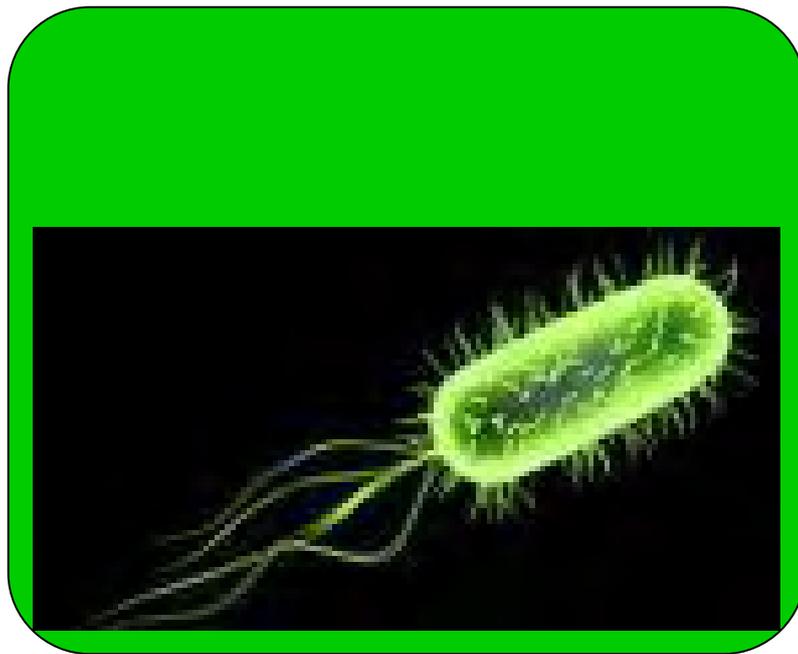


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



MANUAL DE DIAGNÓSTICO  
MICROBIOLÓGICO DE



*Listeria monocytogenes.*

Autor:

Hernández Sánchez Vanessa



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# MANUAL DE DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO DE

## *Listeria monocytogenes*

### CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN. ....	3
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. ....	4
3. OBJETIVO. ....	4
4. CARACTERISTICAS GENERALES. ....	5
4.1 RESERVORIO	
4.2 PATOGENESIS	
4.2.1 DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD	
4.2.2 FACTORES DE PATOGENICIDAD	
4.2.3 ESTRUCTURA ANTIGENICA	
4.2.4 VIA DE ENTRADA	
4.2.5 VÍA DE TRANSMISIÓN	
4.3 DESCRIPCIÓN DE ORGANOS Y SISTEMAS AFECTADOS	
4.3.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	
4.3.2 CEREBRO	
4.3.3 RIÑÓN	
4.3.4 HÍGADO	
4.3.5 BAZO	
4.3.6 CORAZÓN	
4.3.7 MENINGES	
4.3.8 APARATO DIGESTIVO	
4.4 CUADRO CLÍNICO PROVOCADO POR <i>Listeria monocytogenes</i>	
5. EPIDEMIOLOGÍA. ....	34
6. TOMA DE MUESTRA PARA EL AISLAMIENTO DE <i>Listeria monocytogenes</i> . ....	40
6.1 MUESTRA DE SANGRE	
6.2 MUESTRA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO	
6.3 MUESTRA DE TEJIDO PLACENTARIO Y FETAL.	

6.4 MUESTRA DE ESPUTO.	
6.5 MUESTRA FECAL.	
7. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO PARA EL DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO DE <i>Listeria monocytogenes</i> .	47
7.1 EXAMEN MICROSCOPICO.	
7.2 CULTIVO.	
7.3 INCUBACIÓN.	
7.4 IDENTIFICACIÓN DE <i>Listeria monocytogenes</i> .	
7.4.1 PRUEBA DE CATALASA.	
7.4.2 PRUEBA DE ROJO DE METILO.	
7.4.3 PRUEBA DE MOVILIDAD.	
7.4.4 PRUEBA DE FERMENTACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO.	
7.4.5 PRUEBA DE HIDRÓLISIS DE ESCULINA.	
7.4.6 CRECIMIENTO EN NaCl AL 6.5%.	
7.4.7 PRUEBA CAMP.	
8. PRUEBAS ESPECIALES.	63
8.1 INOCULACIÓN EN ANIMAL O PRUEBA DE ANTON.	
8.2 PRODUCCIÓN DE MONOCITOS.	
8.3 IDENTIFICACIÓN SEROLOGICA.	
9. TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL.	65
9.1 MECANISMO DE ACCIÓN.	
9.1.1 PENICILINA.	
9.1.2 TETRACICLINA.	
9.1.3 ERITROMICINA.	
9.2 POSOLOGÍA RECOMENDADA.	
10. PREVENCIÓN Y CONTROL.	68
11. CONCLUSIONES.	70
12. APENDICE.	71
13. BIBLIOGRAFÍA.	77

## 1. INTRODUCCIÓN

Este microorganismo se aisló sin duda de animales inferiores y de personas enfermas antes de 1926, pero sin una caracterización lo suficientemente precisa como para permitir su identificación. En 1926 se describió como el agente etiológico de una epizootia que se daba entre conejos y cobayos de laboratorio y que se caracterizaba por una monocitosis, al siguiente año se aisló a este microorganismo de los jerbos en Sudáfrica al cual después de una historia taxonómica variada se le asignó el nombre de *Listeria monocytogenes* nombre que continúa utilizándose, su epíteto descriptivo proviene de la monocitosis observada en la sangre periférica de conejos y cobayos infectados.

La listeriosis es una enfermedad bacteriana invasiva, producida por *Listeria monocytogenes*: bacilos gram positivos, aerobios, no esporulados, que son habitantes ubicuos del medio ambiente infectando al hombre sólo en forma accidental. La amplia distribución de *L. monocytogenes* se debe a la capacidad de sobrevivir durante periodos de tiempo prolongados en diferentes medios, aunque a veces pueden aparecer como gram negativos debido al deterioro de la pared celular, la mayoría de las bacterias incluidas en este grupo son pleomórficas, presentándose con ramificaciones o en forma de clavos o empalizadas<sup>¡Error! Marcador no definido.</sup>. Los bacilos patógenos que tienen una forma uniforme son *Listeria* y *Erysipelothrix*.

En la actualidad se sabe que *Listeria monocytogenes* es uno de los patógenos intracelulares facultativos clásicos lo que le permite persistir dentro de las células del sistema monocitos-macrófagos. El parasitismo intracelular de *L. monocytogenes* es considerado un modelo importante para la investigación de los mecanismos moleculares de patogénesis intracelular bacterianos. Posteriormente también se encontró que este microorganismo producía meningoencefalitis en ovejas y ganado bovino (enfermedad giratoria en el ganado ovino), también es reconocido como agente causal de abortos en rumiantes así como en el hombre, como resultado de la infección placentaria. Sin embargo, desde 1981 también se ha implicado en individuos

inmunosuprimidos asociandola con brotes entéricos por alimentos contaminados particularmente quesos y leches.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Como ya se menciona *Listeria monocytogenes* es un microorganismo que se aísla con poca frecuencia en los laboratorios clínicos y que por sus características fisiológicas y metabólicas que son similares a las de otros microorganismos, es fácil que el microbiólogo caiga en un error, proporcionando un mal diagnóstico, el cual puede tener consecuencias graves para el paciente puesto que *Listeria monocytogenes* puede causar hasta la muerte, por eso se debe tener cuidado para distinguirlo de otras bacterias como *Streptococcus pneumoniae*<sup>Error! Marcador no definido.</sup>, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterias* y ocasionalmente *Haemophilus* ya que presentan características similares, de tal forma que se pueden confundir con facilidad. Es importante la correcta identificación, ya que todos los miembros del género *Listeria* son capaces de contaminar alimentos pero solo *L. monocytogenes* produce patología en humanos y dicha identificación definitiva se realiza a través de sus características morfológicas y metabólicas (mediante reacciones bioquímicas y la capacidad de producir hemólisis<sup>Error! Marcador no definido.</sup>). A pesar de que en la actualidad se cuenta con información sobre este microorganismo es difícil encontrar un documento que cuente con la información necesaria para la identificación de *L. monocytogenes*.

## 3. OBJETIVO:

Proporcionar un documento de consulta rápida y accesible para el microbiólogo clínico, que le proporcione información útil y actual para el diagnóstico correcto de *Listeria monocytogenes*.

#### 4. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las bacterias pertenecientes al género *Listeria* son bacilos gram-positivos cortos, regulares, no esporulados ni ramificados, que suelen observarse en disposición individual o formando cadenas cortas<sup>11</sup>. *Listeria monocytogenes* es un bacilo pequeño en cultivos muy jóvenes se encuentra en forma bacilar con 0.5µm de ancho por 1 a 2 µm de largo, sin embargo, después se vuelve predominantemente cocoide y generalmente esta es la forma en que se observa, en cultivos viejos puede aparecer formando filamentos de 6-20 µm de longitud. Presenta de 1 a 5 flagelos peritricos que le confieren movilidad a 28 °C.

Es móvil en medios líquidos cuando se cultiva a temperatura ambiente (20 - 25 °C), y se observa un típico crecimiento en sombrilla en medio semisólido de movilidad<sup>11</sup> tiene un movimiento rotatorio de un extremo a otro a 22 °C pero no a 37 °C<sup>13</sup>. Es anaerobio facultativo, crece entre 0 y 50 °C, es decir puede crecer a temperatura de refrigeración. Su temperatura óptima de crecimiento esta entre 30 – 37 °C .

Es positivo a la reacción de Voges-Proskauer y rojo de metilo, no produce indol ni H<sub>2</sub>S, la producción de ácido lo realiza a través de la D-glucosa y otros azúcares, es catalasa positiva y oxidasa negativa<sup>14</sup>. Hidroliza la esculina en pocas horas pero no la urea ni la gelatina; no lleva acabo la reducción del nitrato<sup>15</sup>.

En medios sin sangre las colonias son pequeñas (de 1 a 2 mm tras uno o dos días de incubación) y lisas. Al observarse a la lupa con epiiluminación, con un ángulo de la luz de 45°-60°, se observan reflejos de color azul-verdoso sobre una superficie finamente granular, mientras que en un medio con sangre se observa una β hemólisis que es marcada generalmente entre 28 y 24 horas y la hemólisis que rodea las colonias individuales puede ser debil.

Existen al menos 13 serotipos de *L. monocytogenes*, basados en los antígenos O (somaticos) y H (flagelar) no obstante casi todas las enfermedades se deben a los tipos 4b, 1/2a y 1/2b y ello limita el valor de la serotipificación de las investigaciones epidemiológicas<sup>16</sup>.

Estas bacterias crecen mejor en un aislamiento primario y en presencia de una tensión de oxígeno reducida y una tensión de CO<sub>2</sub> incrementada. El crecimiento se produce con un pH mínimo de 4.3, el óptimo 7,0 o levemente alcalinas y estas bacterias son originales por su capacidad de crecer bien a un pH elevado, de hasta 9.6 y en concentraciones elevadas (10%) de cloruro de sodio. *Listeria* es una bacteria fundamentalmente psicrófila o mesofila con amplia distribución en la naturaleza por ello merece enfatizar la baja temperatura a la que se multiplica la bacteria como el amplio rango de pH al que crece. Además en la actualidad se sabe que *Listeria monocytogenes* es uno de los patógenos intracelulares facultativos clásicos.

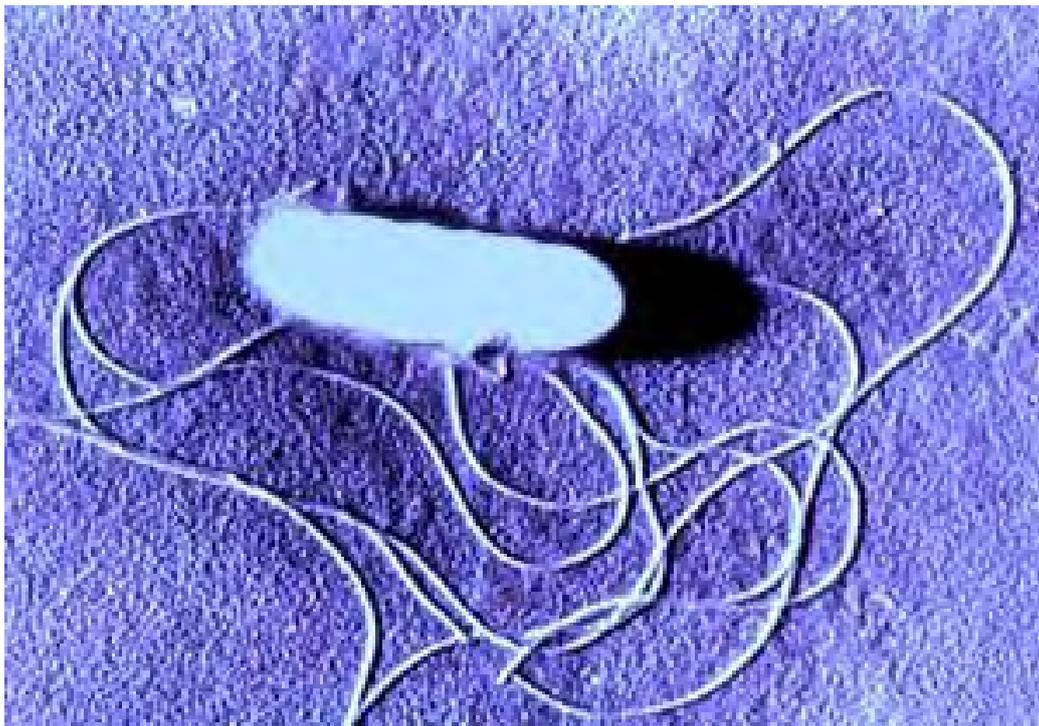


Figura 1. Morfología de *Listeria monocytogenes*<sup>17</sup>.

#### 4.1 RESERVORIO

Un reservorio es cualquier animal, planta, suelo o materia donde normalmente vive y se multiplica el microorganismo y del cual depende para su supervivencia. *Listeria* tiene un reservorio muy amplio pues se puede encontrar en la tierra, aguas servidas (desagües de fabricas), materia fecal, vegetación, ensilados, en mucosas de muchos animales domésticos y silvestres y entorno de la producción de alimentos:

*Listeria monocytogenes* es una bacteria considerada como “transeúnte” por que se encuentra presente entre el 1 y 10% de los seres humanos sanos en su materia fecal a los cuales se les considera en un estado de portador asintomático.

Los pájaros silvestres se alimentan de aguas residuales infectadas con esto pueden servir como reservorio y vectores.

#### 4.2 PATOGENESIS

*L. monocytogenes* es un patógeno facultativo intracelular que puede crecer en los macrófagos, las células epiteliales y fibroblastos en cultivo. Los estudios con modelos animales han puesto de manifiesto que esta infección se inicia en los enterocitos o en las células M de las placas de Peyer (Fig. 2). Lo más probable es que la infección comience luego de la ingestión del microorganismo de una fuente alimentaría. El inóculo oral requerido para producir la infección clínica se desconoce; los experimentos en mamíferos sanos indican que se requieren  $10^9$  microorganismos o más. La entrada en las células no fagocíticas esta mediada por seis o más proteínas ricas en leucina, las internalinas (InIA, InIB, InIC) que interaccionan con los receptores glucoproteicos de las superficie de las células del huésped. Debido a que se unen a un receptor de galactosa sobre la superficie de macrófagos y otras células, lo realizan mediante la internalina que promueve su fagocitosis o su entrada al interior de las células epiteliales. Después de penetrar en las células, el pH ácido del fagolisosoma que rodea alas bacterias activa una toxina bacteriana, la listeriolisina O (LLO) y dos enzimas diferentes de fosfolipasa C lo que lleva a la liberación de las bacterias en el citoplasma de las célula, donde se multiplica (tiempo de duplicación es de alrededor de una

hora) y se rodea de una cola de actina polimerizada derivada de la célula huésped, a la cual utiliza para impulsarse a través del citoplasma de la célula hacia la membrana celular. Aquí la proteína ActA moviliza y polimeriza los filamentos de actina, se forma un filópodo, se funden las membranas y la bacteria pasa a una nueva célula (Fig. 3).

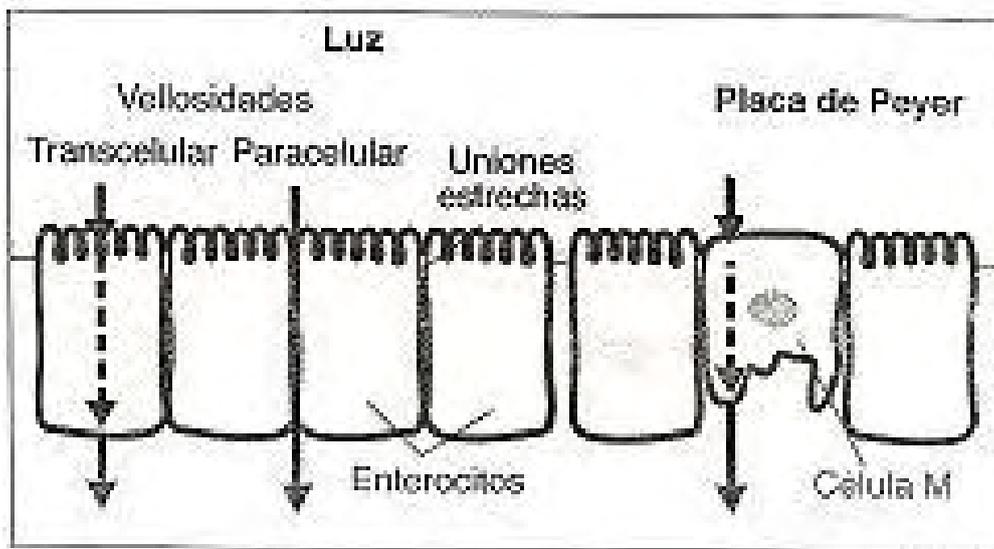


Figura 2. Vías de pasaje de antígenos a través del epitelio<sup>1</sup>.

La toxina que produce es citolítica y hemolítica, es llamada listeriolisina O y actúa como un importante factor de virulencia. Se trata de una proteína de 52D que se secreta a un pH bajo y a baja concentración de hierro, condiciones presentes en el interior del fagolisosoma. Cuando es fagocitado, el microorganismo empieza a fabricar la listeriolisina, que se fija al colesterol y rompe la membrana del fagolisosoma. Este puede ser el principal factor que favorece su supervivencia intracelular, una de las características patogénicas más importantes de *L. monocytogenes* (Fig. 4). Así las bacterias se replican y posteriormente se mueven a través de la célula hasta la membrana celular, el movimiento de las bacterias está mediado por una proteína bacteriana, ActA, la cual se localiza en la superficie celular en un extremo de la bacteria y coordina el ensamblaje de la actina. Los extremos distales de la parte final de la actina permanecen fijos mientras el ensamblaje ocurre en la zona adyacente al extremo de la bacteria, a si la bacteria es

empujada a la membrana celular, donde se forma una protrusión (filópodo), empujando a la bacteria a la célula adyacente. Una vez que la bacteria es ingerida por la célula adyacente como los macrófagos, los enterocitos y los hepatocitos, se repite el proceso de lisis fagolisosómica, replicación bacteriana y movimiento direccional. La entrada en los macrófagos después del paso por las células que recubren el intestino lleva a las bacterias hasta el hígado y el bazo, lo que produce la diseminación de la enfermedad. Si bien el periodo de incubación de la infección invasora no está bien establecido, las evidencias de unos pocos casos relacionados con ingestiones específicas señalan que los periodos de incubación oscilan entre los 3 y los 90 días, con una media de 31 días

Así *Listeria* se desplaza de manera directa de una célula a otra sin pasar por el espacio extracelular. Esto protege a la bacteria de anticuerpos y complementos.

