteria sobrevivió cuando se incubó a 4°C después de 18 semanas (Bedie y col., 2001; Doyle, 2002). Se han utilizado otras sales sódicas como el lactato, acetato, diacetato y pirofosfato,

entre otras (Bedie y col., 2001; Glass y col., 2002; Juneja y Majka, 1995). Además, se han aplicado soluciones de lactato de sodio (1.32 – 3.4%) y diacetato de sodio sobre la superficie de salchichas lográndose retrasar el crecimiento de *Lm* de 4 a 12 semanas (Miller y Acuff, 1994). Asimismo, se reportó que el efecto de una solución con 3 y 4% de lactato de sodio aplicado sobre carne de res cocida y rebanada ocasionó una proliferación limitada de *Lm* al día 21 de la prueba; sin embargo, hacia el día 28 aumentó la población (Miller y Acuff, 1994).

Se ha estudiado también el efecto bacteriostático y/o bactericida de algunas especias o sus aceites esenciales, donde el laurel, canela, clavo y tomillo están entre los más eficaces contra *C. jejuni*, *S. aureus*, *S. enteridis* y *Lm* (Burt, 2004; Nychas, 1999; Shelef, 1983; Singh y col. 2003; Smith-Palmer, 1998). No obstante, una de las desventajas que presenta su uso, es el efecto sensorial sobre los alimentos debido a las concentraciones requeridas para la inhibición.

Diversos extractos de plantas contienen compuestos inhibidores del crecimiento bacteriano, como los flavonoides, y se encontró que el efecto sobre *Listeria* fue muy bajo, como el uso del extracto de *Garcinia indica*: garcinol, contra distintos patógenos al resultar la concentración mínima inhibitoria (MIC) para *Lm* de 25 ppm, reportándola menos sensible que *S. aureus*, pero más sensible que *E. coli* y *Y. enterocolitica* (Negi y Jayaprakasha, 2004).

Métodos biológicos. Consisten en la utilización de cultivos protectores (CP) de bacterias ácido-lácticas (BAL) productoras de bacteriocinas. La aplicación de CP debe realizarse con cuidado, ya que su uso puede afectar sensorialmente los alimentos, debido a la presencia física de las bacterias y de los metabolitos generados durante su crecimiento. Por lo anterior, la aplicación de CP debe ser estudiada correctamente antes de su aplicación comercial (Rodgers, 2002).

Otra metodología empleada para combatir la microbiota patógena consiste en la aplicación de bacteriocinas purificadas con el objeto de evitar las desventajas del uso de cultivos. Estas bacteriocinas son péptidos con actividad inhibitoria o destructora de otras especies de microorganismos estrechamente relacionados e incluso tienen efecto sobre cepas de la misma especie (Madigan y col., 2004). Las bacteriocinas se designan de acuerdo con la espe-

cie del organismo que la produce; entre ellas están la nisina y lacticina producidas por *Lactococcus lactis*; sakacina por *Lactobacillus sake*; pediocina producto de *Pediococcus acidilactici*; reuterina generada por *Lactobacillus reuteri*, helveticina formada por *Lactobacillus helveticus* y otras (Gould, 1999). Cuando se aplicó superficialmente nisina en salchicha, se logró reducir en 2 ciclos logarítmicos la población de una mezcla con 5 cepas de *Lm*, (Foong y col., 2004). En otro estudio llevado a cabo sobre piezas de pollo empacadas al vacío, se alcanzó un éxito similar, utilizando tanto sakacina como *Lactobacillus sake* (Katla y col., 2002).

En otro estudio (El-Ziney y Devere, 1998), aplicado sobre leche, se encontró que *Lm* frente a reuterina fue más resistente que *E. coli* O157:H7, alcanzando a reducir entre 2 y 5 ciclos logarítmicos la población de *Listeria*, y se observó que la adición de 3.0% de NaCl, aumentó el efecto letal sobre esta.

Eswaranandam y col. (2004) elaboraron una película para empaque a partir de fracciones de proteínas de soya impregnadas con nisina, utilizando como material plastificante diferentes ácidos (cítrico, láctico, málico, tartárico) y demostraron que el efecto letal sobre *Lm* fue mayor cuando la película fue impregnada con málico.

Métodos físicos. Para reducir el riesgo de la presencia del patógeno, se han empleado diferentes métodos como el envasado en atmósferas modificadas. Al respecto, se ha reportado que al inocular chuletas de cerdo con *L. monocytogenes*, tanto en atmósfera normal como en una con 40/60 CO₂/N₂, el patógeno creció más lentamente que la microbiota deteriorativa; al incluir en la atmósfera 10% de O₂ (40/10/50) el crecimiento se redujo (Manu-Tamiah y col. 1993).

