

# Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y productos lácteos comercializados en la Zona Metropolitana de México

Juárez Contreras, S.<sup>1\*</sup> • Chamorro Ramírez, F.H.<sup>2</sup> • Bustos Martínez, J.<sup>3</sup>  
González López, D.M.<sup>2</sup> • González Sánchez, J.F.<sup>2</sup> • Hamdan Partida, A.<sup>3</sup>

*Palabras clave:* contaminación, alimentos, patógenos.

*Key words:* pollution, foods, pathogens

## Introducción

*Listeria monocytogenes* es una bacteria patógena Gram positiva de importancia en salud pública y en la industria alimentaria, ya que puede multiplicarse bajo condiciones de conservación de alimentos frescos o procesados. Tiene la capacidad de formar biopelículas, proliferar en temperaturas de refrigeración, resistir pH extremo y altos niveles de sal. Los animales lecheros pueden ser portadores asintomáticos de *L. monocytogenes* y alojar el patógeno en la ubre, esto puede conducir a la excreción de bacterias durante el ordeño, contaminando la leche y, en consecuencia, a

los productos lácteos [1]. En este sentido, debido a que la leche es un alimento rico en calcio, aminoácidos esenciales, proteínas, fósforo, vitamina B2 (riboflavina) y vitamina A, puede ser un buen medio para el crecimiento y multiplicación de *L. monocytogenes* [2]. Este patógeno causa listeriosis, que es una enfermedad transmitida por alimentos en humanos y afecta principalmente a mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos e individuos inmunocomprometidos. En mujeres embarazadas causa fiebre, mialgias, septicemia y meningoencefalitis, de igual forma, *L.*

1 Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

2 Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

3 Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calz. del Hueso 1100, Coyoacán, Ciudad de México, 04960, CDMX, México. Tel: 55 5483 7000

\* sjcontreras.sc@gmail.com



*monocytogenes* se puede transmitir verticalmente al feto y provocar aborto espontáneo, muerte fetal o meningitis neonatal [1]. *L. monocytogenes* es considerada de gran importancia debido a su alta incidencia en alimentos y la tasa de mortalidad por listeriosis del 20 al 30% [1,2]. Muchos brotes de listeriosis en el mundo se asocian con la ingesta de queso o helado contaminados y con leche no pasteurizada. El problema aumenta en los entornos de producción artesanal, donde las superficies no se desinfectan adecuadamente y los operarios tienen contacto directo con la materia prima y los productos finales [1]. En México la listeriosis no es considerada como una enfermedad de notificación obligatoria, por lo que se desconoce la incidencia de *L. monocytogenes* en productos lácteos. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue determinar la incidencia de *L. monocytogenes* en leche cruda y productos lácteos comercializados en la Zona Metropolitana de México.

## Metodología

### Obtención de muestras

Se compararon aleatoriamente 11 muestras de 200 g cada una; dos muestras de leche cruda procedente de la Ciudad de México; un queso panela, un queso rancho, cinco quesos estilo Oaxaca y dos helados tradicionales procedentes del Estado de México. El muestreo se realizó bajo condiciones asépticas y todas las muestras se guardaron en bolsas herméticas estériles. Las muestras se transportaron y conservaron a 4°C hasta su evaluación en el laboratorio [2].

### Aislamiento e identificación de *L. monocytogenes*

De cada muestra se tomaron 25 g o 25 ml (según fuera el caso) y fueron colocadas en medio de Enriquecimiento para listeria (BD Difco™) para posteriormente ser homogenizadas durante 2 min con ayuda de un homogeneizador ULTRA-TURRAX® T25 (IKA) e incubadas por 48 h a 30°C. Transcurrido el tiempo se tomó una asada de este enriquecimiento y por estría cruzada se sembró en Medio Oxford (BD Difco™), incubando a 35°C por 24 h. Las colonias aisladas de 2-3 mm con color negro y centro hundido se consi-

deraron como presuntivas a *L. monocytogenes*. Estos aislamientos se sembraron en medio Soya tripti-caseína (BD Bioxon®) con 0.6% de extracto de levadura, incubando a 37°C por 24 h. Los aislamientos obtenidos se sometieron a pruebas microscópicas y bioquímicas: tinción de Gram, catalasa, esculina, Kligler, movilidad en fresco, movilidad en agar Sulfuro Indol Movilidad (SIM), actividad β-hemolítica y fermentación de ramnosa [3]. Las mediciones se realizaron por duplicado.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el Software estadístico JMP versión 16 (Statistical Discovery® LLC). La incidencia de *L. monocytogenes* se calculó dividiendo el número de muestras positivas sobre el número total de muestras analizadas y multiplicándolas por 100. Se determinó la significancia de la presencia del patógeno en los productos lácteos mediante la prueba de Chi-cuadrado. Los valores de  $p < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## Resultados y discusión

Todas las muestras analizadas resultaron presuntivas a *L. monocytogenes*; sin embargo, solo el 18.18% fueron positivas a este patógeno. Estas muestras fueron las de helado provenientes del Estado de México (Tabla 1). Las dos muestras positivas a *L. monocytogenes*, se confirmaron mediante la identificación de bacilos cortos Gram positivos (Figura 1).