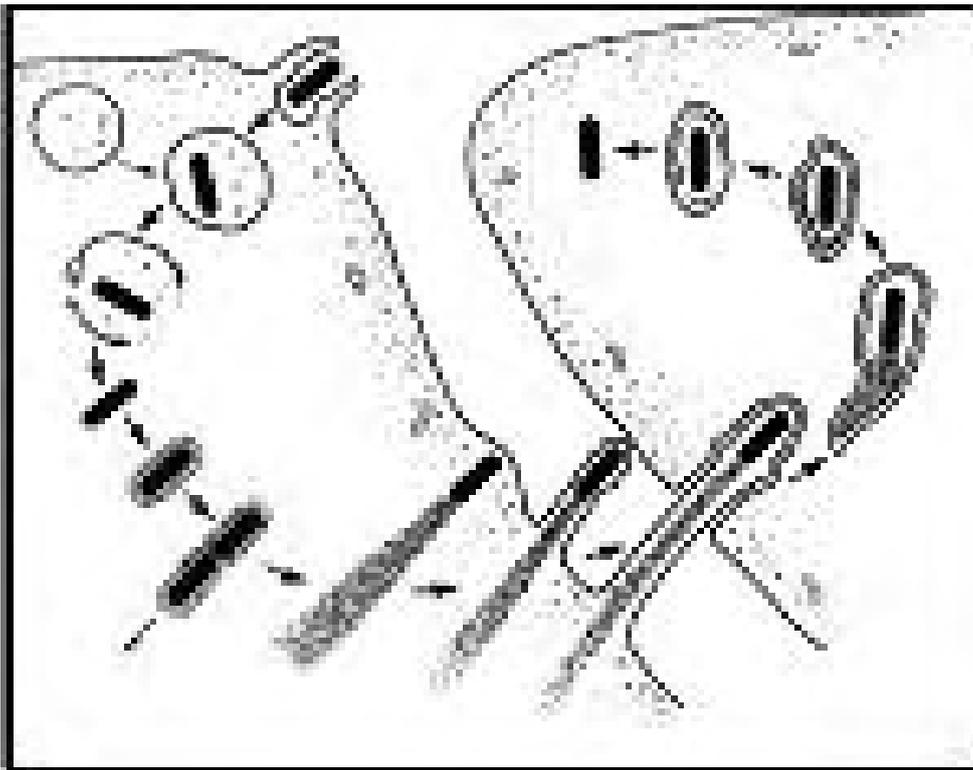


Figura 3. Etapas en la entrada, la proliferación, la movilización y la diseminación de *L. monocytogenes* de un macrófago a otro <sup>20,21</sup>.

En la siguiente imagen se muestra el ciclo de *L. monocytogenes*;

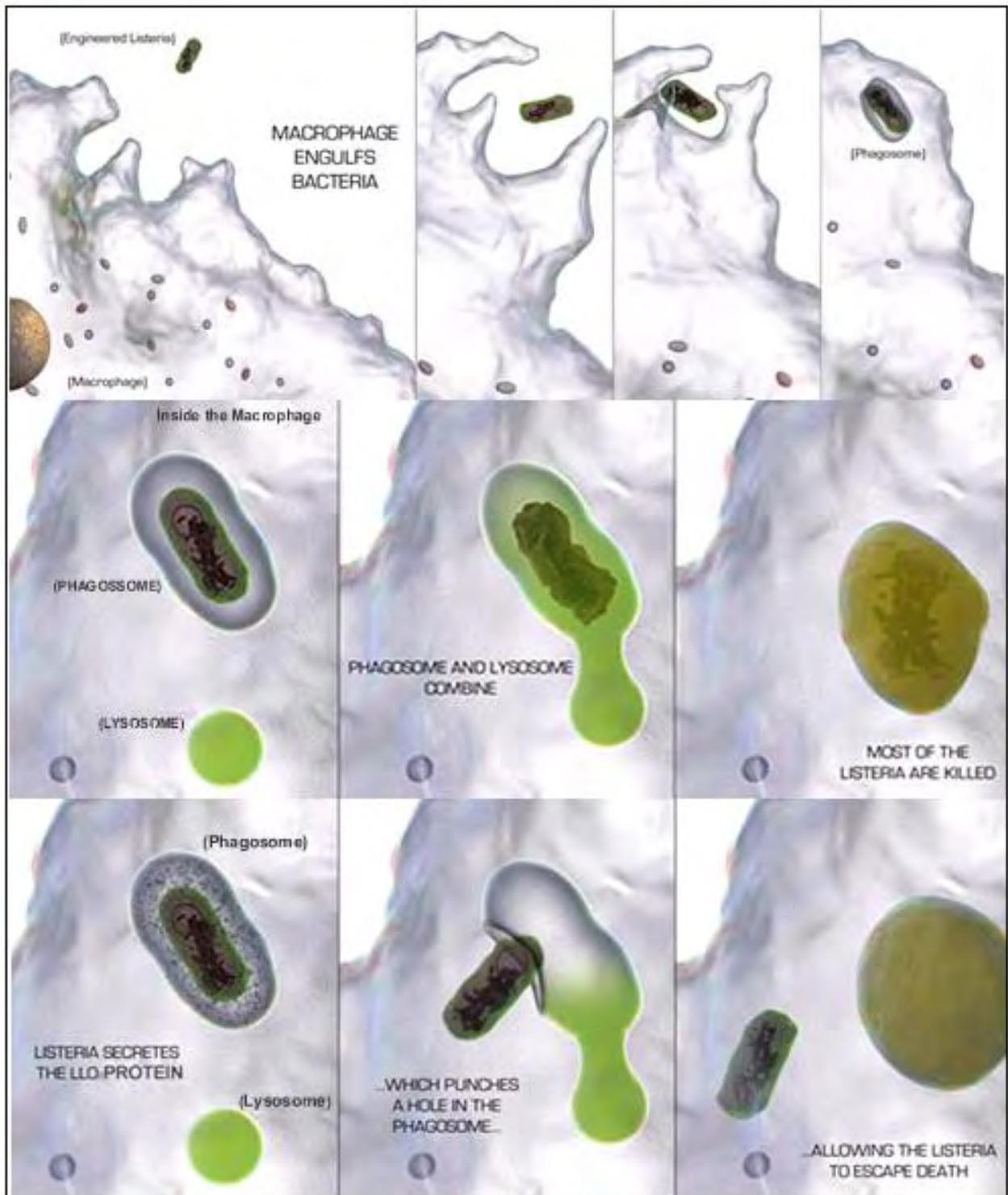


Figura 4. Ciclo de vida de *Listeria monocytogenes*<sup>22</sup>.

#### 4.2.1 DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD

En su pared el microorganismo presenta componentes antifagocíticos así como un lipopolisacárido complejo que es indistinguible de la endotoxina de las bacterias gram negativas. Las cepas patógenas de *Listeria* producen enzimas que por acción lipolítica destruyen las membranas celulares. Los microorganismos fagocitados por las células del sistema retículoendotelial del huésped destruyen las membranas internas y evitan la fusión lisosomal. Aparentemente la virulencia se debe por lo menos a:

1. Factores antifagocitarios de superficie: no caracterizados en el momento actual.
2. Adhesinas: la adherencia parece estar mediada por algún azúcar de superficie.
3. Hemolisina: denominada listeriolisina O, es una citolisina de peso molecular de 60.000D la cual rompe la membrana del fagolisosoma impidiendo la destrucción bacteriana. Hay otras dos hemolisinas de significación patogénica desconocida.
4. Catalasa y superóxido dismutasa: dificultan la destrucción bacteriana intraleucocitaria.
5. Filamentos de actina: el organismo se desplaza en el interior de las células del huésped por el movimiento de la cola que forma con los filamentos de actina, que favorecen la invasión de las células próximas.
6. Sideróforos: favorecen la multiplicación bacteriana. El hierro esencial para la vida de todos los microorganismos es un factor de virulencia importante para *L. monocytogenes*, los sideróforos la capacitan para tomar hierro de la transferrina.

#### 4.2.2 FACTORES DE PATOGENICIDAD

Se han identificado varios factores de patogenicidad; por ejemplo una hemolisina cardiotoxica, que puede ser responsable de la muerte en los casos graves. Una lipolisina, un factor antifagocitario y un factor activador de maduración de monocitos. En la pared celular, la bacteria contiene una proteína, internalina que es un factor de virulencia, y el glicérido A, que es antigénico además de la proteína superficial Act A y la fosfolipasa C que también son antigénicas.

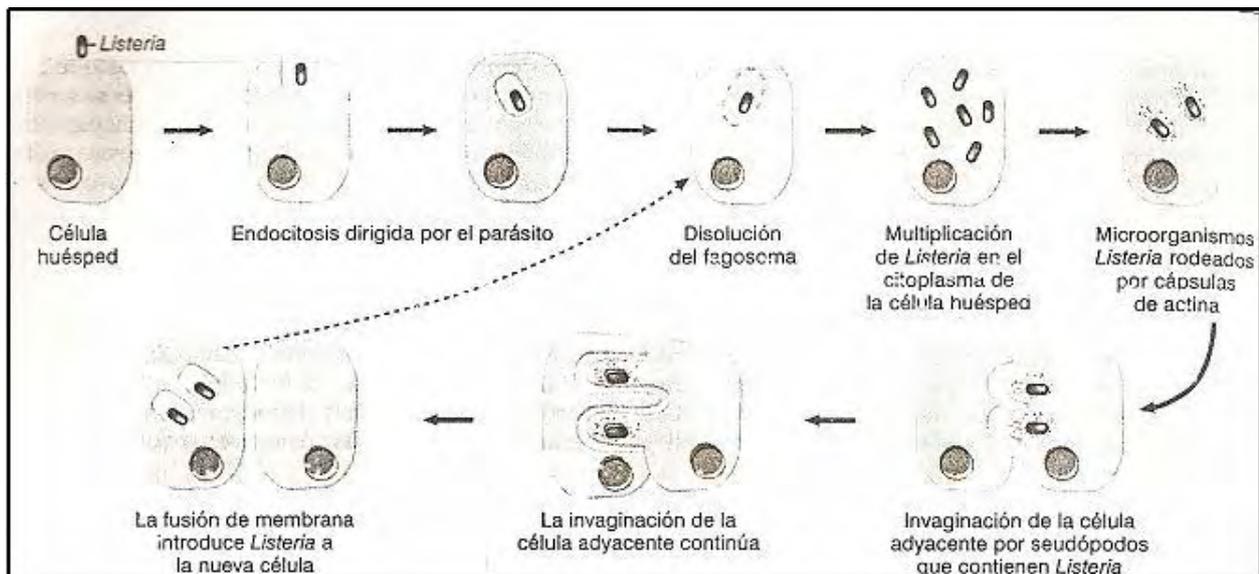


Figura 5. Ciclo de infección de *Listeria monocytogenes* en células huésped .

#### 4.2.3 ESTRUCTURA ANTIGENICA

El análisis antigénico detallado de *L. monocytogenes* revela la existencia de antígenos flagelares termolábiles (H) y de antígenos somáticos(O) termoestables que contienen hidratos de carbono. Estos antígenos permiten la diferenciación de cuatro serotipos principales, que se denominan 1,2,3 y 4, y la subdivisión en subtipos( Tabla 1). La mayor parte de los aislamientos clínicos pertenecen a los serotipos 1a, 1b y 4b, las cuales pueden producir reacciones inmunológicas cruzadas con algunas otras bacterias como cepas de *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y varias especies de *Corynebacterium*. Por lo tanto el serodiagnóstico de la infección producida por *Listeria* no es fiable.

Serotipo	ANTIGENOS	
	Somático (termoestable)	Flagelar (termolábil)
1a	I, II,(III)	A, B
1b	I, II,(III)	A, B, C
2	I, II,(III)	B, D.
3a	II,(III),IV	A, B
3b	II,(III),IV	A, B, C
4a	(III),(V),VII, IX	A, B, C
4b	(III), V, VI.	A, B, C
4ab	(III),V, VI, VII, IX.	A, B, C
4c	(III),V, VII.	A, B, C
4d	(III), VI, VIII.	A, B, C
4e	(III), V,VI, VIII,IX.	A, B, C

Tabla 1. Estructura antigenica.

Se considera que el serotipo 4b es una cepa epidémica de *Listeria monocytogenes* y se relaciona con grandes brotes de listeriosis transmitidas por alimento. El serotipo 1b / 2b también se aísla con frecuencia en los sujetos. Son causantes del 90% de las infecciones<sup>14, 23</sup>.

#### 4.2.4 VÍA DE ENTRADA

La relación causal de epidemias de listeriosis con alimento contaminado sugiere que la forma natural de infección con *Listeria* es por vía gastrointestinal.

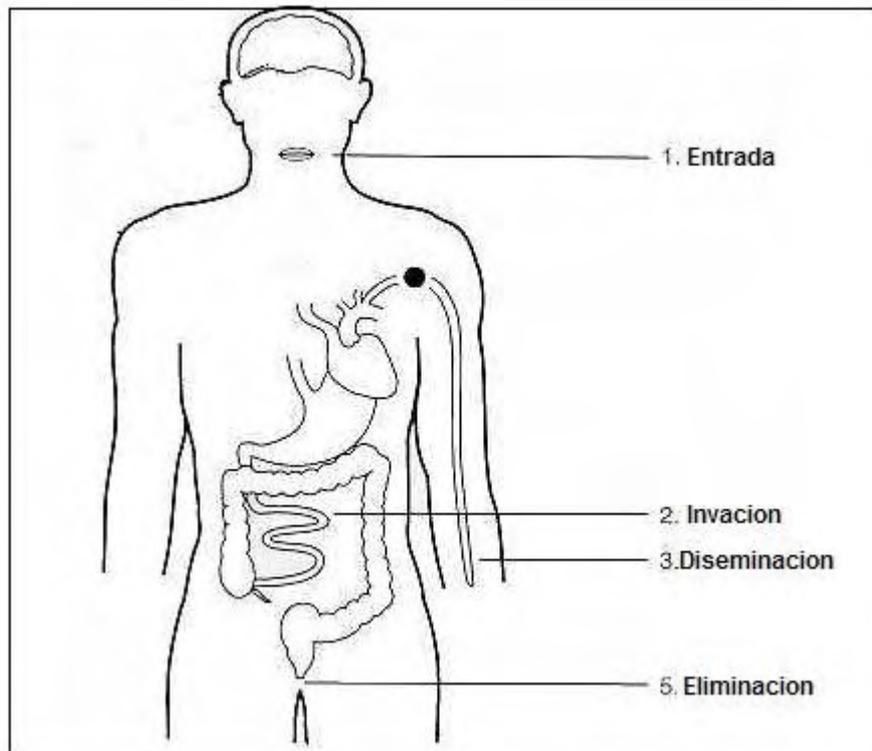


Figura 6. Entrada, diseminación y salida de *L.monocytogenes*<sup>24</sup>.

Produce diversos cuadros relacionados con la virulencia del organismo y el estado de las defensas del huésped, por ello los principales factores predisponentes son los estados de inmunodepresión. En la mayoría de los casos la entrada no es evidente, puede ser por contacto con piel y mucosas (Tras colonización vaginal en algunas infecciones neonatales), transplacentaria o, en la mayoría de los casos la entrada es por el tubo digestivo (Figura 7).

*Listeria monocytogenes* atraviesa la mucosa intestinal y pasa a la circulación, produciéndose la diseminación del organismo transportado por los fagocitos. La penetración en las células se realiza por un mecanismo de fagocitosis inducida. Posteriormente escapa de la vacuola o fagolisosoma, se

multiplica y se mueve mediante los filamentos de actina para invadir las células adyacentes.

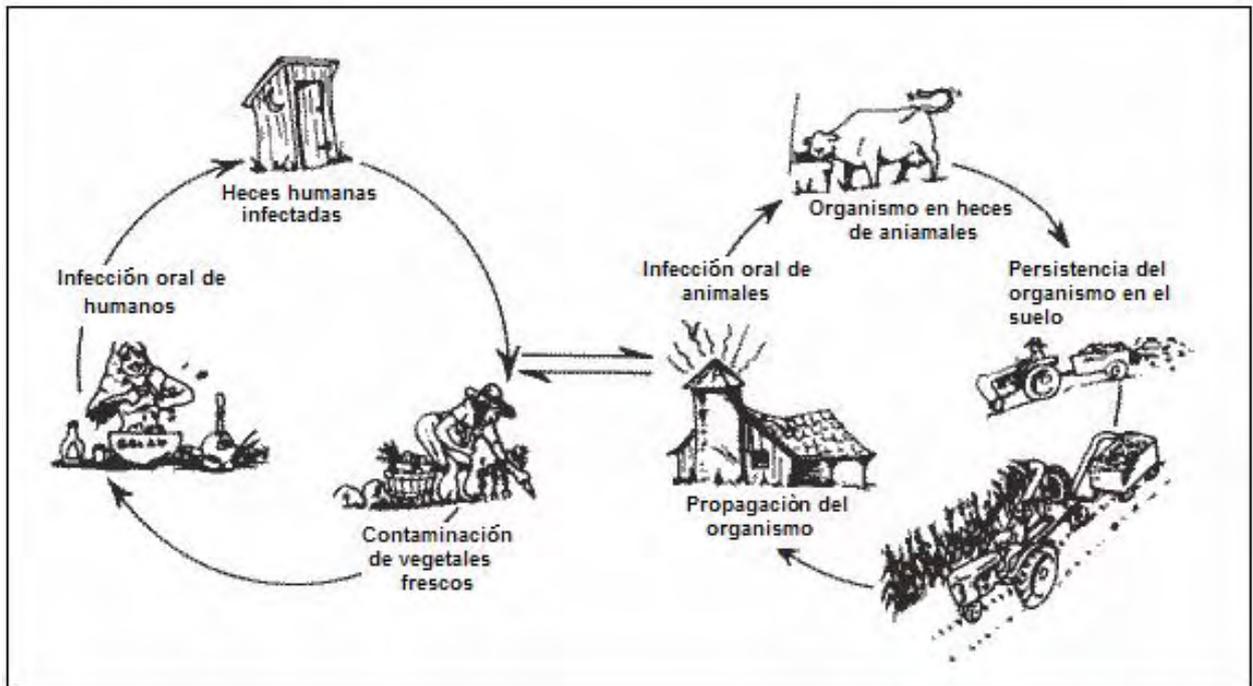


Figura 7. Posible ciclo de infección en humanos y animales domésticos<sup>25</sup>.

#### 4.2.5 VÍA DE TRANSMISIÓN

Aunque la transmisión de *Listeria monocytogenes* por alimentos es la responsable de la mayor parte de los casos de listeriosis epidémica y esporádica, hay otras formas de transmisión que también juegan un papel importante:

- Infección del feto en el útero.
- Infección del lactante por el canal del parto infectado.
- En veterinarios por contacto con animales infectados.
- En laboratoristas por inoculación directa.

La infección de persona a persona no ha sido documentada.

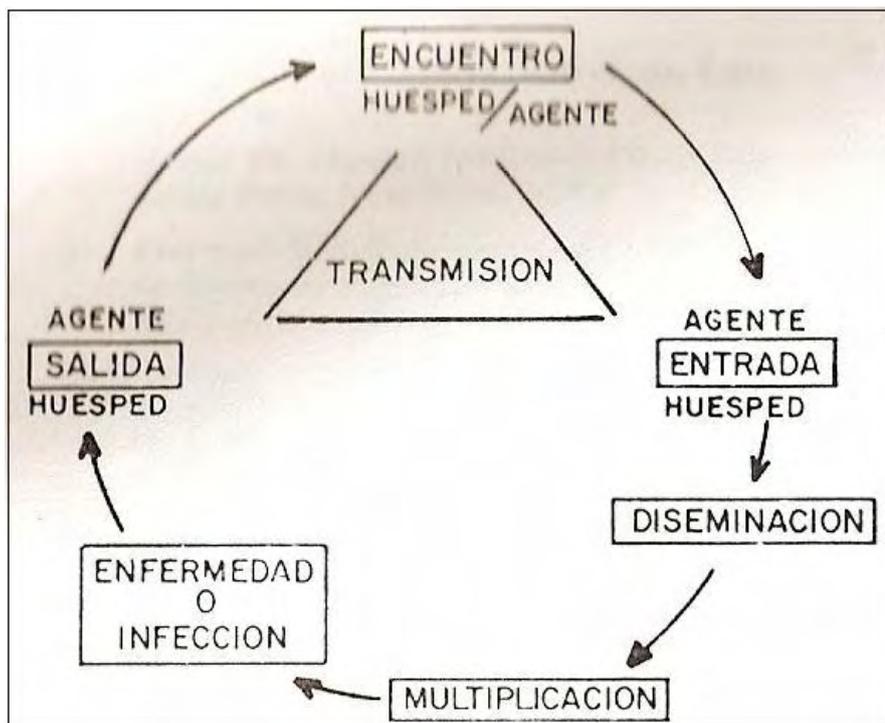


Figura 8. Representación esquemática de los principales eventos que ocurren en el desarrollo de enfermedades infecciosas<sup>26</sup>.

