



ORIGINAL

Estudio epidemiológico y serotipificación por PCR múltiple de *Listeria monocytogenes* aislada de matrices alimentarias en Argentina



Yamila Figueroa^{a,*}, Jimena Gentiluomo^a, Agustina Grisaro^a, Mariana Buffoni^a,
Nadia Zipenco^a, Adriana Sucari^a, Paula Buonfiglio^{b,1} y Magdalena Costa^{c,1}

^a División Higiene y Seguridad Alimentaria y Ambiental, Stamboulion Servicios de Salud, Buenos Aires, Argentina

^b Laboratorio de Fisiología y Genética de la Audición, Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular Dr. Hector N. Torres (INGEBI-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

^c IGEVET – Instituto de Genética Veterinaria Ing. Fernando N. Dulout (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 5 de octubre de 2022; aceptado el 21 de mayo de 2023

Disponibile en Internet el 19 de julio de 2023

PALABRAS CLAVE

L. monocytogenes;
Serogrupos;
PCR múltiple;
Alimentos

Resumen *Listeria monocytogenes* es un patógeno oportunista de transmisión alimentaria. Puede resistir condiciones de estrés adaptándose mediante la producción de biofilms, lo que representa un grave problema para la industria alimentaria. Se clasifica en 14 serotipos, aunque solo cuatro (1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b) son la causa del 89 al 98% de los casos de listeriosis en todo el mundo. El objetivo del presente estudio fue detectar y serotipificar aislamientos de *L. monocytogenes* obtenidos de distintas matrices de alimentos provenientes de plantas de procesamiento de Argentina. Se analizaron 1.832 muestras (cárnicos, alimentos listos para consumo, helados, alimentos lácteos y vegetales congelados) en el período 2016-2021, en las que se detectaron 226 aislamientos compatibles con *L. monocytogenes* (tasa de detección: 12,34%). A su vez, se realizaron muestreos ambientales y de superficies en las plantas procesadoras de alimentos listos para consumo, embutidos y lácteos, y se detectó contaminación ambiental con *L. monocytogenes* en numerosos puntos críticos del procesamiento, con un 22,7% de positividad. El análisis molecular de serogrupos detectó como mayoritario al serogrupo IIb, con un 66,5% (n = 107), seguidos de los serogrupos IIc (n = 36; 22,3%), IIa (n = 9; 5,6%) y IVb (n = 9; 5,6%). A su vez, el serogrupo mayoritariamente aislado en los monitoreos ambientales fue el IIb. Este trabajo, el primero en Argentina en abarcar una gran cantidad de matrices alimentarias, resalta la importancia de la detección y la serotipificación de *L. monocytogenes* para la toma de medidas accionables y la identificación de brotes.

© 2023 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: yfigueroa89@gmail.com (Y. Figueroa).

¹ Estas autoras contribuyeron igualmente a este trabajo.

KEYWORDS

L. monocytogenes;
Serogroups;
Multiplex PCR;
Food

Epidemiological study and serotyping by multiple PCR of *Listeria monocytogenes* isolated from food matrices in Argentina

Abstract *Listeria monocytogenes* is an opportunistic foodborne pathogen. It can resist stress conditions by adapting through the production of biofilms, which represents a serious problem for the food industry. It is classified into 14 serotypes, although only four (1/2a, 1/2b, 1/2c, and 4b) account for 89.0-98.0% of listeriosis cases worldwide. The objective of this study was to detect and serotype *L. monocytogenes* isolated from different food matrices from processing plants in Argentina. In the period 2016-2021, 1832 samples (meat, ready-to-eat foods, ice cream, dairy foods, and frozen vegetables) were analyzed, of which 226 (12.34%) isolates compatible with *L. monocytogenes* were detected. At the same time, environmental and surface samplings were performed in processing plants for ready-to-eat foods, sausages and dairy products, where environmental contamination with *L. monocytogenes* was detected in numerous critical points of the process, yielding a positivity rate of 22.7%. The molecular analysis of serogroups was performed, where it was observed that serogroup IIb was the most frequent with 66.5% (n = 107), and in descending order IIc with 22.3% (n = 36), and IIa (n = 9) and IVb (n = 9) with 5.6%. The serogroup mostly isolated in environmental monitoring was IIb. This work highlights the importance of the detection and serotyping of *L. monocytogenes* for taking actionable measures and identifying outbreaks, and is the first study in Argentina to describe an extensive study in food matrices.