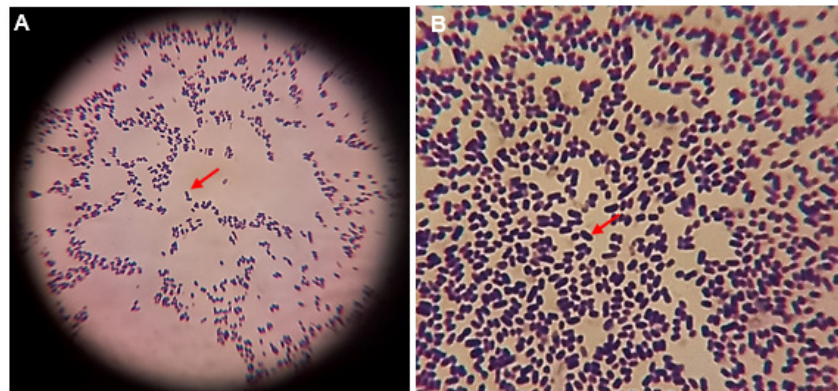
La movilidad en fresco mostró bacilos cortos con movilidad giratoria, mientras que la movilidad en agar se observó durante 7 días, donde desde el día 1 se visualizó movilidad en el área de inoculación, así como en sus alrededores mostrando un crecimiento típico en paraguas de acuerdo con la NOM-143-SSA1-1995 [3].

Las cepas aisladas de *L. monocytogenes* mostraron ser catalasa positiva, ramnosa positiva desarrollaron hidrólisis de esculina. Mientras que en el medio Kligler, no produjeron ácido sulfhídrico.

En cuanto a la prueba de hemólisis, a las 24 h se obtuvieron colonias traslúcidas y grises con una estrecha zona de β-hemólisis que se apreció mejor a las 72 h a 37°C (Figura 2).

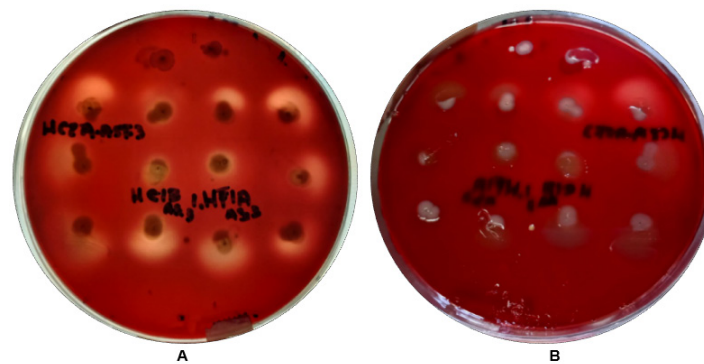
**Tabla 1.** Incidencia global de *L. monocytogenes* aislada de leche cruda y productos lácteos de distintos establecimientos.

N° de muestra	Producto	Origen	Presuntiva	Presencia de <i>L. monocytogenes</i> (+/-)	Total de muestras	Incidencia (%)
1	Queso panela	Edo. de México	+	-	1	0
2	Queso ranchero	Edo. de México	+	-	1	0
3	Queso Oaxaca	Edo. de México	+	-	5	0
4	Queso Oaxaca	Edo. de México	+	-		0
5	Queso Oaxaca	Edo. de México	+	-		0
6	Queso Oaxaca	Edo. de México	+	-		0
7	Queso Oaxaca	Edo. de México	+	-		0
8	Leche	Ciudad de México	+	-	1	0
9	Leche	Ciudad de México	+	-	1	0
10	Helado	Edo. de México	+	+	1	100
11	Helado	Edo. de México	+	+	1	100
				Total	11	18.18



**Figura 1.** *Listeria monocytogenes* por tinción de Gram vista desde el microscopio con objetivo de 100 X.

A: Campo completo de una muestra de helado. B: Ampliación de un campo de muestra de helado. Se aprecian bacilos cortos Gram positivo característicos de *L. monocytogenes*, señalados con flecha roja.