#### 4.3 DESCRIPCIÓN DE ÓRGANOS Y SISTEMAS AFECTADOS

Durante el proceso de invasión las bacterias pueden viajar a través del torrente sanguíneo a otras partes del organismo. Como lo es en el caso de *Listeria monocytogenes* que puede afectar diversos órganos y sistemas como son los siguientes;

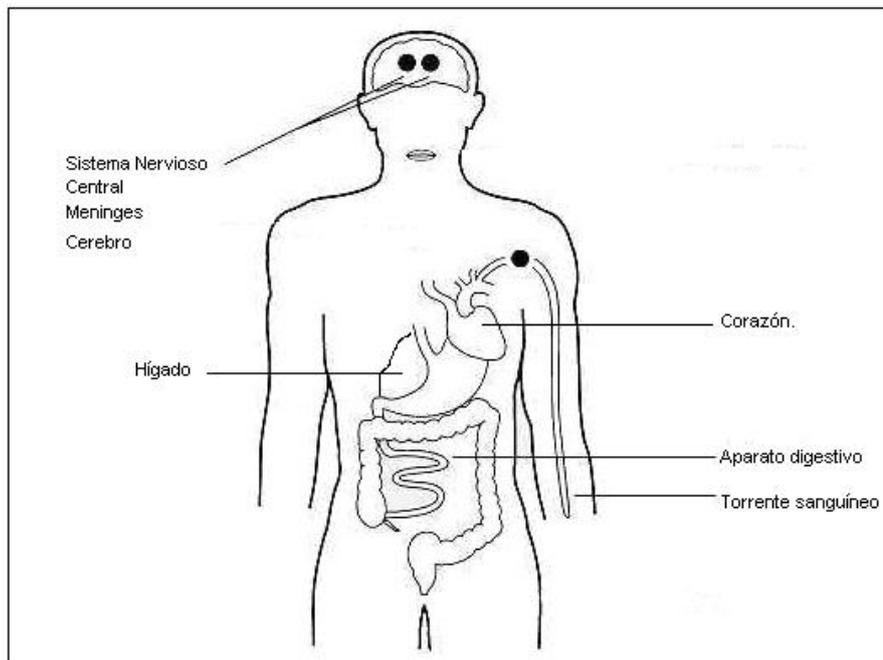


Figura 9. Patogénesis de *L. monocytogenes* .

A continuación se describen los órganos y sistemas que se ven afectados dando un panorama muy general de ellos.

#### 4.3.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL;

El sistema nervioso central (SNC) se compone del encéfalo y de la médula espinal. Las subdivisiones del encéfalo comprenden el cerebro propiamente dicho, el diencefalo, el mesencéfalo cerebro medio, el puente, el bulbo o médula oblongada y el cerebelo<sup>ii</sup>.

El SNC consiste en el encéfalo y la médula espinal. En el SNC el encéfalo y la médula espinal son los centros principales donde ocurre la correlación y la integración de la información nerviosa. Tanto el encéfalo como la médula espinal están cubiertos por membranas, las meninges y suspendidos en el Líquido cefalorraquídeo; además están protegidos por los huesos del cráneo y la columna vertebral. El SNC está compuesto por una gran cantidad de células nerviosas excitables y sus prolongaciones, denominadas neuronas, que están sostenidas por tejido especializado denominado neuroglia. Las prolongaciones largas de una célula nerviosa se denominan axones o fibras nerviosas. En el interior del SNC está organizado en sustancia gris y sustancia blanca. La sustancia gris consiste en células nerviosas incluidas en la neuroglia y es de color gris. La sustancia blanca consiste en fibras nerviosas incluidas en la neuroglia y es de color blanco debido a la presencia de material lipídico en las vainas de



Figura 10. Sistema nervioso central<sup>29</sup>.

#### 4.3.2 CEREBRO;

El cerebro la porción más grande del encéfalo esta compuesto por dos hemisferios conectados por una masa de sustancia blanca denominado cuerpo calloso. Cada hemisferio cerebral se extiende desde el hueso frontal hasta el hueso occipital, por encima de las fosas craneales anterior y media; por detrás el cerebro se ubica por encima de la tienda del cerebelo. Los hemisferios están separados por una hendidura profunda, la fisura longitudinal, hacia la cual se proyecta la hoz del cerebro.

La capa superficial de cada hemisferio, la corteza esta compuesta por sustancia gris. La corteza cerebral presenta pliegues, separados por fisuras o surcos. De esta forma la superficie de la corteza aumenta en forma considerable. Por conveniencia se utilizan algunos surcos grandes para subdividir la superficie de cada hemisferio en lóbulos. Los lóbulos llevan los nombres de los huesos del cráneo debajo de los cuales se encuentran ubicados.

Dentro de cada hemisferio hay un centro de sustancia blanca que contiene varias masas grandes de sustancia gris, los núcleos o ganglios basales. Un conjunto de fibras nerviosas con forma de abanico, denominado corona radiada, atraviesa la sustancia blanca hacia la corteza cerebral y desde está se dirige hacia el tronco del encéfalo. La corona radiada converge sobre los núcleos basales y pasa entre ellos como la capsula interna. El núcleo con cola ubicado en el lado medial de la capsula interna se denomina núcleo caudado y el núcleo con forma de lente del lado lateral de la capsula interna recibe el nombre de núcleo lenticular. Durante el proceso de desarrollo el cerebro crece enormemente y sobresale por encima del diencéfalo el mesencéfalo y el rombencéfalo.



Figura 11. Cerebro.

#### 4.3.3 RIÑÓN

Tiene forma de judía con un borde externo convexo y otro interno cóncavo, donde se sitúa el hilio renal. Está envuelto por una cápsula conjuntiva que, en condiciones fisiológicas, puede separarse fácilmente, a diferencia de lo que ocurre en los demás órganos. Está formado por una zona superficial de color oscuro y con un punteado rojizo (que corresponde a los glomérulos renales) que es la cortical, y una profunda de aspecto estriado longitudinalmente, debido a la abundancia de tubos, la medular. En esta última se distinguen dos zonas distintas: la medular externa y la medular interna. El límite entre cortical y medular no es neto. Existen prolongaciones de la medular que invaden la cortical; son los radios medulares o pirámides de Ferri. Forman el eje central de los lobulillos renales. La medular está formada por 8-12 pirámides medulares o de Malpighi, correspondiendo cada una de ellas a un lóbulo renal. Son de forma cónica y en el vértice (la papila renal) desembocan los tubos rectos de Bellini. Cada papila renal está situada dentro de una cavidad menor, que es el comienzo de las vías urinarias<sup>30</sup>.

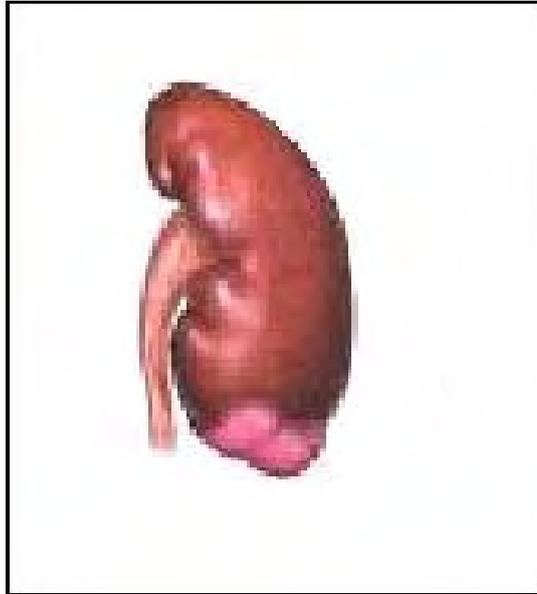


Figura 12. Riñón.

#### 4.3.4 HÍGADO

Es una glándula de secreción mixta, la más voluminosa del organismo, con forma semiovoidea, de aproximadamente 24 cm. de longitud transversal, 16cm en sentido dorsoventral y 8 de espesor (vertical).

Es la glándula más grande del organismo y realiza múltiples funciones. Esta envuelto por una fina cápsula conjuntiva, la cápsula de Glisson, que presenta revestimiento mesotelial. La célula parenquimatosa, el hepatocito que realiza todas las funciones de la glándula, se organiza en cordones para formar unidades fundamentales, los lobulillos hepáticos. Estas unidades están delimitadas incompletamente por lo espacios porta y centralizados por una vena, la vena centrolobulillar. El espacio porta se caracteriza por presentar siempre un componente arterial (rama de la arteria hepática), un componente venoso (rama de la vena porta) y un componente de las vías biliares.

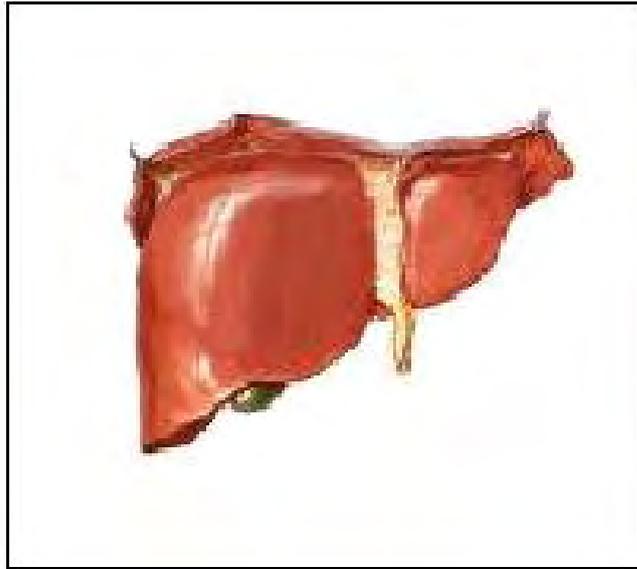


Figura 13. Hígado.

#### 4.3.5 BAZO

El bazo es una víscera abdominal de los vertebrados, de color rojo oscuro, que desempeña diversas funciones relacionadas con la sangre y el sistema inmunitario.

En el humano el bazo es el mayor de los órganos linfáticos, es intraperitoneal, se sitúa habitualmente en el hipocondrio izquierdo de la cavidad abdominal, detrás del estómago y debajo del diafragma, unido a él por ligamento frenoesplénico. Se relaciona posteriormente con la 9<sup>o</sup>, 10<sup>o</sup> y la 11<sup>o</sup> costilla izquierda. Reposa sobre el ángulo izquierdo o esplénico del colon unida a este por el ligamento esplenomesocólico y hace contacto con el estómago por el epiplón gastroesplénico así como con el riñón izquierdo. Está irrigado por la arteria esplénica rama del tronco celíaco.

Su tamaño es variable, aumentando hasta la pubertad y tendiendo a disminuir en la edad adulta. Suele medir 11 cm. de longitud y 5 cm. de anchura. El bazo desempeña diversas funciones:

- Hematopoyesis: durante la gestación el bazo es un importante productor de sangre en el feto. Tras el nacimiento desaparece esta función, pero puede volver a desempeñarla en caso de necesidad.

- Filtro: el bazo se encarga de la maduración de los glóbulos rojos y también de la destrucción de los glóbulos rojos viejos o anómalos.
- Inmunitaria: en el bazo se producen anticuerpos y tiene capacidad para destruir bacterias mediante fagocitosis<sup>31</sup>

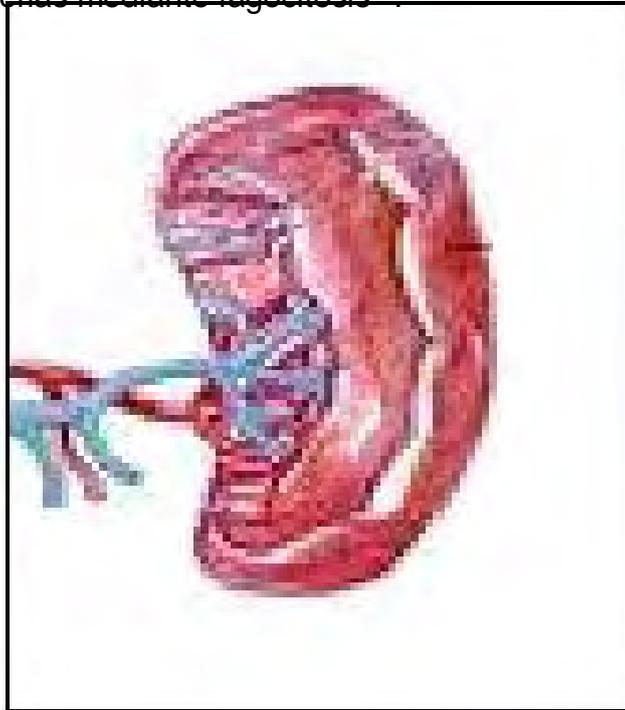


Figura 14. Bazo<sup>32</sup>.

#### 4.3.6 CORAZÓN

Órgano eminentemente muscular, cuya misión es impulsar la sangre, consta de cuatro cavidades: dos aurículas y dos ventrículos. Las aurículas reciben la sangre de las venas y la ceden a los ventrículos para que éstos, por la contracción de su pared, la impulsen al árbol arterial. Por este motivo, la pared ventricular está más desarrollada que la auricular, sobre todo la del ventrículo izquierdo, responsable del impulso de la sangre a la circulación aórtica. Sin embargo la estructura básica de la pared cardíaca es común a todo el corazón. Esta formado por tres capas; el endocardio, la capa más interna forma el revestimiento más interno del corazón. Por fuera del endocardio e íntimamente unido a éste se sitúa el miocardio, es la capa más desarrollada de la pared cardíaca y de ella depende el mayor grosor de la pared ventricular, la tercera capa de la pared cardíaca es el pericardio, desdoblado en dos hojas; la hoja visceral o epicardio, unida al miocardio y formada por un tejido conjuntivo vascularizado y con lobulillos adiposos.

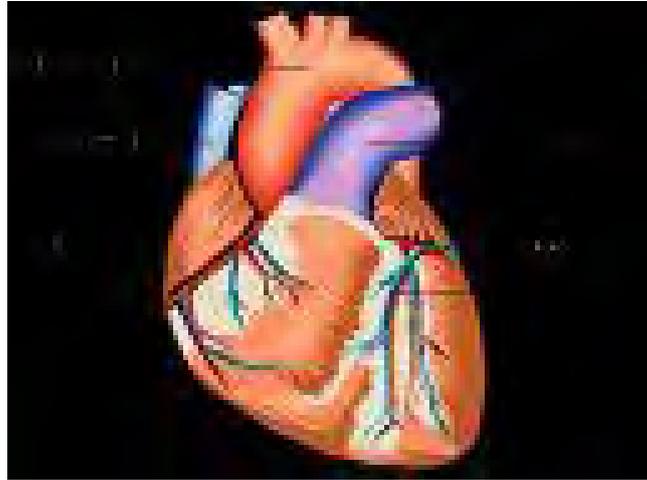


Figura 15. Corazón<sup>33</sup>.

#### 4.3.7 MENINGES

El sistema nervioso central está envuelto y protegido por un conjunto de membranas que reciben el nombre genérico de meninges. Son tres y de lo profundo a lo superficial se llaman: Piamadre, aracnoides y duramadre.

La piamadre es la más delgada y fina, rica en vasos y reviste directamente la superficie exterior del eje encéfalo-medular siguiendo regularmente todas sus entrantes y salientes. La aracnoides también delgada, está constituida por dos hojas, una visceral, vecina a la piamadre y otra parietal en relación con la duramadre. La duramadre es la más superficial, resistente y fuerte de las meninges, forma al encéfalo y médula una envoltura completa y cerrada.

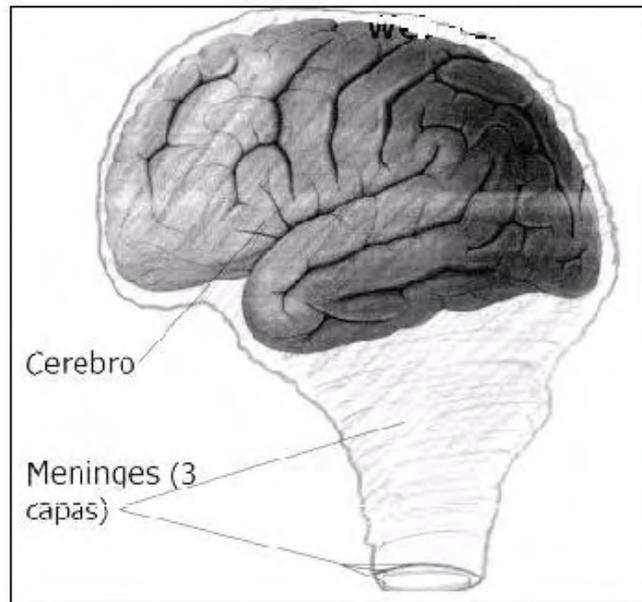


Figura 16. Meninges<sup>34</sup>.

#### 4.3.8 APARATO DIGESTIVO

El aparato digestivo tiene la misión de reducir los alimentos a partículas pequeñas, mezclarlas con los jugos digestivos, absorber los componentes aprovechables por el organismo y eliminar los residuos no utilizables.

El comienzo del aparato digestivo es la BOCA, que se continúa con la orofaringe. Toda la cavidad bucal está tapizada por un epitelio plano estratificado mucoso, pero en las zonas sometidas a roces intensos (mucosa masticatoria) se paraqueratiniza. El epitelio se apoya en un corion bien vascularizado que contiene glándulas salivales microscópicas. Desde la orofaringe, el aparato digestivo se extiende en forma de tubo hasta el ano.

#### 4.4 CUADRO CLINICO PROVOCADO POR *Listeria monocytogenes*.

El cuadro clínico depende de la edad y de la situación inmune del huésped. Aunque la bacteria parece tener un mayor tropismo para la mujer embarazada.

Durante el embarazo existe un deterioro leve de la inmunidad mediada por células y la mujer embarazada está propensa a desarrollar bacteriemia por *Listeria*, las infecciones se han registrado con mayor frecuencia en el tercer trimestre, probablemente en relación con la mayor declinación de inmunidad mediada por células que se produce entre la semana 26 y 30 de la gestación. La mujer embarazada tiene por lo general una enfermedad transitoria con síntomas inespecíficos, leves a moderados, que incluyen fiebre, cefalea, vómito y posiblemente otras molestias gastrointestinales y tal vez dolor lumbar. Los síntomas y signos son frecuentemente autolimitados y la paciente puede no buscar tratamiento. En otros casos la infección es más grave, con signos clínicos de sepsis y meningitis.

Sin embargo dado que el microorganismo atraviesa la placenta los daños causados al producto pueden ser mucho mayores, debido a que esta bacteria tiene un gran tropismo por el feto y la placenta, en algunas mujeres la infección puede precipitar el trabajo de parto con el resultado del feto muerto o feto prematuro infectado.

Las infecciones en los recién nacidos son las más comunes y aparecen en dos síndromes clínicos, la listeriosis de comienzo temprano, en los niños es septicémica, mientras que la otra forma se denomina de comienzo tardío, que suele ser meningítica, con mayor incidencia en niños mayores de un año de edad (Tabla 2).

La enfermedad de comienzo temprano, es adquirida en el útero de manera transplacentaria, aparece en los dos primeros días después del nacimiento, (durante la primera semana de vida). La enfermedad de comienzo temprano, conocida también como granulomatosis infantiséptica, es una enfermedad devastadora aparece como septicemia grave en niños

prematuros de bajo peso con complicaciones obstétricas predisponentes a infecciones. La granulomatosis infantiséptica se caracteriza por la formación de abscesos y de granulomas diseminados en múltiples órganos tales como; hígado, pulmón, bazo, riñón y cerebro, estas lesiones se deben a que la bacteria se encuentra en circulación sanguínea y coloniza varios órganos y tejidos con particular prevalencia en el hígado y el bazo. Tiene una elevada tasa de mortalidad de hasta el 80%.