© 2023 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Listeria monocytogenes es un patógeno oportunista que se transmite a través de alimentos y es resistente a condiciones de estrés como congelación, secado, acidez y frío, a las cuales se adapta mediante la producción de biofilms¹³. Esta característica representa un grave problema para la industria alimentaria por la dificultad en el control de las plantas de procesado³². Debido a esto es que las industrias ejecutan planes de monitoreo ambiental, mediante los cuales pretenden garantizar la seguridad de los alimentos elaborados³¹.

La listeriosis está asociada a una pequeña subpoblación de esta especie bacteriana y se da, principalmente, en algunos individuos predispuestos. La forma clínica más habitual es la listeriosis gastrointestinal no invasiva y se encuentra vinculada con los brotes de toxoinfección alimentaria⁵⁰. Los pacientes pueden ser portadores asintomáticos o presentar síntomas que suelen autolimitarse¹. La listeriosis invasiva se produce cuando una infección inicial del tejido intestinal deriva en la invasión de otras partes del organismo. Los órganos que se infectan más habitualmente son el útero grávido, el sistema nervioso central y la sangre²⁶.

Los alimentos más frecuentemente involucrados en los brotes de esta enfermedad son los alimentos listos para consumo (*ready-to-eat* [RTE])², productos cárnicos¹⁰, lácteos elaborados con leche sin pasteurizar²⁰, vegetales crudos y congelados¹⁹ y pescados crudos y ahumados⁴⁴. La contaminación de alimentos con *L. monocytogenes* es frecuente, por lo que la exposición de la población suele ser habitual.

En la actualidad, se conoce que existen catorce serovariaciones de *L. monocytogenes*: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 4h y 7¹⁸. Sin embargo, cuatro de ellas (1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b) se han aislado en aproximadamente

el 98% de los casos humanos y animales¹⁸. De esto se desprende que no todas las cepas de *L. monocytogenes* tienen igual capacidad de causar enfermedad en humanos. Algunas caracterizaciones fenotípicas y genotípicas sugieren que el serotipo 4b ha sido responsable de los brotes más importantes de listeriosis transmitida por alimentos, mientras que, en ambientes de industrias y en alimentos, se han aislado con mayor frecuencia los serotipos 1/2a y 1/2b³⁵.

Por las condiciones socioeconómicas y sanitarias de la región, se estima que, en América Latina, la frecuencia y la letalidad asociadas a la enfermedad son elevadas en comparación con las de países centrales. En Argentina, la listeriosis es de reciente notificación obligatoria y se cuenta con pocos datos sobre su prevalencia; asimismo, se desconoce si existe una subnotificación de la enfermedad y el real impacto en la salud pública^{28,33}. Debido a las características únicas de la listeriosis, la vigilancia epidemiológica tradicional conlleva dificultades para su detección temprana³.

Se necesita conocer el real impacto de este patógeno y de la enfermedad que ocasiona en términos de salud pública, teniendo en cuenta que los alimentos son la principal fuente de transmisión a los seres humanos. El objetivo de esta investigación fue detectar y serotipificar *L. monocytogenes* en matrices de alimentos y sus entornos de producción de distintas zonas productivas de Argentina.

Materiales y métodos

Durante el período 2016-2021, se realizó la búsqueda de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* en 1.832 muestras alimentarias mediante la norma ISO 11290 vigente²². Con el fin de controlar la calidad para consumo nacional y de exportación, se analizaron la totalidad de las muestras

Tabla 1 Número de muestras totales y positivas y de aislamientos analizados por PCR múltiple para serogrupos, según matriz

| Categorías | Características | n total | n positivas | PCR serogrupos |
|----------------------|--|---------|-------------|----------------|
| Cárnicos | Rebozados de pollo; carne bovina cruda; chacinados; embutidos; carne cocida y de pescado | 873 | 154 | 97 |
| RTE | Sándwiches; derivados de embutidos y chacinados con queso; empanadas de queso; hamburguesas y empanadas de pollo | 300 | 48 | 43 |
| Aderezos | Mayonesa; mayonesa vegana; salsa César, barbacoa, <i>honey mustard</i> y vinagreta | 176 | 0 | 0 |
| Alimentos farináceos | Cereales y galletitas de chocolate rellenas | 10 | 0 | 0 |
| Lácteos | Queso y mozzarella feteada | 35 | 5 | 4 |
| Alimentos azucarados | Chocolate repostero para cobertura | 5 | 0 | 0 |
| Helados | Helados de crema | 375 | 16 | 15 |
| Vegetales congelados | Brócoli | 58 | 3 | 2 |
| Total | — | 1.832 | 226 | 161 |