**Figura 2.** Confirmación de  $\beta$ -hemólisis para *L. monocytogenes* por método de picadura en cuadrícula.

A: Reverso de la caja. B: Interior de la caja.

Con la prueba de Chi-cuadrado se observó una presencia significativa del patógeno en los productos lácteos, por lo que se confirmó que las muestras de helado fueron positivas a *L. monocytogenes*, obteniendo una presencia global de 18.18% ( $p < 0.05$ ).

Los resultados encontrados concuerdan con Borena et al. [4] quienes mencionan que la leche y productos lácteos son las principales fuentes de *L. monocytogenes*, que es de gran preocupación en términos de inocuidad alimentaria por ser un microorganismo patógeno. Borena et al. [4] determinaron que el 2.28% de 482 muestras de leche cruda y productos lácteos, fueron positivas a *L. monocytogenes*. Existen otros estudios en los que se reporta la presencia de este patógeno en leche cruda de 0.3-1.2%. Esto indica que la incidencia de *L. monocytogenes* en leche es mucho más baja que en productos lácteos pese a que la fuente de contaminación es la excreción de *L. monocytogenes* a través de heces o de la ubre durante el ordeño, pudiendo haber una recontaminación en la pasteurización y en el procesamiento de lácteos [4]. Esto concuerda con los hallazgos de nuestro estudio donde todas las muestras de leche cruda y productos lácteos fueron negativos a *L. monocytogenes* a excepción del 100% de las muestras de helado. En este sentido, todas las muestras fueron presuntivas a *L. monocytogenes* pero no confirmatorias a ella, esto podría deberse a que se trata de otra especie de *Listeria* como lo reportado por Akrami-Mohajeri et al. [2] quienes aislaron 11.7% de *Listeria spp.*, 4.03% de *L. monocytogenes*, 5.6% de *L. innocua*, 1.8% de *L. seeligeri* y 0.17% de *L. murayii* a partir de 545 muestras de leche y productos lácteos. Las diferencias en los distintos estudios con respecto al porcentaje de incidencia podrían deberse a que en diversos estudios [2,7] los muestreos suelen ser muy variables en términos del número de muestras o a las condiciones sanitarias del lugar del muestreo.

Pese a que la presencia de *L. monocytogenes* en quesos artesanales elaborados con leche sin pasteurizar suele ser muy común [1], en nuestro estudio no se aisló *L. monocytogenes* a partir de ninguno de los quesos; sin embargo, todas las muestras fueron presuntivas como lo reportado por Akrami-Mohajeri et al. [2] quienes aislaron no solo *L. monocytogenes* sino también *Listeria spp.* y *L. innocua*. Por otro lado, no hubo diferencias en relación con el tipo de queso, esto

podría atribuirse a que estos quesos no se maduran por lo que no existen condiciones que permitan la supervivencia de las bacterias de forma diferencial [1].

Las muestras de helado positivas a *L. monocytogenes* en nuestro estudio, concuerdan con Borena et al. [4] quienes, de 54 muestras de helados de crema, obtuvieron 12.96% positivas a *L. monocytogenes*, observándose un rango similar a nuestros hallazgos. La presencia de *L. monocytogenes* puede deberse a dos factores, uno de ellos es que sea capaz de sobrevivir a la pasteurización en leche o durante la mezcla de helado junto con los demás componentes [6]. Neha et al. [6] reportaron que en leche sometida a 73.9°C durante 16.4 s, *L. monocytogenes* fue detectada; en este sentido, se sabe que no es factible abusar del tratamiento térmico, ya que el calentamiento provoca estrés fisiológico dentro de las células, dejándolas lesionadas o en estado viable pero no cultivable. Otro factor importante es si hay grandes cantidades de células bacterianas; aunado a ello, de acuerdo con Neha et al. [6] ciertos componentes del helado como los estabilizantes están asociados con el aumento de la tolerancia térmica de *L. monocytogenes*, posiblemente por la captura del microorganismo en la red tridimensional formada con micelas de caseína. Estos factores son algunos de los cuales podrían estar involucrados en la presencia de *L. monocytogenes* en las muestras de helado analizadas en nuestro estudio.

Yan et al. [7] reportan 0.62% de muestras positivas a *L. monocytogenes* en helado, un porcentaje mucho menor que el nuestro; aun así, los diversos porcentajes reportados nos indican la frecuente contaminación de este producto lácteo.