La enfermedad de comienzo tardío, se adquiere en el momento del nacimiento o poco después, la infección tiene lugar en el canal del parto o inmediatamente después del nacimiento, la enfermedad se manifiesta al quinto o sexto día del nacimiento, aparece en forma de meningitis o de meningoencefalitis con septicemia. Después del quinto día el niño aparentemente sano desarrolla un cuadro de meningitis y con menor frecuencia septicemia. La enfermedad se puede expresar de 2 a 3 semanas después del nacimiento. La tasa de mortalidad es del 10-20%.

Característica	Listeriosis de inicio Temprano.	Listeriosis de inicio Tardío.
Vía de infección.	Transplacentaria.	Contacto con líquidos corporales contaminados durante el parto o posparto.
Signos y síntomas Principales manifestaciones clínicas.	En el segundo día del posparto. *Granulomatosis infantiseptica*; Granulomas y abscesos diseminados, con insuficiencia respiratoria.	De una a dos semanas en el posparto. Meningitis
Tasa de mortalidad en pacientes con tratamiento.	15 a 50%	10 a 20%
Porcentaje de madres con listeriosis identificable.	50%	Menos del 5%

Tabla 2. Comparación de la listeriosis de inicio temprano y tardío en recién nacidos.

En personas inmunosuprimidas, los dos cuadros más frecuentes de listeriosis son la meningitis y la bacteriemia. La mortalidad de la meningitis puede llegar hasta el 70%, menos comunes son la endocarditis y otras infecciones del SNC. La bacteriemia no parece estar relacionada de una manera tan clara con la edad como la meningitis y su mortalidad no es tan elevada. Además de la meningitis (o meningocencefalitis) y de las infecciones del torrente circulatorio *Listeria monocytogenes* produce varias formas de infecciones localizadas; estas incluyen infecciones cutáneas, endoftalmitis, endocarditis, linfadenitis, artritis, osteomielitis, abscesos cerebrales, peritonitis y colecistitis.<sup>35</sup>.

### Meningitis

En general las manifestaciones clínicas de la meningitis por *L. monocytogenes* son similares a las de meningitis por otras causas más comunes (Tabla 3), siendo sus características particulares las siguientes;

- La presentación usualmente es aguda pero puede ser subaguda y similar a una meningitis tuberculosa.
- La rigidez de la nuca es menos común.
- Los trastornos motores son más comunes (ataxia, temblores, mioclonías).
- Las convulsiones son más comunes.
- El estado mental fluctuante es común.

### Bacteriemia

La bacteriemia sin un foco evidente es una manifestación común de listeriosis en huéspedes inmunosuprimidos; siguiéndole en frecuencia a la meningitis. Las manifestaciones clínicas son similares a las observadas en las bacteriemias por otras causas (Tabla 3) y es común hallar fiebre y mialgias; puede haber pródromos con diarrea y náuseas. La bacteriemia se produce principalmente en enfermos de cáncer, en inmunosuprimidos y alcohólicos.

Infección del sistema nervioso central.

Los microorganismos que con mayor frecuencia causan meningitis (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*) raramente ocasionan infecciones cerebrales parenquimatosas como cerebritis y absceso cerebral mientras que *L. monocytogenes* posee tropismo por el cerebro, en particular el tronco cerebral como por las meninges. Muchos pacientes con meningitis tienen alteraciones de la conciencia, convulsiones o trastornos motores.

Encefalitis del tronco cerebral (rombencefalitis)

Una forma inusual de encefalitis por *Listeria*, es la que afecta al tronco cerebral. En contraste con otras infecciones del SNC por *Listeria* esta enfermedad ocurre con mayor frecuencia en adultos sanos, no se conocen casos en recién nacidos. El cuadro clínico consiste en dos fases; un pródromo con fiebre, cefalea, náusea y vómitos que dura alrededor de 4 días, seguido del comienzo brusco de un déficit asimétrico de un nervio craneano, signos cerebelosos y hemiparesia o déficit hemisensorial junto o separado.

Endocarditis

La endocarditis por *Listeria* afecta a la población con riesgo de endocarditis por *Streptococcus viridans*, afecta las válvulas nativas o protésicas y posee una tasa elevada de complicaciones sépticas con una mortalidad del 48%. Ocasionalmente se observa endocarditis producida por *Listeria* generalmente en pacientes que tienen lesiones cardíacas preexistentes.

A Continuación se muestra una tabla con los distintos microorganismos que producen cuadros clínicos similares a la listeriosis.

Padecimiento	Síntomas	Microorganismos asociados a la infección.
Septicemia neonatal.	Es posible que la septicemia en el primer día como choque, apnea o insuficiencia respiratoria progresiva, cambios en el tono muscular, en el caso de un bebé prematuro se confunde con enfermedad de las membranas hialinas.	En los primeros días de vida; estreptococos del grupo B y <i>Listeria monocytogenes</i> . En el periodo posnatal; <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> y otros bacilos Gram (-).
Meningitis neonatal.	Esta puede resultar difícil de diagnosticar ya que es probable de que no existan signos que señalen la participación del S.N.C. Las características de la presentación pueden consistir simplemente en alimentación escasa, vomito y perdida del tono muscular.	En la 1ª semana de vida. <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , especies de <i>Serratia</i> , especies de <i>Pseudomonas</i> y <i>S. aureus</i> y de 5-6 años predominan <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> .
Bacteriemia.	Fiebre, temblores, dolor, taquicardia, hiperventilación, petequias malestar y toxicidad o postración.	<i>Streptococcus</i> (Grupo A todas las edades), <i>Streptococcus viridans</i> , (endocarditis grupos A,B,D; neonatos. <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium jeikeium</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .

Tabla 3. Microorganismos que causan padecimientos similares.

Padecimiento	Síntomas	Microorganismos asociados a la infección.
Meningitis.	Síndrome de tipo influenza, endurecimiento del cuello, dolor de cabeza, fiebre baja y letargo.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria . meningitidis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Micobacterium tuberculosis</i>
Infección del S.N.C.	Dolor de cabeza, dolor en el cuello y la espalda, rigidez del cuello, náusea, vómito y estupor a coma.	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> (betahemólitos de los grupos A y B), <i>Enterobacteriaceae</i>
Endocarditis.	Escalofríos, Sudoración excesiva, Fatiga, Fiebre, Soplo cardíaco, dolores articulares, Dolores y achaques musculares, sudores nocturnos.	<i>Streptococcus viridans</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Rhotia mucilaginoso</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <b>especies de</b> <i>Enterococcus</i> , <i>Brucella</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i>

Tabla 4. Microorganismos que causan padecimientos similares.

La mayor incidencia de listeriosis en receptores de transplantes renales tiene un interés especial, este grupo está en riesgo para todas las formas de listeriosis (Tabla 4), pero la meningitis es la más frecuente. La susceptibilidad en estos pacientes parece ser debido al uso de glucocorticosteroides que deprimen la respuesta inmune mediada por células.

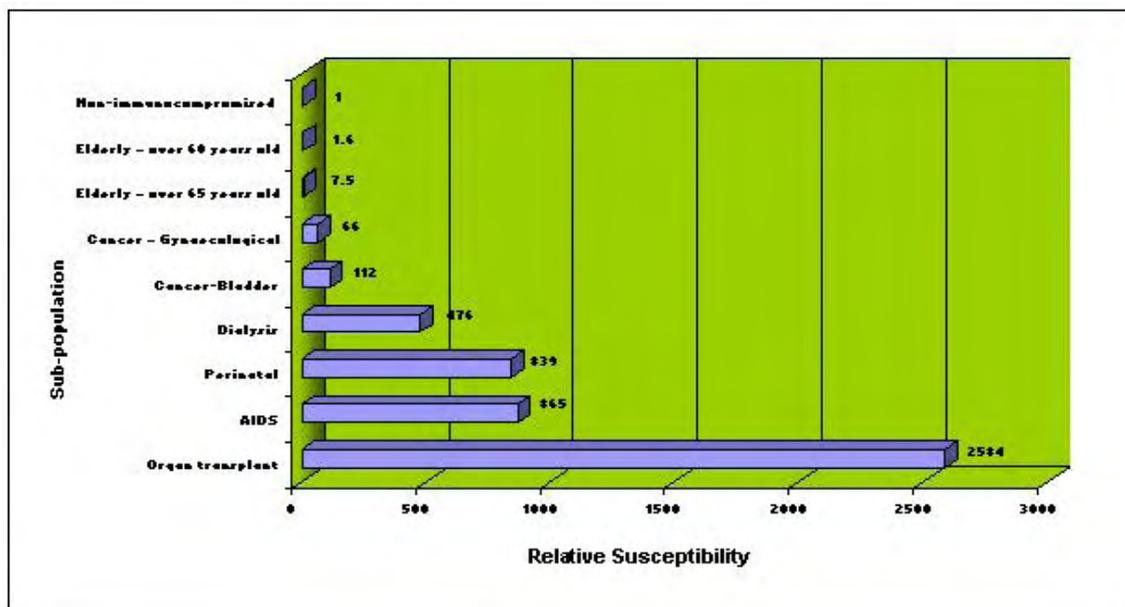


Tabla 5. Susceptibilidad relativa para inmunosuprimidos y no inmunosuprimidos.

La mayoría de las infecciones listerianas en los adultos, se produce en personas mayores de 60 años. Siendo la forma habitual la meningitis como ocurre con otras infecciones graves en los ancianos, la tasa de casos fatales de meningitis es más elevada que en los individuos jóvenes. En los ancianos los signos y los síntomas de meningitis bacteriana son silenciosos. Durante el

examen físico de los pacientes ancianos sin meningitis bacteriana es frecuente hallar rigidez de nuca, por lo general estos pacientes tienen déficit neurológicos coexistentes. Varias revisiones sobre meningitis indican que los hallazgos de laboratorio en los ancianos no difieren de los correspondientes a los individuos de menor edad.

Mientras que en adultos sanos la infección es generalmente asintomática. A veces produce un cuadro pseudogripal y menos frecuente un proceso diarreico. La diarrea (con gran número de *L. monocytogenes* en las heces) es a veces un síntoma precoz de la listeriosis sistémica acompañando o precediendo a la bacteriemia o meningitis. El 1 – 10% de la población es portadora fecal asintomática ya que se ha observado con frecuencia la existencia de portadores asintomáticos de *L. monocytogenes*, especialmente en el intestino y en el tracto genital.

Se han descrito infecciones cutáneas que afectan la piel y el globo ocular en trabajadores de mataderos o en veterinarios y otras personas relacionadas con animales, en estos casos no existe una bacteriemia previa y la infección se produce por contacto directo con tejidos o animales contaminados.

Complicaciones; han quedado documentadas complicaciones de la infección invasora como la coagulación intravascular diseminada, el síndrome de distrés respiratorio del adulto y la rabdomiólisis con insuficiencia renal aguda.

---

## 5. EPIDEMIOLOGIA

Las bacterias del género *Listeria* están ampliamente distribuidas, se localizan a nivel ambiental (animales, suelo, y como comensales del aparato digestivo de muchos animales incluyendo el hombre). Por su enorme presencia ambiental, con mucha frecuencia son contaminantes de alimentos y bebidas que a su vez son fuentes de infección<sup>15</sup>.

Se estima que una proporción comprendida entre el 1 y el 10% de los individuos sanos son portadores fecales, aunque la exposición y la colonización transitoria ocurran en la mayoría de individuos. Las cepas portadas por estos humanos, se consideran no patógenas con base en los resultados de la prueba de Antón. Si una mujer porta *L. monocytogenes* en el aparato digestivo antes de embarazarse, su hijo no se infectara, sin embargo si adquiere la infección en el curso del embarazo, si la transmitirá a su hijo en el útero o cuando pase por el canal de parto<sup>14</sup>.

La listeriosis humana es una enfermedad que se ve durante todo el año aunque su incidencia máxima ocurre en los meses más calidos. Se ha calculado que cada año se producen alrededor de 2500 infecciones, no obstante muchas infecciones de carácter leve no se registran<sup>10</sup>.

Debido a que el reservorio es muy amplio la vía de contagio más frecuente parece ser la digestiva. Unos casos se presentan en brotes y otros son esporádicos<sup>14</sup>. Así se han documentado algunos brotes extensos asociados al consumo de productos alimentarios (Tabla 5), por que *Listeria monocytogenes* es una bacteria fundamentalmente psicrófila o mesófila que puede crecer en un amplio rango de pH, de tal forma que los alimentos con un pequeño número de microorganismos se pueden convertir en muy contaminados después de una refrigeración prolongada<sup>10</sup> pues el periodo de incubación de *L. monocytogenes* es en promedio de 3 a 4 semanas, con extremos de 3 a 90 días<sup>19</sup>. Las epidemias focales y los casos esporádicos se

han asociado al consumo de leche contaminada, quesos poco curados, carne mal cocida (salchichas de pavo, carnes frías), vegetales crudos o mal lavados<sup>10</sup>. Cierta encuesta demostró que el 3% de los productos lácteos, 8% de los camarones y carne de cangrejo cocida, 20% de la carne de res molida y 90% de las aves disponibles en el supermercado están contaminados con *L. monocytogenes*. Otros alimentos que se contaminan con frecuencia son las verduras, las cubiertas de los quesos y las ensaladas, en particular las de col y lechuga<sup>14</sup>. Como en el famoso brote en las provincias marítimas de Canadá en 1981 que se presentó en personas que consumieron ensalada de col, en donde las investigaciones (Tabla 3) indicaron que la col usada para producir la ensalada fue contaminada, por que el agricultor fertilizo el cultivo con composta de estiércol de oveja y dos de sus ovejas habían muerto de listeriosis (una en 1979 y otra en 1981) y al parecer *L. monocytogenes* tuvo las oportunidades adecuadas para multiplicarse durante el almacenamiento de la col y persistió en la misma durante toda la preparación de la ensalada<sup>i</sup>, la enfermedad se presentó en 41 personas de las cuales 34 eran embarazadas, que después dieron a luz a 23 niños infectados (seis de ellos murieron), 9 mortinatos y 2 lactantes saludables<sup>14</sup>.

Año	Localización	Nº de casos	Casos perinatales	Nº de muertes	Vehículo sospechoso implicado	Serotipo
1981	Nova Scotia Canada	41	34	18	Ensalada de col	4b
1983	Massachussets USA	49	7	14	Leche pasteurizada	4b
1985	California USA	142	94	48	Queso estilo mexicano	4b
1983-1987	Switzerland	122	65	34	Queso	4b
1987-1989	United Kingdom	366	?	¿?	Paté	4bx
1989-1990	Denmark	26	3	7	Queso	4b
1992	Francia	279	0	85		4b
1993	France	38	31	10		4b
1998-1999	Multiples estados USA	108	?	14	Hot dogs	4b
1999	Finlandia	25	0	6	Mantequilla	3 <sup>a</sup>
1999-2000	Francia	10	3	3		4b
1999-2000	Francia	32	9	10		4b
2000	Multiples estados USA	30	8	7		1/2a
2000	Carolina del Norte	13	11	5		4b
2002	Multiples estados USA	54	12	8		4b
2002	Québec Canada	17	3	0	Queso hecho de leche cruda	
2003	Texas USA	12	?	?	Queso estilo mexicano	4b

Tabla 1 Brotes de enfermedades invasivas de listeriosis<sup>1</sup>.

Los datos provenientes de dos estudios de vigilancia activa realizados entre 1980 - 1982 y en 1986 por los Centres for Disease Control and Prevention (CDC) indicaron tasas de infección anual de 7.4/millón de habitantes, lo que representa cerca de 1.850 casos/año en Estados Unidos con 425 muertes. Hacia 1993 luego de las regulaciones para la industria de la

alimentación con el fin de disminuir al mínimo el riesgo de listeriosis por alimentos, la incidencia anual ha declinado hasta 4.4 casos por millón o 1.092 casos con 248 muertes. Las tasas de infección más elevadas se han observado en niños menores de 1 mes y en adultos mayores de 60 años. Las mujeres embarazadas representaron cerca del 30% de todos los casos, casi el 70% de las infecciones no perinatales ocurren en pacientes inmunosuprimidos.

Se han documentado otros brotes por alimentos, por ello la importancia de los alimentos como una fuente de listeriosis esporádica esta ejemplificada en dos estudios de los CDC en los cuales el 11% de todas las muestras de alimentos guardados en la heladera estaban contaminados, mientras que el 64% de los pacientes tenían por lo menos un alimento contaminado y, en el 33% de los casos, tanto los aislamientos del paciente como los aislamientos del alimento tenían el mismo tipo de electroforesis enzimática<sup>16</sup>.

La incidencia de la enfermedad es también desproporcionada en las poblaciones de alto riesgo como los neonatos, los ancianos, las mujeres embarazadas y los pacientes con deficiencias graves de la inmunidad celular. De tal forma que la incidencia de la infección por *Listeria* depende de factores geográficos y de la población de pacientes que se consideran<sup>11</sup>.

Las diferencias en la virulencia entre las cepas puede también influir en la infección, los serotipos 1/2a, 1/2b y 1/2c son los tipos más frecuentes aislados de comida o del medio ambiente de la producción de alimentos. Sin embargo más del 95% de las infecciones en humanos son causadas por tres serotipos 1/2a, 1/2b y 4b<sup>37</sup>. La mayoría de brotes originados por *Listeria* son causados por la cepa del serotipo 4b. El índice de aislamiento del serotipo 4b es más alto entre pacientes que sufren meningoencefalitis que en pacientes que sufren de infección en el torrente sanguíneo, indicando que la cepa del serotipo 4b puede ser más virulenta que otros serotipos. En un estudio se demostró un alto índice de mortalidad en pacientes infectados con cepas del serogrupo 4, 26% de los pacientes infectados con *L. monocytogenes* con el serotipo 4b mueren comparados con el 16% de pacientes infectados con el serogrupo 1/2, una vez más indican que las cepas del serogrupo 4 pueden ser

más virulentas. La internalina una proteína asociada con la internalización de *L monocytogenes* dentro de las células, se expresa en las cepas del serogrupo 4 mientras que este no siempre es el caso en las cepas del serogrupo 1/2. Sin embargo la prevalencia de la deficiencia de la internalina en las cepas del serogrupo 1/2 es muy rara dejando el atributo de incrementar la virulencia de la cepa del serogrupo 4 por la presencia de la internalina <sup>36</sup>.

Durante los 10 años pasados los brotes de listeriosis con gastroenteritis fue la manifestación clínica predominante que fue reportada por varios países (Tabla 6). Estos brotes se diferencian de los brotes de listeriosis invasiva en varios aspectos, teniendo un tiempo de incubación corto (18-27horas) y los síntomas incluyen fiebre, diarrea por 5 días, vómito, dolor de cabeza y dolor de cuerpo. La mayoría de las personas infectadas fueron adultos sanos que no demostraron condiciones de inmunosupresión.

Año	Localización	Nºde casos	Vehiculo implicado	Serotipo	Carga patogena(UFC/g o mL)
1993		18	Ensalada de arroz	1/2b	$>10^3$
1994	Illinois USA	44	Leche de chocolate	1/2b	$10^9$
1997		1566	Ensalada fría de atún	4b	$10^6$
1998	Finlandia		Pescado frio ahumado	1/2a	$2 \times 10^5$
2000	Nueva Zelanda	32	Carne lista para comer	1/2	$>2 \times 10^5$
2001	California USA	16		1/2a	$>10^9$
2001	Sweden	48	Queso de leche cruda	1/2a	$10-10^7$
2001	Japon	38	Queso	1/2b	No conocido

Tabla 2 Brotes de Listeriosis gastrointestinal<sup>36</sup>.

Las investigaciones epidemiológicas de los brotes de listeriosis invasiva son particularmente muy complejas por dos razones; 1) el largo periodo de incubación (3 – 90 días) y, 2) por que la listeriosis primordialmente afecta a personas en estados de inmunosupresión y la selección de los casos control para los estudios puede llegar a ser un problema <sup>36</sup>.