El efecto de la atmósfera sobre la microbiota es selectiva; en presencia de oxígeno predominan los aeróbicos y disminuyen los anaerobios estrictos; en tanto que en ausencia de este gas se favorece el crecimiento de anaeróbicos y microaerófilos. Entre los gases utilizados para modificar la atmósfera de empaque solo el CO₂ presenta actividad antimicrobiana debido a que su disolución en agua trae como consecuencia la formación de ácido carbónico que produce la acidificación del medio:



Sin embargo, dado que su ionización sucede alrededor de 6.0, puede penetrar la célula en forma no disociada y dentro de ella se disocia reduciendo el pH interno, lo que ocasiona que la célula utilice los mecanismos fisiológicos homeostáticos para recuperar el valor del pH interno normal, expulsando protones con el gasto del ATP, impidiendo que sea utilizado para crecimiento (Beales, 2004). Además, existen otras teorías sobre el mecanismo de acción del CO_2 que describen que altera las funciones de la membrana celular con efectos sobre la ingesta y absorción de nutrientes, reducción de la actividad de algunas enzimas y cambios en propiedades de las proteínas (Beales, 2004; Eswarandaram y col., 2004).

Estudiando la respuesta de *Lm* bajo anaerobiosis y en atmósferas con diferentes concentraciones de CO_2 se ha reportado que dependiendo de la cepa y su sensibilidad al ácido, se presentan cambios en la composición de los ácidos grasos (AG) de membrana, siendo el efecto un aumento en AG insaturados, ramificados en posición iso y anteiso; un aumento en la actividad de la enzima isocitrato deshidrogenasa y una sobreexpresión de los genes *gad A*, *B*, y *C*, subunidades de la enzima glutamato descarboxilasa, citada como indispensable para la

resistencia al ácido (Jydergaard-Axelsen y col., 2004).

Dentro de las tecnologías aplicadas con el fin de controlar el desarrollo del patógeno, está un grupo de metodologías consideradas como nuevas tecnologías. La mayoría de ellas se encuentra aún bajo estudio; solo algunas se aplican comercialmente. Entre ellas, la aplicación de pulsos eléctricos, elevadas presiones hidrostáticas (HHP) y radiaciones ionizantes (Chawla y Chandler, 2004; Foong y col., 2004; Mendonca y col., 2004).

Una característica común de estos métodos es que no son letales al aplicarse individualmente; sin embargo, la combinación adecuada de barreras es una herramienta poderosa para obtener la acción sinérgica (Abee, 2002).

La técnica de obstáculos o barreras múltiples al crecimiento bacteriano es una combinación de tratamientos subletales y se considera actualmente como la posibilidad más promisoría para reducir el riesgo que representan estos alimentos, ya que los blancos bacterianos de tales tecnologías son diferentes y al actuar en conjunto se reduce la posibilidad de crecimiento microbiano (Alzoreki y Nakahara, 2002; Chawla y Chandler, 2004; Mendonca y col., 2004).



Janette M. MENDOZA MÁRQUEZ. *Detrás de la puerta.*

Se han utilizado metodologías diversas para lograr la inactivación del patógeno en los últimos cinco años; entre las barreras empleadas se ha probado la elaboración de películas con bacteriocinas, HHP y almacenamiento refrigerado, obteniéndose un éxito moderado al utilizar película de alginato impregnada con 2000 unidades/cm² enterocinas y almacenamiento a 6°C, reportado por Marcos y col., (2007a); pero lograron una reducción de la carga microbiana hasta 4NMP/g de *Lm* en jamón cocido, utilizando HHP (400 MPa por 10 minutos), adicionando enterocinas, lactato de potasio en combinación con diacetato sódico y almacenando a 1°C (Marcos y col., 2007b). Koseki y col. (2007) al utilizar HHP, (500 MPa por 10 minutos) vieron que se redujo la población de *Lm* a niveles apenas detectables (10 UFC/g); sin embargo, durante el almacenamiento a 10°C, la población se recupera y rebasa el nivel de inóculo (5 log) llegando hasta 7 – 8 log en 70 días.

Resistencia ante el estrés

La respuesta al estrés celular es un mecanismo universal que se presenta como una reacción de defensa de la célula ante el daño que provoca el medio ambiente a sus macromoléculas (Feder y Hoffman, 1999). Estas respuestas están dirigidas a restablecer la homeostasis. Y en algunas ocasiones son específicas del factor causante del estrés. Los mecanismos celulares de respuesta activados por el daño al ADN y a las proteínas están interconectados y comparten elementos comunes. Todos los organismos tienen proteínas del estrés, que son conservadas universalmente y pueden ser consideradas como el proteoma del mínimo estrés. Además, las células pueden cuantificar el estrés y activar el programa de muerte (apoptosis) cuando se exceden los límites de tolerancia (Kültz, 2005).