Si bien las muestras de helado de nuestro estudio se elaboran de forma artesanal, se sabe que a diferencia de otros alimentos que se esterilizan antes del envasado, el helado se pasteuriza después de mezclar y homogeneizar los ingredientes a principios de la etapa de proceso. Por lo tanto, existe la posibilidad de contaminación durante el procesamiento posterior, como en la maduración, congelación, llenado, moldeado y envasado [7]. Por lo tanto, esto indica que el helado se puede contaminar desde el origen o en el procesamiento, a ello puede atribuirse que el 100% de las muestras de helado analizadas en nuestro estudio fueron positivas a *L. monocytogenes*.

Otro factor que no se estudió es la capacidad de *L. monocytogenes* para formar biopelículas en entornos con ambientes húmedos y ricos en nutrientes como las instalaciones de procesamiento de alimentos como el helado. A este respecto, existen reportes de aislamientos desde el 0.3% al 40% de muestras de helado. Estas diferencias pueden deberse a variaciones en las condiciones de higiene, los tipos de muestras y métodos de detección de *L. monocytogenes* [2,7].

Se ha demostrado que *L. monocytogenes* tolera temperaturas de congelación incluso durante 36 meses. Esto fue confirmado por Salazar et al. [8] quienes realizaron un análisis sobre 180 bolas de helado contaminadas durante el proceso y de forma artificial con *L. monocytogenes*, almacenadas a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 36 meses. Obteniendo que sobrevivió y no hubo disminución significativa en la población bacteriana. Esto es posible ya que hay reportes que indican que *L. monocytogenes* puede adaptarse al frío por una expo-

sición previa a temperaturas de congelación en helado, sobreviviendo por largos períodos de tiempo [8].

## Conclusión

El presente estudio mostró que los helados ofrecidos en venta directa a los consumidores están contaminados con *L. monocytogenes*. Esto representa un riesgo para la salud pública debido a que esta bacteria es patógena e implica altas tasas de mortalidad en ciertos grupos vulnerables de la población. Los hallazgos del estudio sugieren que es posible que las condiciones de procesamiento de helado y comercialización no cumplen con los estándares de inocuidad. Es importante el seguimiento, detección y determinación de la incidencia de *L. monocytogenes*, así como ampliar el número de muestras y tipo de productos. De igual forma es importante la confirmación de la especie para evitar falsos positivos de *L. monocytogenes* por la presencia de diversas muestras presuntivas.

---

## Referencias

1. Jaramillo-Bedoya E, Trujillo-Alzate YA, Ocampo-Ibáñez ID. Surveillance of Fresh Artisanal Cheeses Revealed High Levels of *Listeria monocytogenes* Contamination in the Department of Quindío, Colombia. *Pathogens*. Oct 17 2021;10(10)doi:10.3390/pathogens10101341
2. Akrami-Mohajeri F, Derakhshan Z, Ferrante M, et al. The prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria spp* in raw milk and traditional dairy products delivered in Yazd, central Irán (2016). *Food Chem Toxicol*. Apr 2018;114:141-144. doi:10.1016/j.fct.2018.02.006
3. Diario Federal de la Federación. NORMA Oficial Mexicana NOM-143-SSA1-1995, Bienes y servicios. Método de prueba microbiológica para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*. En: Salud sd, editor. México1997.
4. Borena BM, Dilgasa L, Gebremedhin EZ, et al. *Listeria* Species Occurrence and Associated Risk Factors and Antibiogram of *Listeria Monocytogenes* in Milk and Milk Products in Ambo, Holeta, and Bako Towns, Oromia Regional State, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*. 2022;2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5643478>
5. Babacan O. Antibiotic susceptibility and phylogenetic analyses for the origins and serotypes of *Listeria monocytogenes* strains isolated from ice cream and cream cakes. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2020;44(5):1100-1109.
6. Neha N, Anand S, Djira G, Kraus B, Sutariya S. *Listeria* cross contamination levels in raw ice cream mix can serve as a predictor of their potential presence as heat-injured cells. *J Dairy Sci*. Nov 2018;101(11):9659-9669. doi:10.3168/jds.2018-14486
7. Yan L, Pei X, Miao J, et al. Surveillance and examination of microbial contamination in ice cream in China. *Food quality and safety*. 2022; doi:<https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac047>
8. Salazar JK, Stewart D, Shazer A, Tortorello ML. Long-term-  $20^\circ\text{C}$  survival of *Listeria monocytogenes* in artificially and process-contaminated ice cream involved in an outbreak of listeriosis. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(1):172-175. doi:10.3168/jds.2019-16774.