Aproximadamente la cuarta parte (23%) a casi las tres cuartas partes (70%) de las infecciones producidas por *L. monocytogenes* tienen como consecuencia la muerte, la tasa de mortalidad de las infecciones sintomáticas por *Listeria* (20-30%), es más alta que la de casi todas las otras enfermedades transmitidas por alimentos, es significativo que la tasa de mortalidad por listeriosis sea mayor que la de otras enfermedades transmitidas por alimentos, sin embargo la mortalidad varia en forma considerable con los diferentes cuadros clínicos.

En la mayoría de los casos la listeriosis neonatal de comienzo temprano, el lactante se infecta in útero presumiblemente por infección transplacentaria a partir de la madre bacteriémica, que se supone ha adquirido la infección por transmisión alimentaría. También se ha descrito una infección ascendente presumiblemente por *Listeria* procedente de la vagina. Mientras que en la listeriosis neonatal de comienzo tardío que afecta a lactantes de término que han nacido sanos de mujeres sanas, tal vez se transmita al lactante por el canal de parto infectado y la infección cruzada en las guarderías neonatales siendo una fuente común de brotes de listeriosis el aceite mineral utilizado para baño de los lactantes <sup>14,19</sup>. Ha habido unos pocos brotes nosocomiales no asociados a alimentos, la mayoría en salas de recién nacidos.

## 6. TOMA DE MUESTRA PARA EL AISLAMIENTO DE *Listeria monocytogenes*.

La toma de muestras habitualmente usadas para el aislamiento y diagnóstico de *Listeria monocytogenes* son muestras orgánicas como sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, tejido placentario, tejido fetal <sup>12</sup>, secreciones del tracto genital <sup>8</sup>, esputo <sup>15</sup>, y las de materia fecal (que se prefieren a los hisopados rectales)<sup>19</sup>.

Aunque las muestras apropiadas para el cultivo dependen o varían según el cuadro clínico, *L. monocytogenes* se aísla fácilmente de las fuentes habituales ya mencionadas <sup>12</sup>.

### 6.1 MUESTRA DE SANGRE

#### Antes:

Identificación: Marque la hoja de petición con el número de paciente, el código de barras o el número del brazalete de identificación.

Posición: La posición del paciente (sentando o tendido) para la venopunción.

Materiales: Asegúrese de que el equipo necesario para la extracción de sangre (Aguja, gradilla, tubos de vacío) está a la mano.

#### Durante:

1.- Inspección: Revise el brazo del paciente, seleccione una vena mientras que el paciente aprieta el puño con fuerza.

2.- Desinfección: Limpie el lugar de venopunción.

3.- Exposición de la vena: Aplique un torniquete.

4.- Punción y recolección.

5.- Mezclado: Mezcle la sangre en los tubos que contienen aditivos o activadores de la coagulación.

Prevención de hemorragias: Aplique una gasa al lugar de venopunción mientras retira la aguja, aplique un vendaje al paciente en el lugar de la venopunción.

Eliminación: Deposite la aguja en una unidad de recolección y eliminación de

residuos de seguridad. El orden de recolección de los tubos es importante cuando se recogen varios tubos de sangre.

Las muestras de sangre pueden inocularse en cualquier sistema convencional. Para el hemocultivo se debe extraer al paciente entre 10 y 20mL. de sangre sin anticoagulante.

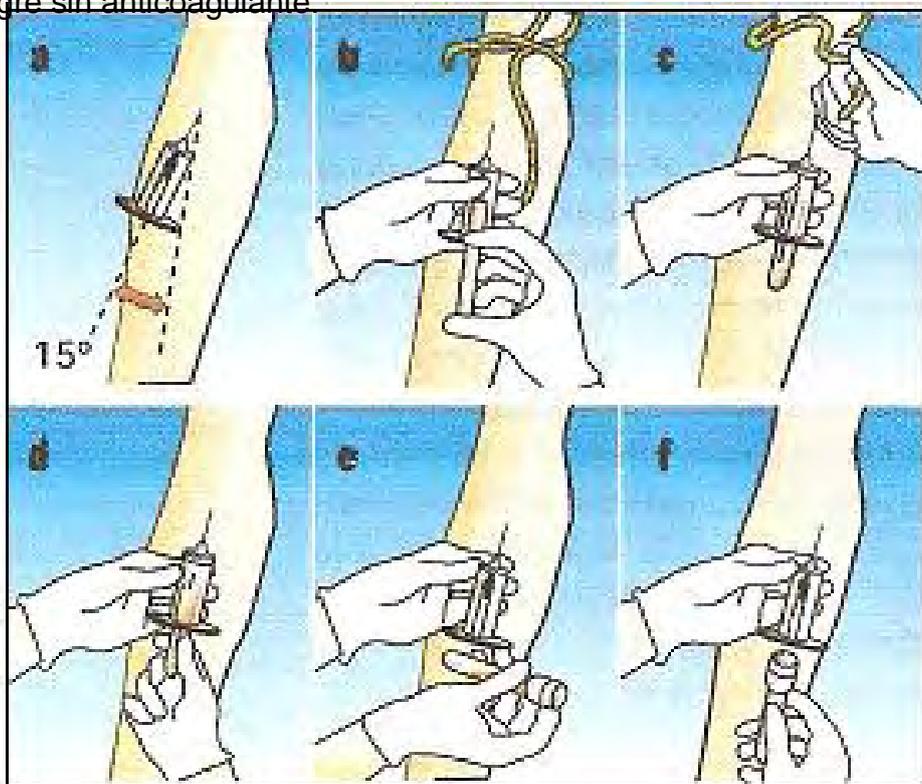


Figura 17. Toma de una muestra de sangre <sup>38</sup>.

## 6.2 MUESTRA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

### Antes:

Explicar el procedimiento al paciente. Muchos enfermos tienen conceptos erróneos, disipar sus miedos y darles tiempo para que expongan sus preocupaciones.

Obtener su consentimiento informado si así lo requiere la institución.

Realizar una evaluación neurológica basal de las piernas tomando nota de la fuerza, la sensibilidad y la movilidad.

Informar al paciente de que esa prueba no requiere ayuno ni sedación.

Instruirle para que vacíe la vejiga y el intestino antes del procedimiento.

Explicarle que debe permanecer muy quieto durante el procedimiento. El movimiento puede causar una lesión traumática. Animarle a que se relaje y respire de forma profunda y lenta con la boca abierta.

Durante:

- 1.-Este estudio es un procedimiento estéril que se puede realizar fácilmente a la cabecera de la cama del paciente el sujeto suele ser colocado en decúbito lateral con las piernas flexionadas (posición fetal).
- 2.-Se instruye al paciente para que rodee las rodillas con las manos a fin de mantener la posición. Por lo general alguien le ayuda a mantener esa posición (la prueba también se puede hacer con el paciente sentado).
- 3.- Una vez que se ha limpiado asépticamente la zona se inyecta un anestésico local en la piel y los tejidos subcutáneos.
- 4.- Se introduce la aguja espinal con un obturador interno a través de la piel en el canal espinal.
- 5.- Se penetra en el espacio subaracnoideo.
- 6.- Se retira el obturador y se puede ver como gotea lentamente el LCR por la aguja.
- 7.- Se conecta la aguja a un manómetro estéril y se registra la presión. (Presión de abertura)
- 8.- Después de medir la presión se le pide al paciente que se relaje y estire las piernas para reducir la presión intraabdominal, lo cual produce una elevación de la presión del LCR.
- 9.- Se llenan tres tubos estériles con 5 – 10 mL. de LCR.
- 10.- Se mide otra vez la presión (presión de cierre).

Estas muestras clínicas habitualmente estériles pueden ser inoculadas directamente en medios habituales como agar sangre, de no ser así se deben conservar a 4 °C durante un periodo máximo de 48 horas<sup>11</sup>.



Figura 18. Toma de muestra de líquido cefalorraquídeo<sup>38</sup>.

### 6.3 MUESTRA DE TEJIDO PLACENTARIO Y FETAL.

#### Antes:

Explicar el procedimiento al paciente

Obtener su consentimiento informado.

Evaluar la frecuencia cardíaca fetal (FCF) antes de la prueba como valor basal.

Administrar meperidina (demerol), si se ha prescrito, antes de la prueba, ya que atraviesa la placenta y tranquiliza al feto, con lo que se evita el movimiento fetal excesivo que podría dificultar el procedimiento.

#### Durante:

- 1.-Se coloca a la paciente en posición supina sobre una camilla de exploración.
- 2.-Se anestesia localmente la pared abdominal.
- 3.-Se hace una ecografía para localizar el feto y la placenta.
- 4.-Se inserta el endoscopio.
- 5.-Se obtienen las biopsias y las muestras de sangre.

Este procedimiento lo lleva a cabo un médico en 1 a 2 horas. Informar al paciente de que la única molestia asociada con este estudio es la inyección del anestésico local<sup>39</sup>.

Estas muestras deben conservarse en el refrigerador por lo menos durante 24 horas antes de que se siembren o cultiven.

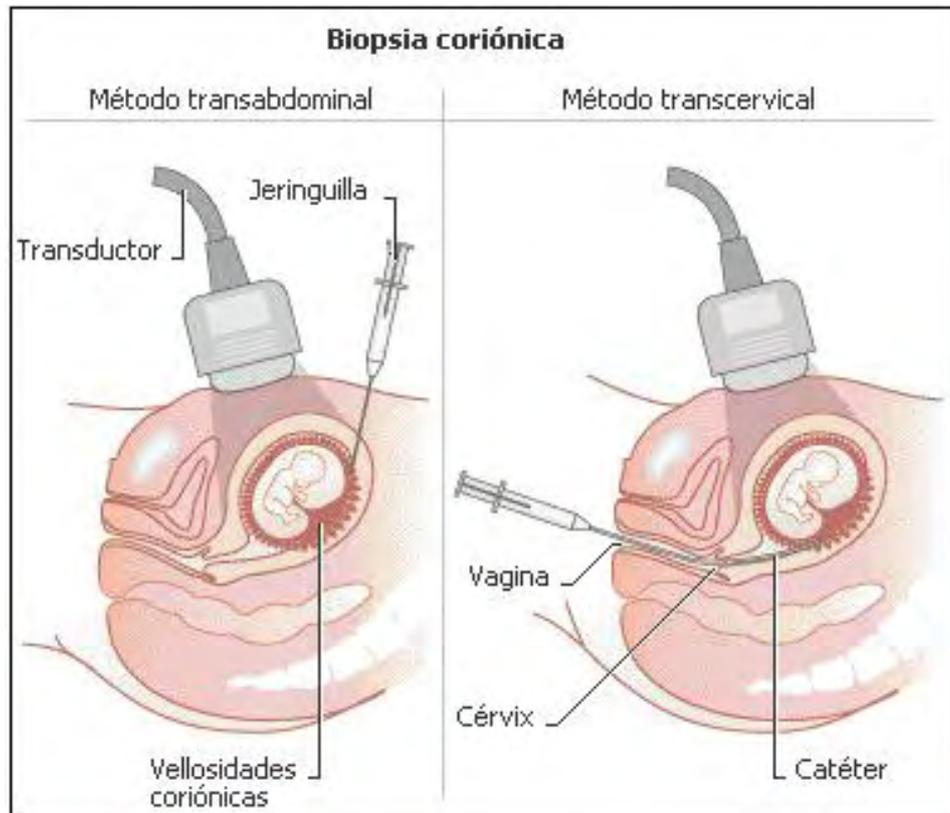


Figura 19. Diagnostico prenatal <sup>40</sup>.

#### 6.4 MUESTRA DE ESPUTO

##### Antes:

Explicar al paciente el método para recoger el esputo.

Recordarle que el esputo debe ser expulsado con la tos desde los pulmones y que la saliva no sirve para la prueba.

Suministrarle un contenedor estéril una noche antes de recoger el esputo, de forma que pueda obtener la muestra al despertarse por la mañana.

Instruirle para que se enjuague la boca antes de recoger el esputo para disminuir la contaminación de la orofaringe por partículas.

##### Durante:

1.-Tener en cuenta que la calidad de la muestra es mejor si se recoge al despertarse por la mañana antes de comer o beber.

2.-Recoger al menos una cucharadita de esputo en un contenedor estéril.

3.-Por lo general el paciente debe recoger el esputo al despertar después de hacer varias respiraciones profundas.

4.-Si el paciente es incapaz de expectorar, estimularlo golpeando el cabecero de la cama o administrando un aerosol con solución hipertónica templada.

5.-Los restantes métodos para la recogida del esputo incluyen aspiración endotraqueal, broncoscopia y aspiración transtrac



Figura 20. Muestra de esputo apariencia microscópica <sup>41</sup>.

## 6.5 MUESTRA FECAL.

### Antes:

Explicar al paciente el método para recoger las heces. Dar instrucciones claras y directas, lo que producirá menos turbación.

Instruir al paciente para que no contamine la muestra de heces con orina o papel higiénico.

Instruirle para que utilice un contenedor de recogida apropiado.

### Durante:

- 1.-Pedir al paciente que defecue en una cuña limpia.
- 2.-Colocar una pequeña cantidad de heces en un contenedor estéril.
- 3.-Incluir el moco y las hebras de sangre con el espécimen.

Si se va usar una torunda rectal, utilizar guantes e insertar la torunda con punta de algodón al menos 2.5cm en el canal rectal. Después, rotar la torunda durante 30seg. y colocarla en un contenedor limpio.

Enviar rápidamente el espécimen de heces al laboratorio. El retraso en el envío puede afectar la viabilidad de los microorganismos. Si es inevitable un retraso prolongado mezclar la muestra con solución salina-glicerol tamponada, que se usa como conservador, tener en cuenta que el crecimiento de algunos patógenos entericos puede requerir hasta 6 semanas <sup>39</sup>.

La muestra fecal se prefiere más que un hisopado recta <sup>19</sup>.



Figura 21. Muestra fecal.

## 7. PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE *Listeria monocytogenes*.

### 7.1 EXAMEN MICROSCÓPICO

La tinción de gram de muestras clínicas puede revelar bacilos cortos gram positivos, intra y extracelulares sin embargo su morfología es variable también es posible observar cocobacilos con ocasionales cadenas cortas que podrían confundirse con estreptococos. La tinción de gram de cultivos de caldo muestran generalmente bacilos gram positivos más largos con la formación más típica en empalizada característica de los difteroides <sup>12</sup>

El examen directo del sedimento teñido por gram de líquidos normalmente estériles como el LCR o el amniótico es útil para establecer un diagnóstico tentativo <sup>12</sup>. Es importante mencionar que las preparaciones de LCR teñidas con gram generalmente no muestran microorganismos debido a que las bacterias están presentes en concentraciones inferiores al límite de detección ( $10^4$  bacterias o menos por mililitro de LCR) lo cual contrasta con la mayor parte de los patógenos bacterianos del S.N.C. que están presentes en concentraciones 100 a 1000 veces superiores <sup>10</sup>.

*Listeria* también puede ser identificada en forma presuntiva por observación de la movilidad en preparaciones directas en fresco <sup>11</sup>. Algunas tinciones sencillas convencionales como azul de metileno no son satisfactorias y deben utilizarse tinciones de gram o giemsa especialmente para los cortes de tejidos <sup>8</sup>.

El examen de la placenta en general muestra abscesos agudos múltiples bien demarcados, o los denominados macroabscesos (de aprox. 0.5 a 3.0 cm de diámetro) compuestos de agregados de vellosidades necróticas con exudado neutrófilo dentro y fuera de las vellosidades (villitas aguda). Microscópicamente los abscesos se confunden con frecuencia con infartos isquémicos, pero el examen microscópico revela que la infiltración de neutrófilos es más marcada que la que se encuentra en los infartos <sup>19</sup>.

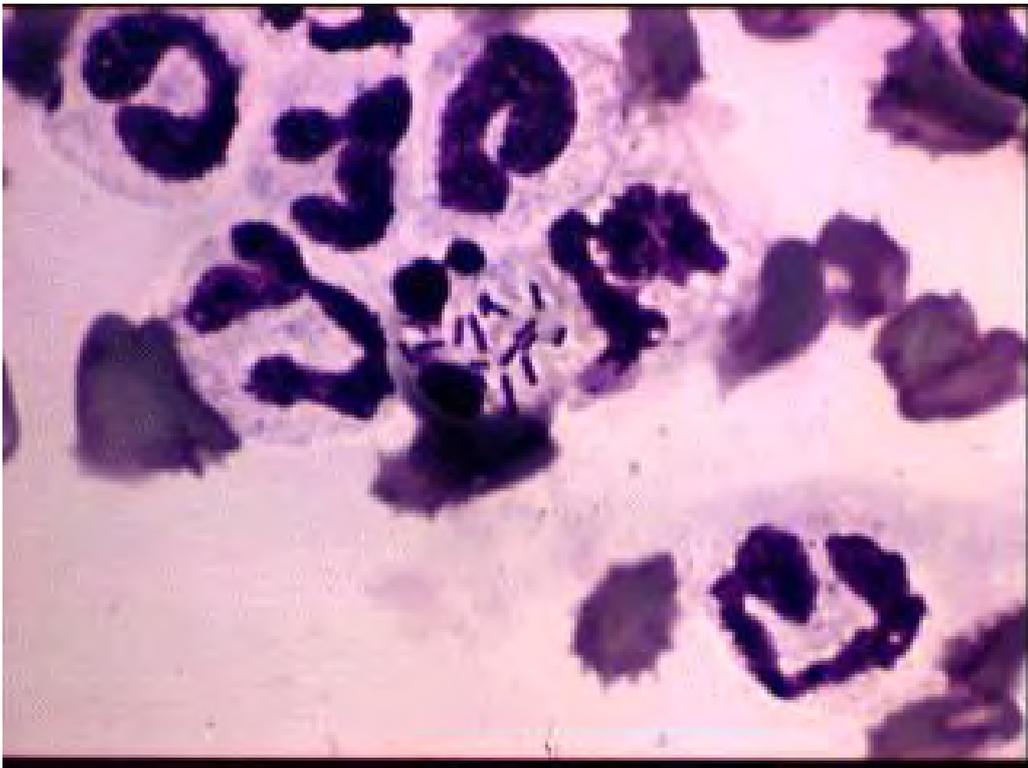


Figura 22. *Listeria monocytogenes* en neutrófilos <sup>42</sup>.

## 7.2 CULTIVO

La mayoría de los aislamientos clínicos de *L. monocytogenes* se hace en medios convencionales <sup>12</sup>, aunque puede ser necesario usar medios selectivos o un enriquecimiento en frío <sup>10</sup>. Se utilizan como medios primarios una placa de agar sangre y dos tubos con caldo de tioglicolato. La placa de agar sangre y un caldo se inoculan y se incuban a 35 °C, mientras que el segundo caldo de tioglicolato se refrigera tras la inoculación al cual se le denomina “enriquecimiento en frío” <sup>15</sup>.

Esta técnica consiste en mezclar los materiales contaminados con caldo tripticasa-soja (alternativamente caldo triptosa, en relación de una parte de muestra con nueve partes de caldo) y mantener a continuación la mezcla muestra-caldo en frío (4 °C, desde varios días hasta por 2 meses) y subcultivar en medio sólido a intervalos frecuentes hasta que se logre la recuperación del microorganismo <sup>13</sup>. El cultivo microbiológico se realiza en el medio de agar sangre de carnero y agar Columbia con colistina y ácido nalidixico. Se logra crecimiento en pocos días, con colonias pequeñas, redondas, lisas y translúcidas, con un pequeño halo de hemólisis tipo *beta* en placas de agar sangre.

Este procedimiento de enriquecimiento en frío puede mejorar la tasa de aislamiento de fuentes tisulares y de muestras contaminadas <sup>12</sup>. Para la detección de *Listeria monocytogenes* en especímenes contaminados (alimentarios, ambientales, fecales) donde se ve superado en número por otros microorganismos puede aislarse por enriquecimiento en frío. Los medios selectivos de enriquecimiento que contienen antimicrobianos (polimixina, acriflavina, y ácido nalidixico) también facilitan su aislamiento <sup>9</sup>.