Frente a diferentes tipos de estrés como el calor, acidez, antimicrobianos y otros, los microorganismos se adaptan al estrés utilizando respuestas fisiológicas como la expulsión de protones en condiciones de acidez subletal o generando cambios de composición de los AG de membrana (Lund y col., 2000; Russell y col., 1992). El término subletal se aplica a cualquier tratamiento cuyo objetivo es extender la vida en anaquel, pero que no alcanza la muerte de la célula vegetativa. Aunque también se incluyen respuestas de tipo genético que involucran la expresión de genes que se traducen en proteínas que se contraponen y protegen contra el

estrés generado por las condiciones medioambientales adversas, produciendo el aumento de la resistencia que puede ser transitoria o permanecer por periodos de tiempo definidos, lo cual es dependiente de las condiciones e incluso puede presentarse resistencia hacia otro tipo de estrés (Juneja y col., 1998; Lund y col., 2000). Un ejemplo lo constituye el cultivo de *Lm* Scott A, bajo condiciones de estrés subletal a pH 5.5, le permite sobrevivir y crecer a pH 3.5, el cual normalmente sería letal (Lou y Yousef, 1997).

Un ejemplo de respuesta cruzada es la producción de proteínas de choque térmico (HSP) que también se generan bajo estrés ácido (Pagán y col., 1997; Lin y Chou, 2004). En el cuadro 2 se citan algunas respuestas bacterianas ante el estrés. Bajo choque térmico se producen proteasas y chaperonas; las primeras tienen por función eliminar las proteínas que han perdido irreversiblemente su conformación nativa, evitando que se acumulen, y las chaperonas son proteínas que favorecen la recuperación del plegamiento correcto, permitiendo de este modo que recuperen su funcionalidad (Lund y col., 2000; Periago y col., 2002; Jydegaard-Axelsen y col., 2004; Wemekamp-Kamphuis y col., 2004). En el cuadro 3 se presentan los efectos de algunos tratamientos subletales sobre el aumento de la resistencia hacia diferentes tipos de estrés.

Los cambios en las condiciones óptimas de crecimiento bacteriano representan condiciones de estrés para los microorganismos (Roller, 1999). Las técnicas de procesamiento aplicadas en los productos cárnicos LPC son subletales, por lo que los microorganismos pueden permanecer en el alimento, pero con una mayor resistencia frente a una nueva condición de estrés (Abee, 2002). Esto se traduce en el aumento del riesgo de consumo, que debe ser abatido por la combinación de barreras.

El mecanismo de resistencia denominada “cruzada” ha sido investigada por sus implicaciones en la seguridad de este tipo de alimentos (Bayles, 2004; Juneja y col., 1998; Van Sheik y col., 1999). Un ejemplo de respuesta cruzada es el desarrollo de resistencia en diferentes cepas de *Lm* frente a estrés térmico subletal (45°C) aplicado por un periodo de tiempo definido. Este tratamiento le confiere a la bacteria, resistencia ante temperaturas más elevadas (55°C) además de la resistencia ante elevada osmolaridad (25% NaCl). En la tabla 3 se resume la aparición de respuestas cruzadas ocasionadas por diferentes tipos de estrés sobre *Lm* Scott A.

Cuadro 2. Diferentes tipos de respuesta de adaptación al estrés.

Tipos de estrés	Respuesta	Microorganismo	Fuente
Choque térmico o ácido	Modificación de la composición de lípidos de membrana. Concentración de solutos termoprotectores. Producción de chaperonas y proteasas	Lm Scott A, M.G. B. cereus, Lm 10403S, Lm Scott A	Glass y col. 2002, Roller, 1999 Kültz miller y Acuff, 1994 Singh y col., 2003 Koustumanis y col., 2003
Estrés oxidativo	Producción de enzimas SOD y catalasa	M.G.	Kültz, 2005
Estrés osmótico	Concentración de solutos osmoprotectores	M.G.	Kültz, 2005, Dolyle, 2002
Bacteriocinas y anaerobiosis	Modificación de la composición de lípidos de membrana.	Lm 412, Lm L028, Lm EDGe	Gould, 1999
Agotamiento de nutrientes	Inducción de la fase estacionaria	M.G.	Kültz, 2005

Lm = *Listeria monocytogenes*.

M.G. = Mecanismo general. Respuesta que presentan la mayoría de los microorganismos ante condiciones de estrés definidas.

El aumento en la resistencia bacteriana depende de factores como las condiciones medioambientales que pueden ser impuestas por la propia composición del alimento y la proporción de sus componentes. Entre estos factores se pueden citar: el tipo de carne de que se trate, el tipo de músculo, pH, contenido y tipo de carbohidratos, cantidad de grasa, sal y agua (Adams y Moss, 2004). Por lo general, la resistencia bacteriana es superior en los productos cárnicos que en los medios de cultivo de laboratorio (Marks, 2003). Otro factor que influye en la respuesta bacteriana son las condiciones impuestas por las técnicas de procesamiento utilizadas para su conservación, como el tipo y severidad de los tratamientos: temperatura, acidez, Aw, rangos de enfriamiento y calentamiento (Lin y Chou, 2004). Asimismo, influyen las características relativas a microorganismos, como su estado fisiológico, la especie, cepa, fase de crecimiento (Juneja y col.; 1998; Lin y Chou, 2004) y la historia preliminar a la aplicación del estrés que permite su adaptación a condiciones más severas (Miller y col., 2000).

En relación con la respuesta cruzada ante el estrés, la genética brinda la explicación a este hecho, describiendo que los genes involucrados en la resistencia a un tipo de estrés específico (ácido por ejemplo) se expresan al mismo tiempo que otros que determinan otras características (como la virulencia), debido probablemente a su proximidad en una región del genoma y teniendo posiblemente un factor de la transcripción en común (Lund y col., 2000).

Los diferentes tipos de estrés inducen la producción de proteínas específicas requeridas para las funciones que permiten la adaptación al estrés y la supervivencia (Feder y Hoffman, 1999). Actualmente, no han sido del todo identificados los mecanismos involucrados; en tanto que otros ya han empezado a conocerse. En el cuadro 4 se resumen algunos de los genes expresados ante diferentes condiciones de estrés.

Para que las proteínas necesarias para el aumento en la resistencia al estrés estén presentes en el momento adecuado, es indispensable la expresión de los genes en que están codificadas, para lo cual deberán hallarse todas las moléculas involucradas en el proceso; entre ellas se encuentran las sensoras, que detectan con rapidez las señales ocasionadas por el estrés, así como las reguladoras (factores) de la transcripción, proteínas que identifican las zonas del genoma que han de transcribirse (Ferreira y col., 2003).

Al estudiar la respuesta ante el estrés por choque frío, se encontró que de nueve cepas de *Lm* probadas para el desarrollo de la tolerancia al frío, solo tres se expresaron (Miller y col., 2000) y aquellas que lo hicieron mostraron diferencias en la magnitud de la respuesta, dependiendo de la fase de crecimiento en que se aplicó el choque frío. La respuesta de resistencia fue medida como el aumento en

Cuadro 3. Respuesta cruzada ocasionada por diferentes tipos y niveles de estrés sobre *Listeria monocytogenes* Scott A.

Factor de estrés	Resistencia cruzada
Calor	H ₂ O ₂ (0.1%)
	Etanol (17.5%)
	NaCl (25%)
Etanol	Ácido (3.5 pH)
	NaCl (25%)
	H ₂ O ₂ (0.1%)
Ácido	Etanol (5%)
	Cristal violeta (100mg/L)

Koustumanis y col., 2003; Lin y Chou, 2004; Lou y Yousef, 1997; O'Driscoll y col., 1996.

Cuadro 4. Expresión genética bacteriana bajo diferentes tipos de estrés.

Estrés	Microorganismo	Proteínas	Referencia
Ácido	Lm LO28	Pfr = Regula genes de virulencia InIA = virulencia	O'Driscoll y col., 1996
	E. coli	GroEL y DnaK = chaperonas	
Ácido	Lm EDGe	Fla = Virulencia Hpr = Transporte de fósforo Cip = Proteasa dependiente de ATP Pfk = Fosfofructokinasa GadA, GadB, GadC y Gad E	Wemwkamp-Kampuis y col., 2004
Ácidos orgánicos	Levaduras	Pdr12 = resistencia multidrogas	Brul y Coote, 1999
Nisina	Lm P	PfrA, Fla = virulencia	Duffes y col., 2000
Térmico	Bacillus cereus	SodA = proteínas del estrés DnaK = Chaperona	Periago y col., 2002
Atmósfera de CO ₂	Lm LO28	Glutamato descarboxilasa GadA, GadB, GadC = GDC	Jydegaard-Axelsen y col., 2004

sensibilidad térmica y el efecto más pronunciado se produjo en células en fase estacionaria.

Los tratamientos aplicados ocasionan determinados tipos de estrés y esto ha sido investigado para comprender la respuesta de los microorganismos. Bajo estrés osmótico se produce un efecto identificado como osmorregulación u osmoadaptación, que consiste en la acumulación de solutos de bajo peso molecular dentro del citoplasma; de tal manera que aumenta la solubilidad de iones anfotéricos y algunas moléculas clave, para reducir la concentración interna de sales. Estos compuestos incluyen un amplio rango de compuestos químicos como betaína, prolina, taurina, colina, péptidos pequeños, trehalosa, glicerol, sucrosa, manitol, arabinol, aminoácidos y derivados de ellos (Doyle y col., 2001).