Las muestras de sangre pueden inocularse en cualquier sistema convencional de hemocultivo <sup>11</sup>. En el caso de los hemocultivos, una botella de hemocultivo debe refrigerarse y la otra debe incubarse a 35° C. Los cultivos en caldo incubados a 35 °C son subcultivados en placas de agar sangre a intervalos convenientes hasta de 2 semanas y los cultivos en caldo refrigerado hasta 3 meses <sup>15</sup>.

Se recomienda sembrar el mayor volumen posible dado que el número de microorganismos es bajo en sangre y LCR <sup>14</sup>.

Las características del crecimiento en placas de A.S.C(Fig. 23), son colonias pequeñas translúcidas, grises y la mayoría de las cepas produce un estrecho halo de  $\beta$ - hemólisis que habitualmente no se extiende mucho más allá de los bordes de la colonia, *Listeria monocytogenes* nunca es alfa hemolítica y no forma colonias blancas.

En medios sin sangre como agar triptosa o agar nutriente las colonias de *Listeria* pueden tener un aspecto verde azulado cuando se observa con iluminación oblicua <sup>12</sup>(Fig. 23).

También puede crecer bien en agar telúrito potásico con lo que se puede confundir con un Difteroide o bien confundirse con un Enterococo a causa de su crecimiento en agar bilis-esculina <sup>9</sup>.

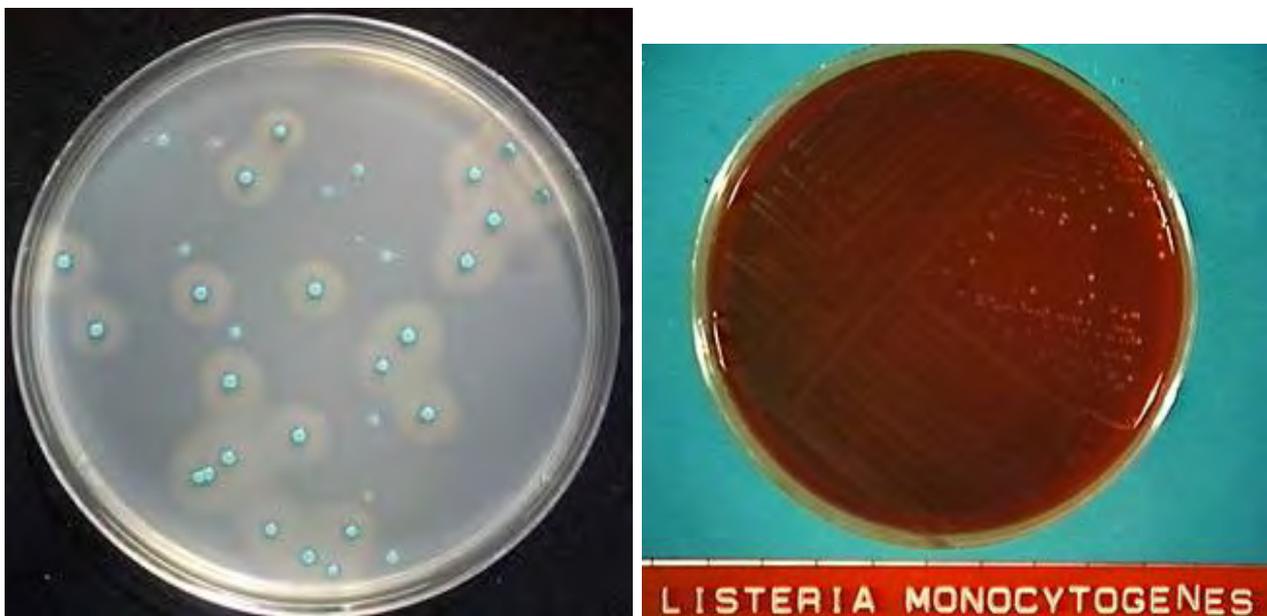


Figura 23. Aspecto de las colonias de *Listeria monocytogenes* en agar nutritivo y agar sangre de carnero <sup>43,44</sup>.

### 7.3 INCUBACIÓN

Estas bacterias crecen mejor en presencia de una tensión de  $O_2$  reducida y una tensión de  $CO_2$  incrementada<sup>8</sup>.

En placas agar sangre de carnero (o agar columbia con colistina- ácido nalidixico) incubadas a 35 °C durante 24 horas en aire ambiental, el desarrollo es escaso. También puede obtenerse desarrollo en una placa de agar sangre de carnero incubada en 5% a 10% de  $CO_2$  ó en anaerobiosis. En dichas condiciones las colonias desarrolladas son pequeñas, translucidas, grises y la mayoría de las cepas produce un estrecho halo de  $\beta$ -hemólisis que habitualmente no se extiende más allá de los bordes de la colonia. Para conseguir las condiciones antes mencionadas se pueden utilizar varios métodos. La incubación en aerobiosis se efectúa colocando las cajas de petri o tubos en jarras de anaerobiosis, las que se cierran herméticamente y se hace el vacío en su interior mediante una bomba aspirante, remplazando el aire extraído por una mezcla de gases  $N_2$ ,  $O_2$  y  $CO_2$ . La anaerobiosis también se puede obtener por medios químicos; en una jarra similar a la anterior, se introduce un sobre comercializado que contienen reactivos que al añadirle agua genera  $CO_2$  e hidrógeno, el cual en presencia de un catalizador (paladio), reacciona con el oxígeno produciendo agua y eliminando por tanto el oxígeno libre. Existen bolsitas de plástico en las que caben una o dos cajas de petri realizándose la anaerobiosis por métodos químicos. También se emplean estufas en las que la anaerobiosis se realiza mediante un dispositivo automático que extrae el aire y lo sustituyen por mezclas gaseosas<sup>6</sup>.

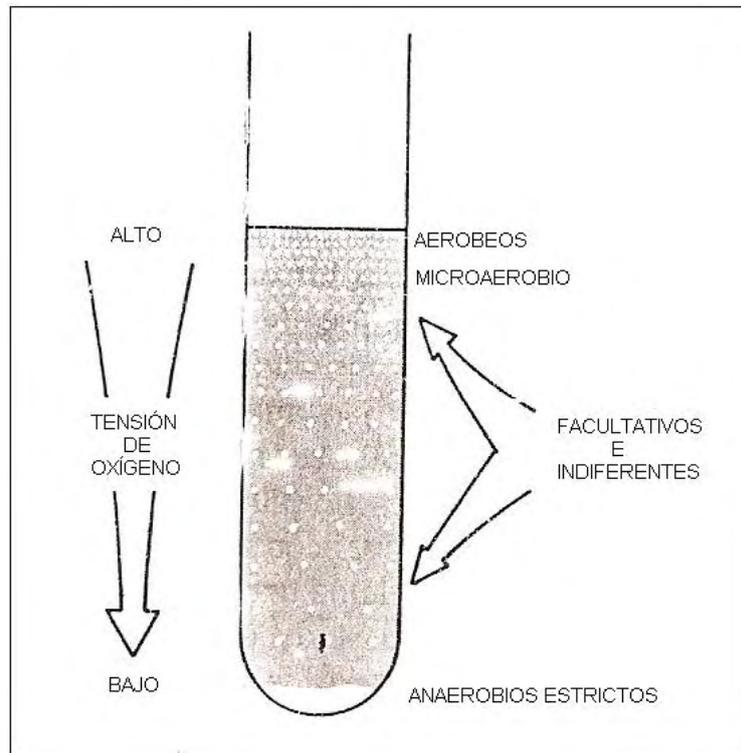


Figura 24. Necesidades de Oxígeno para los microorganismos <sup>45</sup>.

#### 7.4 IDENTIFICACIÓN DE *Listeria monocytogenes*

El diagnóstico requiere el aislamiento de *L. monocytogenes* de muestras clínicas (que normalmente son estériles líquido cefalorraquídeo, sangre, líquido sinovial, etc.) y la identificación mediante técnicas microbiológicas convencionales.

#### PRUEBAS BIOQUÍMICAS

En el siguiente cuadro se muestra la diferenciación de *Listeria* de otros microorganismos que pueden ser similares.

Microorganismo	Catalasa	Hidrólisis de esculina	Movilidad	Beta hemólisis	Desarrollo en NaCl al 6.5%
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	+
<i>Corynebacterium sp.</i>	+	-	-/+	-/+	+/-
<i>Propionibacterium sp.</i>	+	+/-	-	+/-	+
<i>Arcanobacterium</i>	-	+/-	-	+	-
<i>S. agalactiae</i>	-	-	-	+	-
<i>Enterococcus.</i>	-	+	-	-/+	+

Tabla 1 Identificación de *Listeria monocytogenes*.

+/-: variable (la mayoría de las cepas positivas)<sup>7</sup>

-/+ : variable (la mayoría de las cepas negativas)<sup>7</sup>

En el siguiente cuadro se muestra las propiedades características de *Listeria* que pueden ayudar para el diagnóstico definitivo.

Prueba;	<i>Listeria monocytogenes</i>
Catalasa	+
Hemólisis	+
Indol	-
Rojo de metilo	+
Reducción de nitrato	-
Hidrólisis de la esculina	+
Glucosa (solo ácido)	+
Salicilina	+
Manitol	-
Xilosa	-
Fructuosa	+
Ramnosa	+
Producción de (SH <sub>2</sub> ) <sub>1</sub>	-
Desarrollo en NaCl al 6.5%	+
Queratoconjuntivitis	+
Movilidad	+ a 20° C / +- a 37° C.
Hidrólisis de hipurato	+
CAMP w/s <i>S. aureus</i>	+

Tabla 2 Propiedades de *Listeria monocytogenes*<sup>10,11,18,19,20</sup>.

#### 7.4.1 \*Prueba de la catalasa:

Fundamento: comprobar la presencia de la enzima catalasa. Esta es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo. Los organismos que no poseen el sistema citocromo carecen también de la enzima catalasa y por tanto no pueden descomponer el  $H_2O_2$ <sup>46</sup>.

Técnica:

1) Preparar un tubo de 12\*100mm con 3-4 mL. de una solución de agua oxigenada de 110 volúmenes diluida al 1/3 en agua destilada estéril.

2) Tomar el microorganismo del cultivo con un palillo. Introducir el palillo en el agua oxigenada sin que se desprenda el cultivo<sup>6</sup>.

Otro procedimiento puede ser:

1) Preparar un portaobjetos limpio.

2) Depositar con una pipeta agua oxigenada de 110 volúmenes, previamente diluida al 1/3 en agua destilada.

3) Tomar el microorganismo con un palillo de madera o plástico a partir de la colonia y efectuar una suspensión espesa del mismo en el agua oxigenada del portaobjetos.

Interpretación:

Si la reacción es positiva, se observa que a partir del microorganismo se originan abundantes burbujas. Estas burbujas no se producen si la reacción es negativa.

Si la bacteria se manipula con el asa de nicromo, pueden producirse positivas falsas, se evitara realizar la reacción a partir de cultivos de agar sangre, pues también puede dar falsos positivos<sup>52</sup>.



Figura 25. Catalasa positiva y catalasa negativa <sup>47</sup>.

#### 7.4.2 \*Prueba de rojo de metilo:

Fundamento: con esta prueba se demuestra la capacidad del microorganismo para producir y mantener estables los productos finales ácidos a partir de la fermentación de la glucosa y vencer el buffer del sistema.

La prueba de rojo de metilo es una prueba cuantitativa basada en el uso de un indicador de pH, para determinar la concentración del Ion hidrógeno (pH) cuando un microorganismo fermenta la glucosa. Los microorganismos RM (+) continúan con la producción de ácidos, lo que origina un pH terminal bajo, que vence el sistema del buffer fosfato y mantiene un ambiente ácido en el medio de prueba <sup>46</sup>.

Técnica:

Sembrar con el asa el medio glucosado debajo de la superficie del medio para el estudio de la producción de ácidos. Incubar a 35-37 °C durante 48 horas <sup>52</sup>.

Sacar de la estufa y agregar 5 gotas del indicador rojo de metilo e interpretar el color del resultado de inmediato.

Interpretación:

MR positivo (+): El cultivo es suficientemente ácido para permitir que el reactivo rojo de metilo permanezca con un color distintivo rojo brillante, estable (pH 4.4) en la superficie del medio.

MR negativo (-): Color amarillo (pH 6) en la superficie del medio.

Reacción tardía (+-): El color naranja rojizo indica que el microorganismo produce menos ácido a partir del sustrato de prueba. Continuar la prueba hasta 4 días y repetir la prueba <sup>46</sup>.



Figura 26. Prueba de rojo de metilo positiva y negativa <sup>48</sup>.

#### 7.4.3 \*Prueba de movilidad

Fundamento: **determinar si un microorganismo es móvil o inmóvil.**

Las bacterias son móviles por medio de flagelos. Los flagelos aparecen sobre todo en los bacilos, sin embargo algunas formas cocoides son móviles. Las bacterias móviles pueden contener un único flagelo o muchos flagelos y su ubicación varía según las especies bacterianas y las condiciones de cultivo. En ocasiones, las bacterias móviles producen variantes inmóviles que parecen estables, en raras oportunidades revierten a las formas móviles. Los organismos inmóviles carecen de los flagelos.

Técnica:

Sembrar por picadura central un tubo con agar, la suspensión de la bacteria con la ayuda de un asa, incubar a 35-37 °C durante 18-24 horas.

Si se sospecha que un microorganismo puede exhibir movilidad a una temperatura más baja; inocular dos tubos de manera simultánea; incubar uno a 35 °C y el otro a temperatura ambiente (22-25 °C).

Interpretación:

Interpretación macroscópica. (Medio para movilidad).

Resultado positivo (móvil): microorganismos móviles que migran desde la línea de siembra y se difunden en el medio, lo que produce turbidez. Pueden mostrar estrías de crecimiento vellosas.

Resultado negativo (inmóvil): crecimiento bacteriano acentuado a lo largo de la línea de siembra, el medio que la rodea permanece claro.

Medio control (no inoculado): sin crecimiento, el medio permanece incoloro y claro <sup>46</sup>.

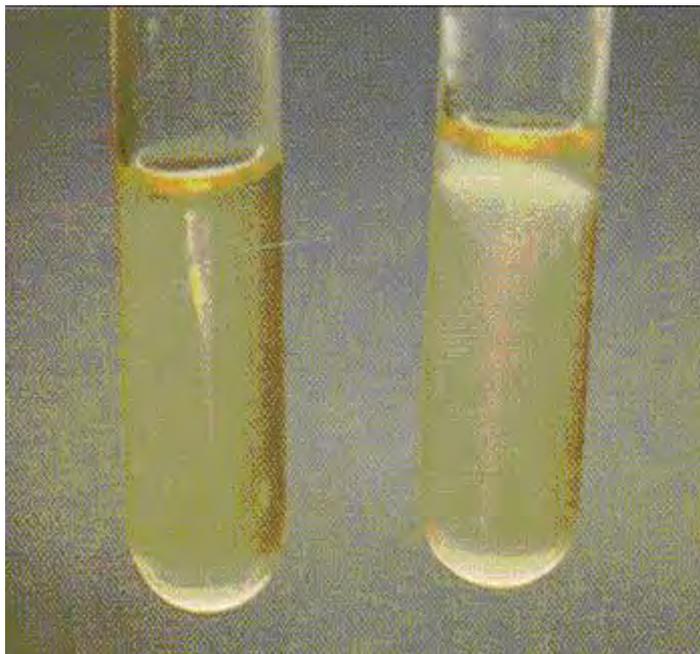


Figura 27. Movilidad de *Listeria monocytogenes* en sombrilla o explosión atómica en un medio semisólido <sup>49</sup>.

#### 7.4.4 \*Pruebas de fermentación de hidratos de carbono.

Fundamento: determinar la capacidad de un microorganismo para fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado en un medio basal y producir ácido o ácido con gas visible.

Técnica:

Con hisopo: pasar el hisopo sobre el crecimiento de un cultivo, el hisopo se habrá humedecido previamente con solución fisiológica o caldo estéril, pasar el hisopo contra un costado de cada uno de los tubos con hidratos de carbono por encima del nivel del líquido inclinar el tubo para que se incorpore el inóculo.

Con aguja o asa: pasar el asa sobre el crecimiento de un cultivo e introducirla en cada uno de los tubos, agitar suavemente cada tubo.

Por lo común es suficiente un solo inóculo para inocular una batería de 8 a 10 hidratos de carbono e incubar a 35 °C durante 18 a 24 horas.

Interpretación:

Positivo (ácido): desarrollo de color amarillo en el tubo con hidrato de carbono lo que indica que el microorganismo utilizó ese hidrato de carbono.

Negativo (alcalino): permanece el color rojo o naranja rojizo.

Retardada: color anaranjado, comprobar con un tubo no inoculado y volver a incubar <sup>46</sup>.



Figura 28. Fermentación de los azúcares glucosa y lactosa <sup>54</sup>.

#### 7.4.5 \*prueba de hidrólisis de la esculina

Fundamento: **determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar el glucósido esculina a esculetina** <sup>51</sup>.

La esculetina es un compuesto fluorescente bajo luz ultravioleta a 360nm. Cuando se hidroliza la fluorescencia se pierde y el medio vira al negro. Debido a la reacción de la esculetina con los iones ferricos presentes en el medio <sup>51</sup>.

Técnica:

Tomar el centro de una colonia bien aislada con un asa o palillo de madera estériles sembrar el microorganismo en la superficie de un tubo de agar en pico de flauta o en un tubo de caldo. Incubar durante 18 – 24 horas a 35 °C.

Interpretación:

Positivo: el desarrollo de un color negro o la pérdida de fluorescencia bajo luz ultravioleta (360nm).

Negativo: la presencia de la fluorescencia o la ausencia de color negro.

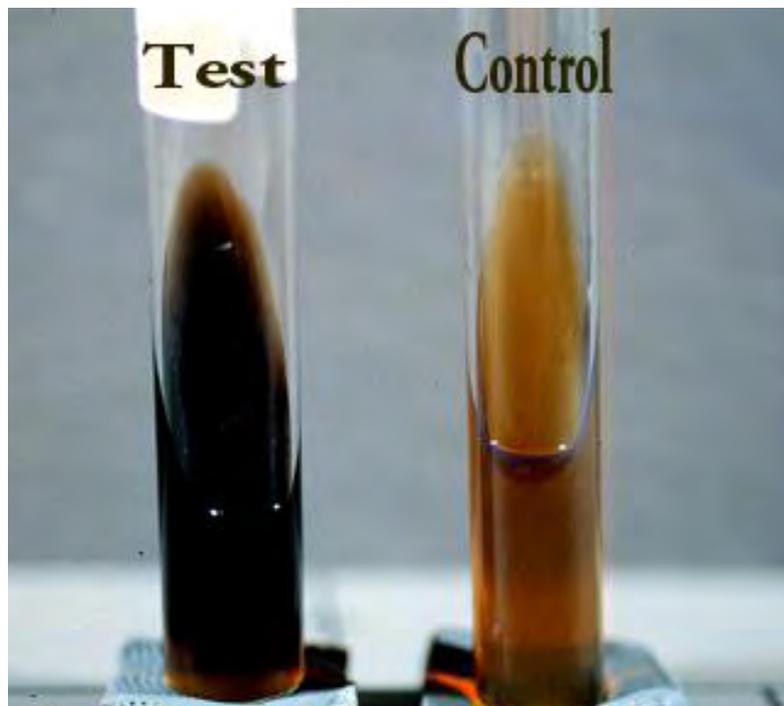


Figura 29. Hidrólisis de la esculina positivo <sup>53</sup>.

#### 7.4.6 \*Crecimiento en NaCl al 6.5%.

Técnica:

Sembrar el microorganismo en el caldo con NaCl al 6.5% e incubar a 35-37 °C durante 18 – 24 horas.

Interpretación:

Se evalúa el crecimiento del microorganismo en el medio;

Positivo: enturbiamiento del caldo.

Negativo: caldo transparente <sup>52</sup>.



Figura 30. Crecimiento en NaCl al 6.5 % positivo <sup>47</sup>.