Algunos de los sustratos que dan origen a estos solutos osmoprotectores son fosfolípidos de membrana, proteínas y péptidos extracelulares, los cuales pueden servir como fuentes potenciales de solutos compatibles (Kültz, 2005).

Lm presenta mayor supervivencia cuando ha sido adaptada al ácido que cuando no lo ha sido. *Lm* ATCC7644 cultivada a pH 5.0 fue capaz de crecer a pH 4.5 (Mendoza, 2005). Se observó que aumenta la virulencia durante este tipo de adaptación (Ferreira y col., 2003; Koutsoumanis y col., 2003; Lou y Yousef, 1997; Lund y col., 2000).

Cuando se produce el estrés por agotamiento de nutrientes bajo condiciones de elevada población bacteriana se produce un tipo de comunicación denominada *quórum sensing*, que sucede vía metabolitos mensajeros y que ocasiona la expresión de genes específicos. Se ha citado que aún cuando no se produzca

la condición de agotamiento de nutrientes, es posible que estas señales favorezcan el aumento en la resistencia de los microorganismos hacia el calor o hacia otros tipos de estrés (Lund y col., 2000; DeLisa y col., 2001).

Muchos son los mecanismos de sobrevivencia de que dispone *Lm* para resistir a los diferentes tipos de estrés –por ejemplo el estrés por frío–; inducen cambios en la composición de lípidos de membrana, aumentando la instauración y la ramificación con objeto de reducir el punto de fusión y mantener una fluidez adecuada en membrana. Se induce también la expresión de proteínas protectoras Cap y Csp; así como la síntesis de solutos crioprotectores. Frente al ácido se induce la síntesis de proteínas específicas: constituyentes de la glutamato descarboxilasa que participa en el mecanismo de adaptación al ácido, además del mecanismo homeostático de eflujo de protones. La resistencia contra la temperatura elevada involucra la síntesis de solutos osmoprotectores, y como parte muy importante de su sistema de resistencia está el factor *s^B*, que al unirse al a RNA-polimerasa estimula la respuesta ante diferentes tipos de estrés, al seleccionar los genes que se han de expresar para la resistencia ante determinado tipo de estrés (Gandhi y Chikindas, 2007).

Conclusiones

En estudios comparativos de resistencia de *L. monocytogenes* contra otros patógenos de origen alimentario, se ha demostrado tener mayor resistencia a muchos de los tratamientos aplicados. Esto significa que las metodologías empleadas para el control de tales patógenos pueden no ser efectivas para *Lm*. Asimismo,

Isamará M. Y. ROMERO LUIJÁN. *Labores del hogar.*

mo, se considera que la reducción de la resistencia térmica del patógeno ante el estrés por frío puede ser el inicio de una estrategia de control en los alimentos cárnicos LPC, que podría derivarse de la temperatura medioambiental reducida en la sala de preparación; de tal modo que la presencia del patógeno en esas condiciones le confiera mayor sensibilidad térmica y permita su destrucción durante el procesamiento térmico. Los efectos de resistencia cruzada resultan especialmente importantes, ya que definen la supervivencia del patógeno en las condiciones de proceso, por lo que es importante desarrollar más investigación en este aspecto. Igualmente, es importante investigar los efectos sinérgicos entre los diferentes factores que afectan el desarrollo microbiano.

Debido a la variabilidad de las respuestas que son dependientes de los distintos factores como las características de los alimentos, su pH, A_w , Eh, las condiciones de procesamiento y almacenamiento como la metodología de empaque, su atmósfera, las temperaturas y los tiempos y una serie de consideraciones que deben tomarse en cuenta, por ejemplo las interacciones entre los componentes de los alimentos a causa de las barreras impuestas, la presencia de otros microorganismos y sus interacciones, indican la necesidad de desa-

rollar combinaciones de metodologías o barreras múltiples que aplicadas a cada uno de los distintos productos cárnicos LPC posibiliten el control de *Lm*.

En México recientemente se han iniciado estudios sobre este patógeno, por lo que no se cuenta con estadísticas de la incidencia de listeriosis ni de su prevalencia en alimentos. Es necesario llevar a cabo estudios para identificar el riesgo que representa este patógeno en nuestro país, detectar cuáles son las cepas comunes, los datos sobre su virulencia, y los resultados definirán la pertinencia de establecer un programa de control por parte de las autoridades sanitarias mexicanas.

Considerando la importancia de la detección de la presencia del patógeno que permite la evaluación del riesgo en los alimentos LPC, deben determinarse los factores relevantes:

1. Niveles del patógeno en la materia prima.
2. La efectividad y letalidad del tratamiento aplicado a distintos productos.
3. Considerar la evaluación de la exposición potencial de los productos a la contaminación después del tratamiento letal.
4. Establecer la evidencia de la contaminación del producto, revelada por el análisis del producto terminado.

Literatura citada

- ABBE, T.: "Microbial stress response in minimal processing", *Frontiers in microbial fermentation and preservation*, Wageningen, The Netherlands (enero de 2002), pp.9-11.
- ADAMS, M.R. y M.O. MOSS: *Food Microbiology*, Cambridge, Inglaterra, The Royal Society of Chemistry, 2a. ed., 2004.
- ALZAMORA, S.M.; M.S. TAPIA y A. LÓPEZ-MAL: *Minimally Processed Fruits and Vegetables*, Aspen Publications, 2000.
- ALZOREKI, N.S. y K. NAKAHARA: "Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia", *J. of Food Microbiology*, 80 (2002), pp. 223-230.
- BAYLES, D.O.: "Changes in heat resistance resulting from pH and nutritional shifts of acid-adapted and non-acid-adapted *Listeria monocytogenes* Scott A.", *J. of Food Protection*, vol. 67, n. 2 (2004), pp. 316-321.
- BEALES, N.: "Adaptation of microorganisms to cold temperature, weak acid preservatives, low pH and osmotic stress", *Comprehensive Reviews in Food Sci. and Food Safety*, vol., 3 (2004), pp. 1-19.
- BEDIE, G.K.; J. SAMELIS; J.N. SOFOS; K.E. BELK; J.A. SCANGA y G.C. SMITH: "Antimicrobials in the formulation to control *Listeria monocytogenes* postprocessing contamination on Frankfurters stored at 4°C in vacuum packages", *J. of Food Protection*, vol. 64, n. 12 (2001), pp. 1949-1955.
- BRUL, S. y P. COOTE: "Preservative agents in Foods. Mode of action and microbial resistance mechanism. International", *J. of Food Microbiology*, 50 (1999), pp. 1-17.
- BURT, S.: "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods", *International Journal of Food Microbiology*, 94 (2004), pp. 223-253.
- CHAWLA, S.P. y R. CHANDLER: "Microbiological safety of shelf-stable meat products prepared by employing hurdle technology", *Food Control*, 15 (2004), pp. 559-563.
- DELISA, M.P.; J.J. VALDEZ y W.E. BENTLEY: "Mapping stress-induced changes in Autoinducer AI-2 production in Chemostat-cultivated *Escherichia coli*.", 2001.
- DOYLE, E.: *Survival and growth of Clostridium perfringens during the cooling step of thermal processing of Meat products*, Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison, 2002.
- DOYLE, M.E.; A.S. MAZZOTA; T. WANG; D.W. WISEMAN y V.N. SCOTT: "Heat resistance of *Listeria monocytogenes*" *J. of Food Protection*, vol. 64, n. 3 (2001), pp. 410-429.
- DUFFES, F.; P. JENOE y P. BOYVAVAL: "Use of two-dimensional Electrophoresis to study differential Protein expression in Divericin V41-resistant and wild-type strain of *Listeria monocytogenes*", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, n. 10 (2000), pp. 4318-4324.
- EL-ZYNEY, M.G. y J.M. DEVEBERE: "The effect of reuterin on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7, in milk and cottage cheese", *J. of Food Protection*, vol. 61, n. 10 (1998), pp. 1275-1280.
- ESWARANANDAM, S.; N.S. HETTIARACHCHY y M.G. JOHNSON: "Antimicrobial activity of citric, lactic, malic or tartaric acids and nisin incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella gaminara*", *Journal of Food Sci. FMS*, vol. 69, n. 3 (2004), pp. 79-84.