#### 7.4.7 PRUEBA DE CAMP.

El fenómeno hemolítico fue descrito por primera vez en 1944 por Christie, Atkis y Munich- Peterson y por ello se denomina CAMP por las iniciales de los apellidos de sus autores.

Fundamento: Determinar la capacidad de un microorganismo para producir y elaborar el factor CAMP (agente lítico), que actúa de manera sinérgica con la  $\beta$ -hemolisina estafilocócica ( $\beta$ - lisina) sobre eritrocitos ovinos o bovinos, que se manifiesta con una zona hemolítica.

Técnica:

Con un asa de inoculación estriar *Staphylococcus* en una línea recta que atraviese el centro de una placa de A.S.C.

Estriar al microorganismo de prueba en una línea recta de 2 a 3cm. de largo y perpendicular (ángulo recto) al inóculo estafilocócico, sin tocarlo.

En la misma placa y de forma similar deben estriarse un control positivo y uno negativo. Incubar la placa a 35 °C en aire atmosférico durante 18 a 24 horas.

Interpretación:

Positivo: Reacción CAMP; Producción de una característica zona en punta de flecha (llama) de hemólisis completa (clara), localizada en el punto de la estría estafilocócica donde convergen y se superponen los productos de difusión de los dos microorganismos. (Factor CAMP y  $\beta$  lisina) en el área entre el crecimiento de las dos cepas.

Negativo: Ausencia del fenómeno en punta de flecha.

A continuación se presentan los esquemas para la identificación de *Listeria monocytogenes*.

## 8. PRUEBAS ESPECIALES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Listeria monocytogenes*.

8.1 Inoculación en animal o prueba de Antón: **Se inyecta un asa cargada de cultivo suspendido en salino en el saco conjuntival de un conejo o cobayo.** Observar al animal por 5 días. La conjuntivitis purulenta aparecerá a veces después de unas 8 horas, pero generalmente debe esperarse un periodo de 2 – 5 días. La conjuntivitis se curara espontáneamente <sup>15,19</sup>. El saco conjuntival del ojo no inoculado servirá como testigo <sup>5</sup>.



Figura 31. Queratoconjuntivitis infecciosa en animal <sup>50</sup>.

8.2 Producción de monocitos: Inocular la vena marginal de la oreja de un conejo con 0.5mL. de una suspensión de cultivo estandarizado con agua destilada al tubo N° 1 del nefelómetro de Mc Farland ( $3 \times 10^8$  organismos por mL.) un marcado aumento de monocitos, se encuentra después de 3 a 5 días si el cultivo es de *L. monocytogenes* <sup>55</sup>.

### 8.3 Identificación serológica

La identificación serológica definitiva requiere la serotipificación de los antígenos somáticos (O) y flagelares (H).

La producción de sueros específicos de tipificación es tediosa y no se justifica en los laboratorios clínicos. Se venden comercialmente pruebas rápidas de portaobjetos y de tubo para aglutinación pero en general es necesaria una serotipificación más definitiva para los estudios epidemiológicos. Los serotipos 1a, 1b y 4b representan más del 90% de todos los aislamientos. Aunque existen algunas diferencias regionales <sup>12</sup>.

Los antisueros de *Listeria* se consiguen comercialmente pero generalmente no son necesarios <sup>15</sup>.

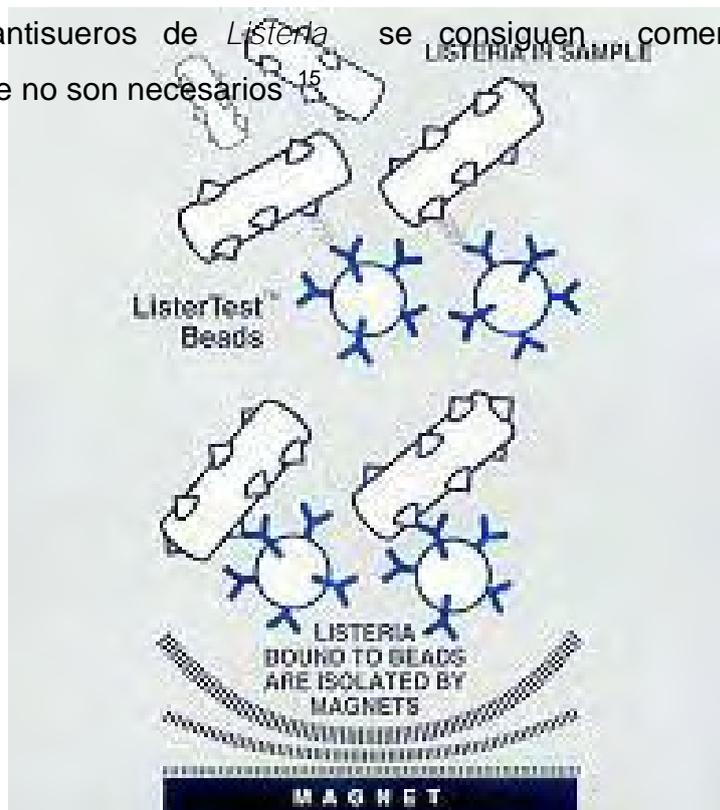


Figura 32. Prueba serológica para aislamiento de *Listeria* <sup>51</sup>.

El diagnóstico (microaglutinación, fijación de complemento) serológico no es fiable por que la prueba carece de sensibilidad y reacciona en forma cruzada con Enterococos, *Staphylococcus aureus* y otras bacterias gram positivas <sup>9</sup>.

## 9. TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

Antes del advenimiento de los antibióticos la mortalidad por listeriosis era bastante elevada sobre todo en las formas severas.

Se han recomendado varios antibióticos para el tratamiento de listeriosis entre los que se encuentran; ampicilina, penicilina, tetraciclina y eritromicina. De los cuales la ampicilina y la penicilina G, son los fármacos de elección, a veces se usan en enfermos neutropénicos o inmunosuprimidos una combinación sinérgica de uno de estos  $\beta$  lactámicos con gentamicina (aminoglucósido). En la forma meningítica con frecuencia las dosis altas de penicilina o ampicilina dan buenos resultados. En personas alérgicas a la penicilina se ha usado favorablemente una combinación de trimetoprim-sulfametoxazol<sup>13,10,19</sup>.

Los pacientes con listeriosis por lo general deben ser tratados por lo menos durante tres semanas (con ampicilina más un aminoglucósido); Los tratamientos más cortos pueden favorecer recidivas.

En ausencia de una tinción de gram positiva en el LCR la terapia inicial de la meningitis bacteriana en todos los adultos mayores de 50 años debe incluir ampicilina o trimetoprim-sulfametoxazol.

En los pacientes con deterioro severo de la función de las células T y en todos los casos de meningitis y endocarditis para el tratamiento de la bacteriemia la mayoría de los especialistas aconsejan un agregado de la gentamicina a la ampicilina.

Los pacientes con meningitis deben ser tratados no menos de 3 semanas; los pacientes con bacteriemia sin anomalías del LCR pueden ser tratados durante 2 semanas.

Los pacientes con rombencefalitis o absceso cerebral deben ser tratados al menos durante 6 semanas y controlados mediante resonancia magnética seriada.

El tratamiento de la endocarditis debe alcanzar las 4 a 6 semanas<sup>16</sup>.

## 9.1 MECANISMO DE ACCIÓN

Enseguida se da la descripción general del mecanismo de los fármacos. Es una descripción muy general si se desea profundizar en el tema se sugiere revisar la bibliografía.

### 9.1.1 PENICILINA

Su mecanismo de acción es complejo aunque el efecto final es la inhibición de la síntesis de componentes de la pared bacteriana, concretamente la formación de peptidoglucano o mureína constituido por unidades de N-acetilglucosamina más ácido N-acetilmurámico a los que se unen cadenas verticales de tetrapeptidos entrelazados por puentes de peptaglicina. Esto confiere rigidez a la pared bacteriana.

La formación de la pared se lleva a cabo en tres etapas en la tercera se completa el enlace cruzado por una reacción de transpeptidación del dipéptido d-alanil- d-alanina. Esta reacción es inhibida por las penicilinas que inhiben carboxipeptidasas y transpeptidasas.

Esto hace que las penicilinas sean consideradas como antibióticos bactericidas en fase de crecimiento pues en fase de reposo no se sintetiza la pared<sup>51</sup>.

### 9.1.2 TETRACICLINA

Las tetraciclinas se fijan a la subunidad 30S de los ribosomas microbianos. Estas inhiben la síntesis de proteínas mediante el bloqueo de la unión del aminoacil-RNA<sup>t</sup> cargado. Así evitan la introducción de nuevos aminoácidos en la nascente cadena peptídica. La acción suele ser bacteriostática y reversible al suspender el medicamento, la resistencia a las tetraciclinas se debe a los cambios en la permeabilidad de la envoltura celular microbiana.

En las células susceptibles el fármaco se concentra en el ambiente por un proceso dependiente de energía de transporte activo y no abandona fácilmente a la célula. En las células resistentes puede ser que el medicamento no sea transportado de manera activa, dentro de la célula o que la abandona tan rápidamente que no se mantengan las concentraciones inhibitorias<sup>53</sup>.

### 9.1.3 ERITROMICINA

La acción bacteriana de las eritromicinas es inhibidora como bactericida para los microorganismos susceptibles. La actividad es potenciada a pH alcalino. La

inhibición de la síntesis de proteínas se presenta mediante la acción en la subunidad 50S de los ribosomas. El receptor para las eritromicinas es un RNA r235 en la subunidad 50S, la síntesis de proteínas es inhibida ya que bloquean las reacciones de translocación del aminoacilo y la formación del complejo de iniciación <sup>53</sup>.

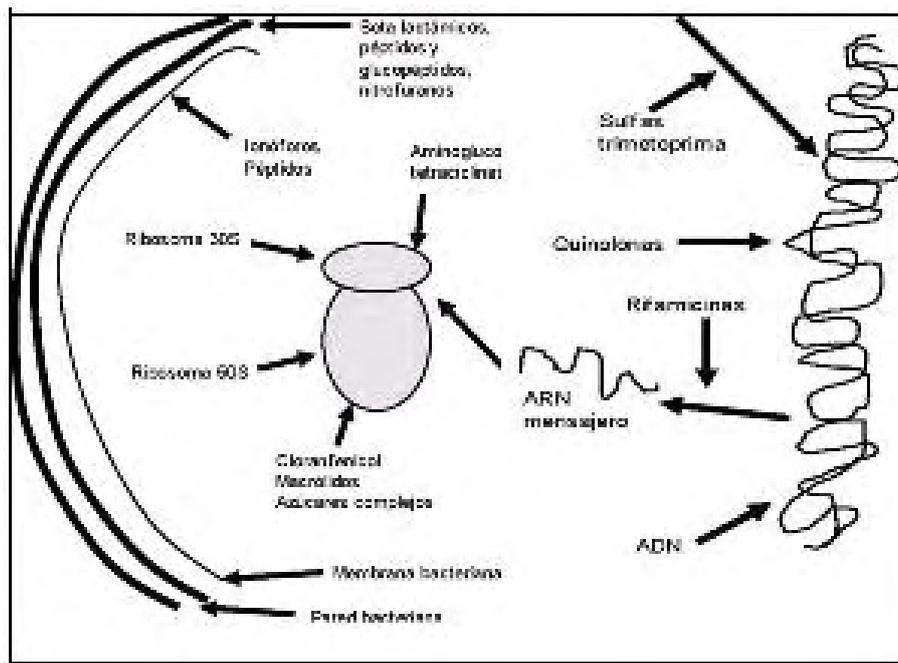


Figura 33. Mecanismos de acción de algunos fármacos <sup>54</sup>.

## 9.2 POSOLOGÍA RECOMENDADA

Es probable que el fármaco de elección sea la ampicilina, 8 a 12g/día por vía intravenosa en 4 a 6 dosis divididas (recomendando la dosis más alta en los casos de meningitis).

Mientras que para el trimetoprim-sulfametoxazol, la dosis es de 10 a 20mg/Kg/día del componente trimetoprim. El tratamiento debe administrarse cuando menos durante 2 a 3 semanas <sup>55</sup>.

## 10. PREVENCIÓN Y CONTROL

Debido a que *Listeria* es ubicua y a que la mayoría de las infecciones son esporádicas, la prevención y control son difíciles. Sin embargo, las personas con alto riesgo de infección deben evitar comer alimentos crudos o parcialmente cocinados de origen animal, quesos no curados y vegetales crudos o sin lavar. No se dispone de una vacuna y no se ha estudiado la profilaxis antibiótica en pacientes de alto riesgo<sup>10</sup>. Sin embargo las infecciones por listerias se previenen con eficacia con trimetoprima-sulfametoxazol administrada de modo similar a la profilaxis de *Pneumocystis* en los receptores de transplantes de órganos o en individuos con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. En las zonas donde la prevalencia del SIDA es elevada el uso extendido de la profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol contra la neumonía por *Pneumocystis* parece haber provocado una notable declinación de la listeriosis no perinatal<sup>16</sup>.

Las mujeres embarazadas deben evitar el contacto con animales salvajes y domésticos. También deben evitar el consumo de quesos blandos, carnes frías y ensaladas frías. Los productos alimenticios importados, tales como los quesos blandos sin pasteurizar, también han resultado implicados en brotes de listeriosis. Siempre se recomienda la cocción adecuada de las comidas.

Recomendaciones dietéticas para prevenir la listeriosis

Para toda la población

- Evitar ingerir carnes crudas o poco cocidas (cerdo, vaca, aves de corral).
- Evitar la ingesta de vegetales crudos o sin lavar.
- Mantener las carnes no cocidas separadas de los vegetales, alimentos cocinados y alimentos precocinados.
- Evitar ingerir leche no pasteurizada o alimentos hechos con derivados lácteos crudos<sup>10,14</sup>.
- Lavado de manos, cuchillos y tablas de corte luego de manipular los alimentos no cocidos.

Para personas con alto riesgo

- Evitar los quesos blandos.
- Recalentar los restos de alimentos o alimentos procesados y mantenerlos calientes hasta su ingestión <sup>16</sup>.

## 11. CONCLUSIONES.

En la actualidad la listeriosis es considerada como una enfermedad poco frecuente y aunque en México no hay reportes de brotes o epidemias causadas por *Listeria monocytogenes*, es importante considerarla como patógeno humano; pues resulta importante mencionar que siendo un microorganismo ubicuo y que por su reservorio amplio se aumenta el riesgo de contraer una infección causada por este microorganismo. Porque frecuentemente es un contaminante de alimentos para el consumo humano tanto de origen animal como vegetal, los cuales son de consumo cotidiano y accesibles para la población en México, debido a ello se considera la puerta de entrada más común, la vía digestiva, aunque no es la única forma de contraer a *L. monocytogenes*. Aumentado el riesgo para las personas inmunosuprimidas, mujeres embarazadas, neonatos, ancianos o personas que padezcan una enfermedad de base, en la actualidad el número de enfermedades que causan un deterioro en la respuesta inmune cada vez son mayores lo que ha llevado a un aumento de la población inmunosuprimida con lo que se eleva la probabilidad de diagnosticar microbiológicamente a *L. monocytogenes* dentro del laboratorio clínico..

Debido a que la enfermedad se presenta con baja frecuencia y las características clínicas no son específicas, al hacer el diagnóstico por el laboratorio, la similitud de la *Listeria* con otras bacterias en cultivo y en examen directo llevan frecuentemente a establecer un diagnóstico erróneo y por el poco auge que tiene esta bacteria muchas veces el laboratorista no considera la importancia de que la infección pudiera ser causada por *Listeria monocytogenes*. Dejando una pregunta abierta listeriosis ¿una enfermedad poco frecuente o no diagnosticada?

## 12. APÉNDICE

### Tinción de Gram.

Las manipulaciones del portaobjetos deben efectuarse mediante unas pinzas, para evitar mancharse los dedos con los colorantes.

- 1.- Tomar el portaobjetos con la extensión a teñir.
- 2.- Fijar la preparación, recubriéndola con una capa fina de alcohol, decantarlo flamear.
- 3.- Recubrir la preparación con la solución de violeta de genciana, dejar actuar durante un minuto.
- 4.- Decantar y lavar suavemente con agua de modo que no se desprenda el material fijado.
- 5.- Recubrir la preparación con lugol, dejar actuar durante 1 minuto.
- 6.- Decantar y lavar suavemente con agua.
- 7.- Decolorar bañando con alcohol/acetona hasta que la preparación no desprenda colorante (30 seg. Aprox.).
- 8.- Decantar y lavar suavemente con agua.
- 9.- Recubrir la extensión con la solución de fucsina diluida (o safranina), dejar actuar durante 30 seg.
- 10.- Decantar, lavar suavemente y dejar secar para llevar al microscopio.

### Fundamento;

La afinidad grampositiva o gramnegativa de las bacterias depende de la composición química de la pared celular y en parte de su estructura física.

Al observar el preparado en el microscopio después de realizar los primeros cuatro pasos, todas las bacterias se ven de color violeta, después de aplicar el decolorante algunas bacterias conservan su color mientras que otras se decoloran. Las que mantienen el color violeta se denominan grampositivas y las que lo pierden se llaman gramnegativas. Esto se debe a que los decolorantes orgánicos utilizados abren los poros de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (constituida principalmente por lipoproteínas y lipopolisacáridos) y permiten la salida del colorante principal, de modo que los

microorganismos quedan desprovistos de color, al agregar el contra color estos quedan teñidos de rojo <sup>56</sup>.

Resiembra en cultivo.

1.- Preparar los tubos o las placas con los medios de cultivo adecuados al microorganismo que se va a resembrar.

2.- Observar cuidadosamente con una lupa las colonias formadas sobre el agar de la placa de petri para distinguir la posible existencia de distintos tipos de colonias. Para confirmar la existencia de colonias de distintos tipos, puede ser útil una tinción de Gram a partir de cada una de las diferentes colonias y observarlas al microscopio.

3.- Tocar la colonia con el asa sin tocar el agar en su contigüidad.

4.- Para efectuar la resiembra; depositar la colonia, tocada con el asa, en el tubo con el medio líquido, frotando en la interfase vidrio-líquido o en el tubo con el medio sólido (agar inclinado) o la placa resiguiendo lentamente, en zigzag, la superficie del agar ( Fig 34).

Repetir la operación con cada una de las diferentes colonias existentes, sembrando, lógicamente, cada una en un tubo o placa diferente (perfectamente rotulado).

5.- Llevar a la estufa a incubar 18 - 24 horas, es suficiente.

Descripción del medio agar sangre de carnero (ASC) y agar columbia colistina- ácido nalidixico (ACN).

Agar sangre de carnero al 5% (ASC); Se prepara añadiendo 5% de sangre de carnero a un agar base rico, como el agar columbia, agar brucela, TSA, agar GC y otros. Cuando se pretende leer la hemólisis se debe preparar el medio sin azúcares (glucosa u otros).

Agar Columbia Colistina- Acido Nalidixico (CNA); Es un agar sangre, formulado con agar columbia como base al que se le añade ácido nalidixico y colistina, que lo hacen selectivo para *Streptococos*, incluyendo el *Neumococo* y los *Enterococos*, así como la *Listeria*<sup>Error! Marcador no definido. 2</sup>.

Técnicas de inoculación.

La inoculación primaria puede ser realizada con un asa, un hisopo u otro implemento adecuado.

El inoculo es estriado en cada cuadrante con un movimiento de adelante hacia atrás, girando la placa en ángulos de 90 grados. El asa debe ser esterilizada entre cada estriado sucesivo de los cuadrantes.

Las colonias aisladas pueden ser entonces subcultivadas individualmente a otros medios, para obtener cultivos puros que puedan ser estudiados en medios diferenciales. En el siguiente esquema se explica la técnica de estría cruzada:

- 1.- Sujete la caja con su mano izquierda y divídala en cuatro partes.
- 2.- Una vez flameada el asa de inoculación hacer girar la caja de petri un cuadro de vuelta y estriar.
- 3.- Hacer un segundo grupo de estrías en el segundo cuadrante, como en el caso anterior.
- 4.- Repetir el procedimiento en el tercer y cuarto cuadrante.