- FARBER, J.M.: "Microbiological aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology", *J. of Food Protection*, vol. 54, n. 1 (1991), pp. 58-70.
- FEDER, M.E. y G.E. HOFFMAN: "Heat Shock proteins, molecular chaperones and stress response. Evolutionary and ecological physiology", *Annual Rev. Physiol.*, 61 (1999), pp. 243-282.
- FERREIRA, A.; D. SUE; C.P. O'BYRNE y K.J. BOOR: "Role of *Listeria monocytogenes* s^B in survival of lethal acidic conditions and in the Acquired Tolerance Response", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, n. 5 (2003), pp. 2692-2698.
- FRANKLIN, N.B.; K.D. COOKSEY y K.J. GETTY: "Inhibition of *Listeria monocytogenes* on the surface of individually Packaged Hot dogs with packaging film coating containing Nisin", *J. of Food Protection*, vol. 67, n. 3 (2004), pp. 480-485.
- FOONG, S.C.C.; G.L. GONZÁLEZ y J.S. DICKSON: "Reduction and survival *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats after irradiation", *J. of Food Protection*, vol. 67, n. 1 (2004), pp. 77-82.
- GANDHI, M. y M. CHIKINDAS: "*Listeria*. A foodborne pathogen that knows how to survive", *International J. of Food Microbiology*, 113 (2007), pp. 1-15.
- GLASS, K.A.; D.A. GRANGBERG; A.L. SMITH; A.M. McNAMARA; M. HARDIN; J. MATTIAS; K. LADWIN y E.A. JOHNSON: "Inhibition of *Listeria monocytogenes* by sodium diacetate and sodium lactate on wieners and cooked bratwurst", *J. of Food Protection*, vol. 65, n. 1 (2002), pp. 16-123.
- GOULD, G.W.: *New Methods of Food Preservation*, Aspen Publication, 1999.
- JUNEJA, V.K. y W.M. MAJKA: "Outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in cook-in-bag beef products", *J. of Food Safety*, 15 (1995), pp. 21-34.
- JUNEJA, V.K.; T.A. FOGLIA y B.S. MARMER: "Heat resistance and fatty acid composition of *Listeria monocytogenes*: effect of pH, acidulant and growth temperature", *J. of Food Protection*, vol. 61 (1998), pp. 683-687.
- JYDEGAARD-AXELSEN, A.M.; P.E. HOIBY; K. HOLMSTOM; N. RUSSEL y S. KNOCHEL: "CO₂ – and Anaerobiosis-induced changes in Physiology and Gene expressions of different *Listeria monocytogenes* strain", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, n. 7 (2004), pp. 4111-4117.
- KASEKI, S.; Y. MIZUNO y K. YAMAMOTO: "Predictive modeling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing", *International J. of Food Microbiology*, 2007.
- KATLA, T.; T. MORETRO; I. SVEEN; I.M. AASEN; L. AXELSSON; L.M. ROVIK y K. NATERSTAD: "Inhibition of *Listeria monocytogenes* in chicken cold cuts by addition of sakacin P and sakacin P-producing *Lactobacillus sakei*", *J. of Applied Microbiology*, vol. 93 (2002), pp. 191-196.
- KOUTSOUMANIS, K.P.; P.A. KENDALL y J.N. SOFOS: "Effect of Food Processing-related Stresses on acid tolerance of *Listeria monocytogenes*", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, n. 12 (2003) pp. 7514-7516.
- KÜLTZ, D.: "Molecular and evolutionary basis of cellular stress response", *Annual Review of Physiology*, vol. 67 (2005), pp. 225-257.
- LI, J.; M.L. CHIKINDAS; L.D. LUESCHER y T.J. MONTVILLE: "Temperature- and Surfactant-Induced Membrane Modifications That Alter *Listeria monocytogenes* Nisin Sensitivity by Different Mechanisms", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, n. 12 (2002), pp. 5904-5910.
- LIN, Y.D. y Ch. CHOU: "Effect of Heat on Thermal tolerance and susceptibility of *Listeria monocytogenes* to other environmental stresses", *Food Microbiology*, 21 (2004), pp. 605-610.
- LOU, Y. y A.E. YOUSEF: "Adaptation to Sublethal environmental stresses protects *Listeria monocytogenes* against lethal preservation factors", *Applied Environmental Microbiology*, vol. 63, n. 4 (1997), pp. 1252-1255.