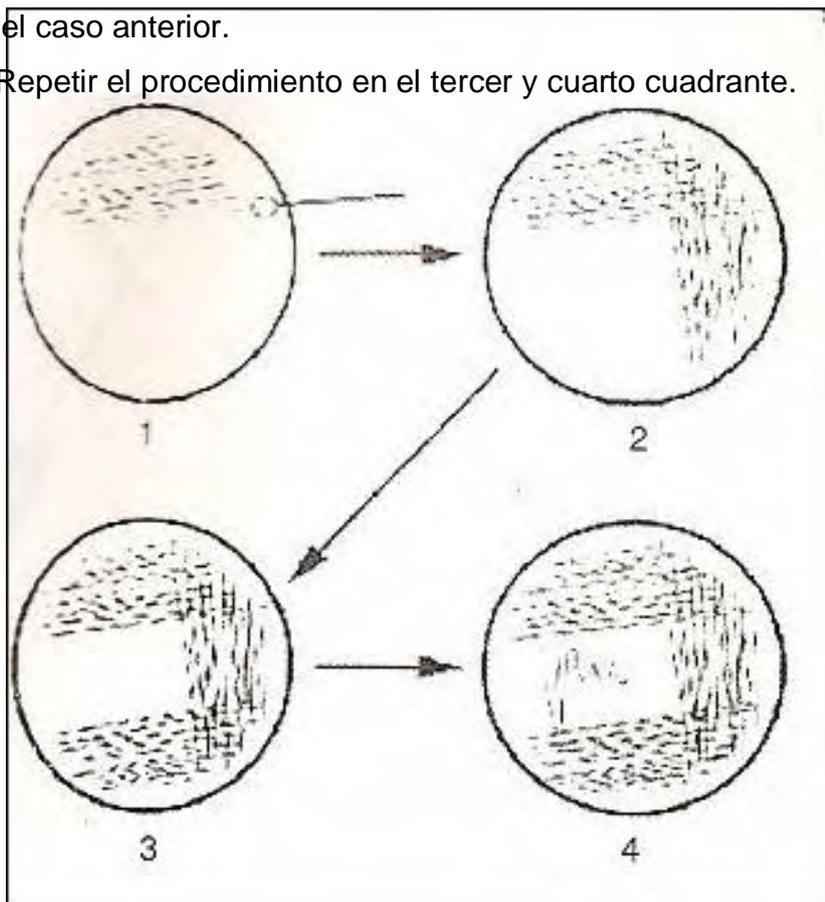


Figura 34. Patrones de estría para la inoculación de Muestras sobre placas de cultivo<sup>19</sup>.

El medio en los tubos puede ser líquido, semisólido (agar 0.3 a 0.5%), sólido (agar 1 – 2%).

El tubo debe inclinarse con un ángulo de aprox. 30 grados y el asa de inoculación debe tocar la superficie interna del vidrio, justo encima del punto donde la superficie del agar forma un ángulo agudo.

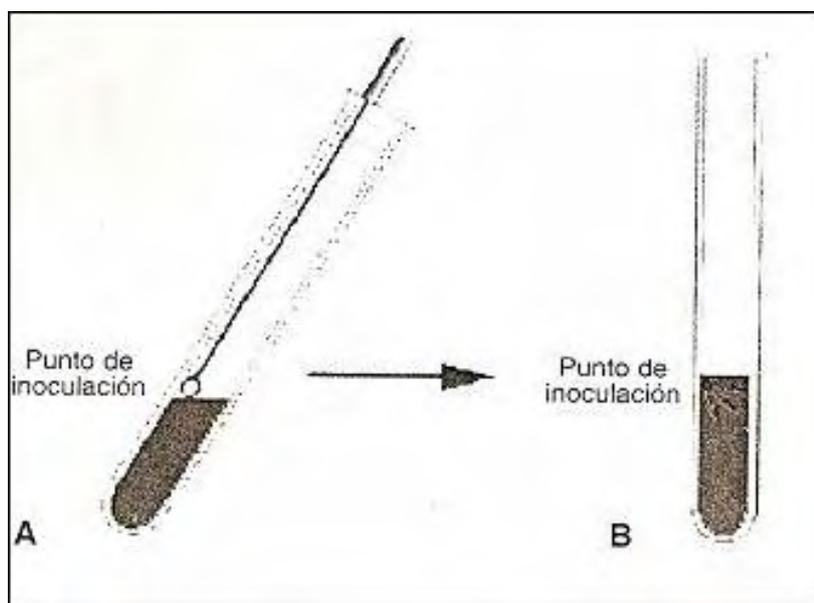


Figura 35. Técnica para la inoculación en un tubo de caldo<sup>19</sup>.

Los picos de flauta del medio agarizado se inoculan primero por una punción en la profundidad del agar, seguida por un estriado del pico de flauta desde el fondo hacia la parte superior con un movimiento en S a medida que se retira el asa<sup>19</sup>.

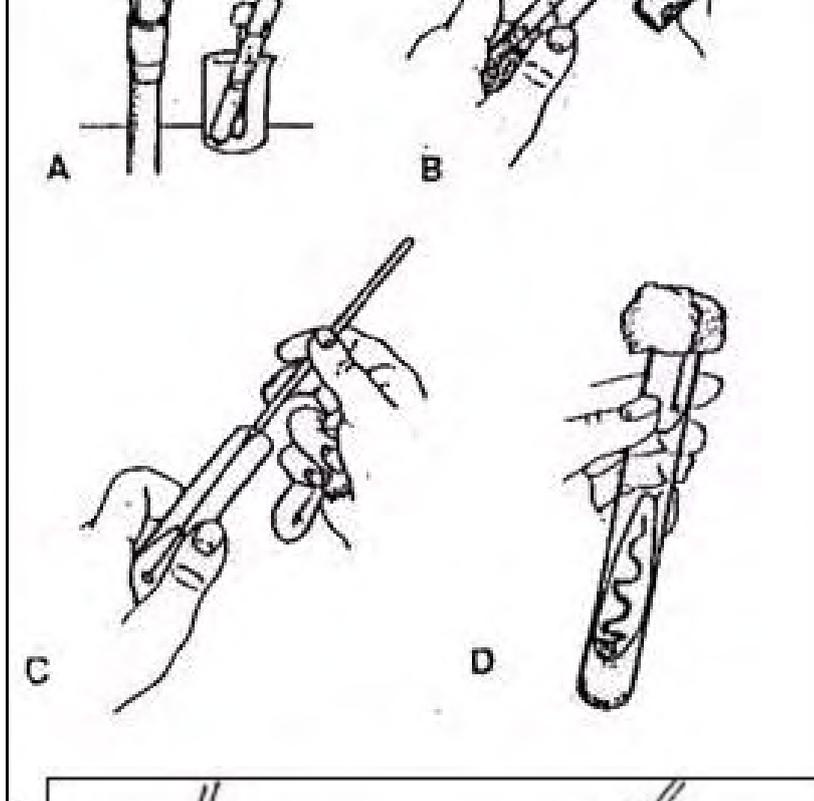


Figura 36. Técnica para inoculación en un tubo de pico de flauta <sup>57</sup>.

Los tubos sólidos se inoculan en forma recta. Por picadura

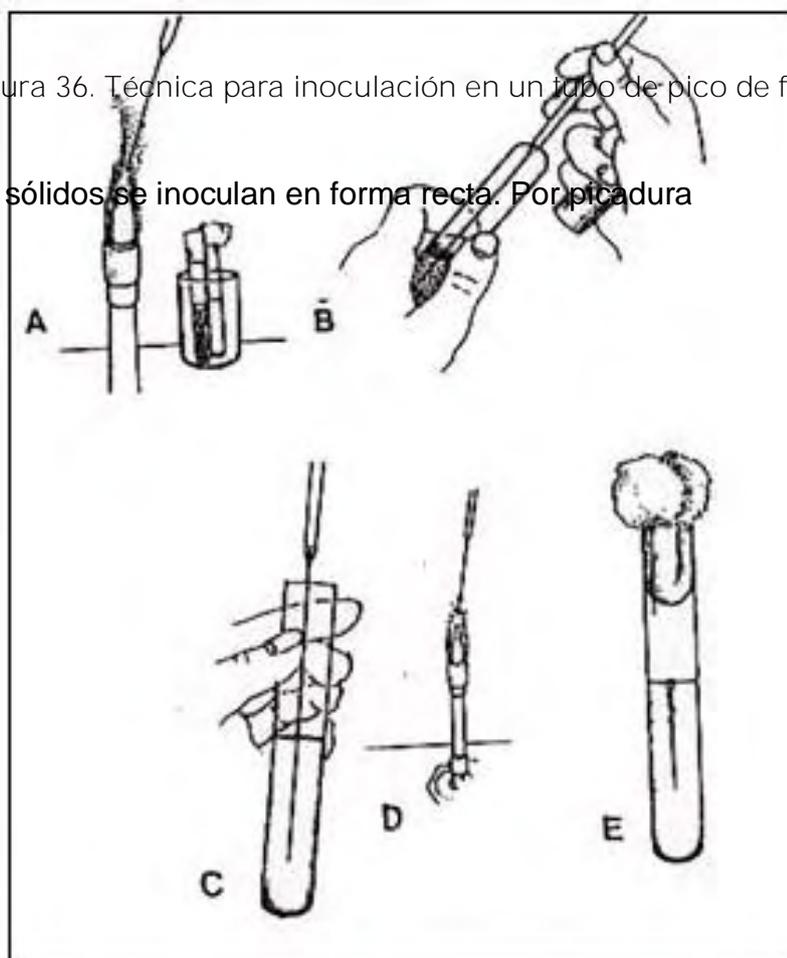


Figura 37. Técnica de inoculación en un tubo sólido <sup>57</sup>.

## 12. BIBLIOGRAFIA

- <sup>1</sup> Koneman A D. Diagnostico microbiológico: texto y atlas a color. 5ª ed. Médica-Panamericana, 1999: 644-649.
- <sup>2</sup> Bailey Scott. Diagnostico microbiológico. 11ª ed. Buenos Aires:Médica-Panamericana, 2004.
- <sup>3</sup> Stuar T W. Microbiología. México: Interamericana. Mc Graw-Hill, 1998: 214-218.
- <sup>4</sup> Romero Cabello R. Microbiología y parasitología humana; Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª ed. México: Médica-Panamericana, 2007.
- <sup>5</sup> Mendez Oteo F. Microbiología médica. Tomo 1. México: Comité editorial, 1981: 623-629.
- <sup>6</sup> Prats G. Microbiología clínica. Buenos Aires: Médica-Panamericana, 2005.
- <sup>7</sup> Kelton G J, Heddle M N. Transfusión sanguínea bases teóricas y aplicaciones. Ediciones Doyma.
- <sup>8</sup> Freeman A B. Microbiología de burrows. 22ª ed. México:Interamericana Mc Graw-Hill. 671-675.
- <sup>9</sup> Bernard D. D. Tratado de microbiología. 4ª ed. España: Masson S.A., 1996: 689 y 690.
- <sup>10</sup> Murray R P, Rosenthal S K, Pfaller M A. Microbiología médica. 5ª ed. España: ELSERVIER, 2006: 273-276.
- <sup>11</sup> Sánchez Trinidad J, Tay Zavala j. Fundamentos de microbiología y parasitología médicas. México: Méndez editores, 2003: 350 y 351.
- <sup>12</sup> Lennette H. E. Manual de microbiología clínica. 4ª ed. Buenos Aires: Médica- Panamericana, 1987: 263-267.
- <sup>13</sup> Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología médica.14ª ed. México: El manual moderno, 1992: 205 y 206.
- <sup>14</sup> Garcia Rodríguez J A, Picazo J J. Compendio de microbiología médica. Madrid: Harcourt, 1999: 199-201.
- <sup>15</sup> Bauer D J. Análisis clínicos métodos e interpretación. España: Reverte S.A, 1986: 96 y 97.
- <sup>16</sup> Mendell D, Bennett. Enfermedades infecciosas; principios y prácticas. 5ª ed. Buenos Aires: Médica-Panamericana,2002:

vol. 2: 2678-2683.

<sup>17</sup> National Public Health Service for Wales. Food Poisoning. [En línea]: 05/05/2007. <[www.wales.nhs.uk/sites3/gallery/719/Listeria.jpg&imgrefurl](http://www.wales.nhs.uk/sites3/gallery/719/Listeria.jpg&imgrefurl)> [Consulta:24/03/2008]

<sup>18</sup> Fainboim L, Geffher J. Introducción a la inmunología humana. 5ª ed. Buenos Aires: Médica- Panamericana, 2005: 414.

<sup>19</sup> .ScienceDirect. Listeriolysin O allows *Listeria monocytogenes* replication in macrophage vacuoles.[En línea]Cheryl L. Birmingham. Verónica Canadien. London:Jan/17/2008, Proquest [Consulta: 3/03/2008]

<sup>20</sup> Fischetti A V, Novick P R, Ferretti J J. Gram positive pathogens. ASM PRESS Washington, 2000: 473 – 477.

<sup>21</sup> Scot C. Kuo, Biomedical Engineering, Johns Hopkins University 13/01/2008.

<sup>22</sup> ADVAXIS. Why *Listeria*? En línea. Technology in immunotherapy. [www.advaxis.com/technology.htm](http://www.advaxis.com/technology.htm)& 24/ 03/2008.

<sup>23</sup> Volk G H, Hammarsjold, Kadner. Essential of medical microbiology. 5ª ed. Lippincott-Raven, 1996: 425 – 428.

<sup>24</sup> Miscellaneous pathogenic Bacteria. General Concepts. [En línea]. Herbet Hof <<http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch016.htm>> [Consulta:24/03/2008]

<sup>25</sup> JAVMA. Zoonosis updates: Listeriosis. [En línea] JAVMA. 15/12/1995. [www.avma.org/reference/zoonosis/znlister.asp](http://www.avma.org/reference/zoonosis/znlister.asp) [Consulta:10/03/08]

<sup>26</sup> Tay Zavala J. Microbiología y parasitología Médicas. 2ª ed. México: 1995:1.107.

<sup>27</sup> Christensen B J. Fundamentos de anatomía microscópica. 5ª ed, México: Harías, 1993: 359 y 360.

<sup>28</sup> Snell S R. Neuroanatomía clínica. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2007:2, 10 y 11.

<sup>29</sup> Asociación Alzheimer de Monterrey A.C. Sistema Nervioso Central.[En línea] Alzheimer para niños/el sistema nervioso central. Monterrey, N.L. México. <<http://www.alzheimermonterrey.com/sitiosespeciales/ninos/cerebro-03-snc.html>> [Consulta: 22/03/2008.]

<sup>30</sup> Boya Vegue. Atlas de histología y organografía microscópica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica- Panamericana, 2004: 407, 408.

- <sup>31</sup> WIKIPEDIA. La enciclopedia libre. Bazo. La enciclopedia libre. [En línea]: 19/Dic./2007 <<http://es.wikipedia.org/wiki/Bazo>>. [Consulta: 20 de enero de 2008].
- <sup>32</sup> Centro Médico Teknon. Bazo. [En línea]: Cirugía general adultos.<<http://www.teknon.es/consultorio/diez-caballero/bazo>> [Consulta:25/03/2008.]
- <sup>33</sup> Texas Heart institute. Anatomía del corazón. [En línea] <http://images.google.com.mx/images?gbv=2&hl=es&q=coraz%C3%B3n>. [Consulta: 25/03/2008.]
- <sup>34</sup> Web Pediátrica. [En línea] <http://www.aeped.es/infofamilia/imagenes/meninges.jpg> [Consulta: 25/03/2008]
- <sup>35</sup> Brooks George I. Microbiología de Jawetz, Melnick y Aldeber. El Manual Moderno, 2004: 236 y 237.
- <sup>36</sup> ScienceDirect. The epidemiology of human listeriosis . [En línea]. Forum on *Listeria*. August 2007. Elsevier Masson SAS E: / The epidemiology of human:Listeriosis. Htm. [Consulta:18/02/2008]
- <sup>37</sup> ScienceDirect. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains associated with outbreaks of listeriosis in humans and ruminants and food products by serotyping and automated ribotyping.[En línea] Veterinary Research Communications, 2005. ProQuest. [Consulta: 3/03/2008]
- <sup>38</sup> Supervisión de la edición en lengua española. ¿Que sitio se debe elegir para la extracción de sangre?. [cd-rom] (<http://www.leeds.ac.uk/medicine/ifcc/dict/spandict.html>) Consulta.[31/03/2008]
- <sup>39</sup> Pagana Deska K. Guía de pruebas diagnosticas y de laboratorio. España: Mosby, 1994: 924 y 925.
- <sup>40</sup> Diagnostico prenatal. Anomalías congénitas [En línea] Enciclopedia microsoft® encarta online2007. 11/11/2007. <http://www.vi.cl/foro/lofiversion/index.php/t7788.html> Consulta: [24/03/2008]
- <sup>41</sup> Revista de Neumonología. Examen de esputo. [En línea] <<http://encolombia.com/medicina/neumologia/neumo12100-esputo.htm>> Consulta: [24/03/2008]

- <sup>42</sup> University south Carolina. Bacteriology. [En línea]. Microbiology and immunology on- line. 11/19/2007.  
<http://pathmicro.med.sc.edu/ghaffar/zoonoses.htm> Consulta: [24/03/2008].
- <sup>43</sup> Mech. CHROMagar. Listeria. < <http://www.m-techdiagnostics.ltd.uk/listeria.shtml> > Consulta: [18/02/2008]
- <sup>44</sup> <http://www.bioquimica.cl/upload/noticias/2006-02-27-3671.bmp> Consulta: [18/02/2008]
- <sup>45</sup> Benson J H. Microbiological Application; Laboratory manual in general microbiology. 8ª ed. Mc Graw – Hill, 2002: 83 y 84
- <sup>46</sup> Mac Fadin F J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ªed. Buenos Aires: Panamericana, 2003:
- <sup>47</sup> St. Louis Community College. Biochemical. [En línea] Clinical Laboratory Technology. St LouisMOUSA. 1/2008.  
<http://users.stlcc.edu/kkiser/biochem.html> Consulta: [24/03/2008]
- <sup>48</sup> Atlas virtual de Medicina. Prueba de fermentación de azúcares. [En línea] Atlas virtual de bacteriología. 01/02/2005.  
[http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/bacilos%20gram%20negativos/bacilos\\_gram\\_negativos\\_fermentad.htm](http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/bacilos%20gram%20negativos/bacilos_gram_negativos_fermentad.htm) Consulta: [30/04/2008].
- <sup>49</sup> Atlas de microbiología. Pruebas de laboratorio.[En línea] 14/07/2005.  
<http://www.uvg.edu.gt/dti/profesores/ggini/bacteriologia/pruebas.htm> Consulta:[26/03/2008]
- <sup>50</sup> Sembrando satelital. La queratoconjuntivitis infecciosa bovina.  
<http://www.sembrando.com.ar/index.php?menu=noticias&noticia=nota&sub=3281>. Consulta[ 28/03/2008]
- <sup>51</sup> VICAM. ListerTest. [En línea]  
[http://www.vicam.com/images/illust\\_listertesEt.gif](http://www.vicam.com/images/illust_listertesEt.gif).  
Consulta:[ 10/03/2008]
- <sup>52</sup> Martín V A. Farmacología. 16ª Ed. España: Interamericana Mc Graw- Hill, 1993.
- <sup>53</sup> Katzung G B. Farmacología básica y clínica. 8ª Ed. México:El Manual Moderno, 2002:859,860,862.
- <sup>54</sup> FAO. Uso de antimicrobianos en animales de consume. [En línea] Departamento de Agricultura. <http://www.fao.org/docrep/007/y5468s/y5468s05>. [Consulta: 13/01/2008]

<sup>55</sup> Tierney M L, McPhec S J, Papadakis A M. Diagnóstico clínico y tratamiento. 40ª ed. México: El Manual Moderno, 2005:1342 y 1343.

<sup>56</sup> Negroni M. Microbiología y estomatológica, fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Médica –Panamericana, 2004: 484.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos aires. Guía de trabajos prácticos. [En línea] Departamento de Química Biológica. Consulta:[27/02/2008]