- LUND, M.B.; T.C. BAIRD-PARKER y G.W. GOULD: *The microbiological safety and Quality of Food*, Aspen Publication, 2000.
- MADIGAN, M.T.; J.M. MARTINKO y N.D. PARKER: *Brock Biología de los Microorganismos*, España, Prentice-Hall-Pearson Educación, 2004.
- MANU-TAMIAH, W.; D.J. MYERS; D.G. OLSON y R.A. MOLINS: "Survival and Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in pork chops Packaged under Modified Gas atmospheres", *J. of Food Sci.*, vol. 58, n. 3 (1993), pp. 475-479.
- MARCOS, B.; T. AYMERICH; J.M. MONFORT y M. GARRIGA: "Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked Ham" (artículo en prensa), *International J. of Food Microbiology*, 2007.
- MARCOS, B.; A. JOFRÉ; T. AYMERICH; J.M. MONFORT y M. GARRIGA: "Combined effect of natural antimicrobials and high pressure processing, to prevent *Listeria monocytogenes* growth after cold chain break, during storage of cooked ham", *Food Control*, 19 (2008), pp. 76-81.
- MARKS, B.P.: "Food Safety beyond guidelines and regulations", *Meat marketing and Technology*, Agricultural Engineering Michigan State University, vol 10, n. 10 (2003), pp 65-72.
- MENDONCA, A.F.; M.G. ROMERO; M. LIHONO; A. NANNAPANENI y M.G. JOHNSON: "Radiation resistance and virulence of *Listeria monocytogenes* Scott A following starvation in physiological saline", *J. of Food Protection*, vol. 67, n. 3 (2004), pp. 470-474.
- MENDOZA, G.V.: "Resistencia de *Listeria monocytogenes* ATCC7644 ante condiciones ácidas. Libro de Reúmenes", V Congreso del Noroeste- I Nacional en Ciencias Alimentarias y Biotecnología, 2005.
- MILLER, A.J.; D.O. BAYLES y S. EBLEN: "Cold Shock induction of thermal sensivity in *Listeria monocytogenes*", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, n. 10 (2000), pp. 4345-4350.
- MILLER, R.K. y G.R. ACUFF: "Sodium Lactate affects pathogens in cooked beef", *J. of Food Sci.*, vol. 59, n. 1 (1994), pp. 15-19.
- MURPHY, R.Y.; R.E. HANSON; N. FEZE; N.R. JOHNSON; L.L. SCOTT y L.K. DUNCAN: "Eradicating *Listeria monocytogenes* from Fully Cooked Franks by using an Integrated Pasteurization-Packaging System", *J. of Food Protection*, vol. 68, n. 3 (2005), pp. 507-511, 2005.
- NEGI, P.S. y G.K. JAYAPRAKASHA: "Control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria by garcinol and garcinia indica extracts, and their antioxidant activity", *J. of Food Sci.*, vol. 69, n. 3 (2004), pp. 61-65.
- NYCHAS, G.J.E.: "Natural antimicrobials from plants", en: G.W. GOULD (ed.): *New methods of Food Preservation*, Aspen Publication, 1999.
- O'DRISCOLL, B.; C.G.M. GAHAN y C. HILL: "Adaptative Acid tolerance Response in *Listeria monocytogenes*: Isolation of an Acid-tolerant mutant which demonstrates increase virulence", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 62, n. 5 (1996), pp. 1693-1698.
- PAGÁN, R.; S. CONDÓN y F.J. SALA: "Effects of several factors on the heat-shock- induced Thermotolerance of *Listeria monocytogenes*", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n. 8 (1997), pp. 3225-3232.
- PERIAGO, P.M.; W. VAN SHAIK; T. ABEE y J.A. WOUTERS: "Identification of proteins involved in heat stress response of *Bacillus cereus* ATCC 14579", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, n. 7 (2002), pp. 3486-3495.
- REUMAN, N.E.: "Food Safety. A reference handbook", *Contemporary World Issues. ABC-CMO*, 2000.
- RODGERS, S.: "Potential applications of Protective cultures in cook-chill catering", *Food Control*, vol. 14, n. 1, 2003.
- RODGERS, S.: "Novel approaches in controlling safety of cook-chill meals", *Food Trend in Science and Technology*, n. 15 (2004), pp. 366-372.
- ROLLER, S.: "Physiology of Food spoilage organisms", *International Journal of Food Microbiology*, n. 50 (1999), pp. 151-153.
- RUSSEL, A.D.; W.B. HUGO y G.A. AYLIFFE: *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, Blackwell Science, 1992.
- SHELEF, L.A.: "Antimicrobial effects of spices", *J. of Food Safety*, 6 (1983), pp. 29-44.
- SINGH, A.; R.K. SINGH; A.K. BHUNIA y N. SINGH: "Efficacy of plant essential oils as antimicrobials agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, vol. 36 (2003), pp. 787-794.
- SMITH-PALMER, A.; J. STEWART y L. FYFE: "Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens", *Letters in Applied Microbiology*, The Society of Applied Microbiology, 26 (1998), pp. 118-122.
- VAN SHAIK, W.; C.G. GAHAN y C. HILL: "Acid-adapted *Listeria monocytogenes* displays enhanced tolerance against the lantibiotics nisin and lactacin 3147", *J. of Food Protection*, vol. 62, n. 5 (1999), pp. 536-539.
- VASSEUR, C.; L. BAVEREL; M. HÉBARAUD y J. LABADIE: "Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*", *J. of Applied Microbiology*, 86 (1999), pp. 469-476.
- WEMECAMP-KAMPHUIS, H.H.; J.A. WOUTERS, P.P.L.A. de Leeuw; T. HAIN; T. CHAKRABORTY y T. ABEE: "Identification of sigma factor σ^B controlled genes and their impact on acid stress, High Hydrostatic Pressure and Freeze survival in *Listeria monocytogenes* EDG-e", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, n. 6 (2004), pp. 3457-3466. ©



Janette M. MENDOZA MÁRQUEZ: Hasta que la muerte nos separe...