ingresadas a un laboratorio de la Ciudad de Buenos Aires. Las matrices analizadas comprendieron las siguientes categorías: alimentos cárnicos, alimentos RTE, aderezos, alimentos farináceos-cereales, lácteos, alimentos azucarados, helados y vegetales congelados (tabla 1). La toma de muestra fue realizada por los responsables de calidad de los distintos establecimientos que procesan y manufacturan alimentos (frigoríficos, compañías procesadoras de carne, supermercados, comedores y otros expendedores de alimentos). El equipo de trabajo del laboratorio mandó las indicaciones para la correcta toma y el envío de las muestras, que incluyeron el envío en bolsa estéril de las muestras refrigeradas (4 a 8 °C) y una cantidad mínima de 100 g. Los aislamientos de *L. monocytogenes* obtenidos se conservaron en congelador a –70 °C para la posterior realización de PCR de serogrupos.

De cada bolsa estéril se tomó una alícuota de muestra de 25 g ($\pm 2,5$ g), a la que se le adicionó caldo Half Fraser (HFB; Biokar, Zac de Ther, Francia) en una dilución 1:10. Las muestras se incubaron durante 25 h (± 1 h) a 30 °C (± 1 °C). Luego, 0,1 ml ($\pm 0,02$ ml) del caldo HFB se transfirió a 10 ml ($\pm 0,5$ ml) de caldo Fraser (FB; Biokar, Zac de Ther, Francia) y se incubó a 37 °C (± 1 °C) por 24 h (± 2 h). Posteriormente se tomó una ansada de ambos enriquecimientos y se estrió sobre una placa de agar cromogénico, según Ottaviani y Agosti (ALOA), y de agar PALCAM. El agar ALOA se incubó a 37 °C (± 1 °C) y el agar PALCAM a 35 °C (± 1 °C), ambos por 48 h (± 2 h). Las colonias presuntivas de *L. monocytogenes* en ALOA mostraron un color verde azulado y estaban rodeadas de un halo opaco. En el agar PALCAM, las colonias características del género *Listeria* spp. mostraron color gris y se encontraban rodeadas de halos de color marrón oscuro. Para confirmar la especie, se evaluó la producción de hemólisis, la fermentación de los hidratos de carbono L-rhamnosa y D-xylosa y se realizó la prueba de CAMP.

La tipificación molecular para la identificación de serovares de *L. monocytogenes* se realizó en los aislamientos provenientes de 16 establecimientos argentinos en donde se procesa una amplia variedad de matrices (tabla 2).

Los responsables de las plantas procesadoras de alimentos RTE, de embutidos y de lácteos realizaron, en paralelo y periódicamente, monitoreos ambientales y de superficies

de sus establecimientos para confirmar o descartar la presencia de *L. monocytogenes* en el ambiente (n=282). Para este fin, utilizando esponjas e hisopos (Whirl-pak® sampling bag 120 ml e hisopos de recogida de muestras 3M 10 ml), se tomaron muestras en los puntos más críticos: utensilios empleados en las etapas de procesamiento, máquinas feteadoras de fiambres, bachas y cortinas de cocina, puertas de ingreso/egreso, rejillas y canaletas, empaquetadoras, troneras peladoras, cámaras y superficies de contacto con el alimento, entre otros. Dichas muestras se remitieron al laboratorio en bolsa estéril y refrigerada (4 a 8 °C).

La preparación del templado, los cebadores utilizados, el procedimiento de PCR múltiple, el posterior ciclado y la visualización en gel de agarosa se realizó de acuerdo a lo descrito por Doumith et al.¹⁶, con mínimas modificaciones. A partir de una cepa de *L. monocytogenes*, se realizó una suspensión en tubo de microcentrífuga estéril con 50 µl de buffer de lisis. La mezcla se calentó durante 15 minutos a 100 °C. Luego de que se enfriara, se agregaron 100 µl de agua calidad PCR. Se utilizaron los siguientes reactivos y concentraciones finales para la ejecución de la PCR: buffer Green 1X (1,5 mM mg); dNTPS (0,3 mM); cebadores *lmo0737-F* y *R* (0,03 µM), *lmo1118-F* y *R* (0,7 µM), ORF2819-F y *R* (0,1 µM), ORF2110-F y *R* (0,1 µM), *Prs-F* y *R* (0,02 µM) y GoTaq® (5 U/µl) (tabla 3). El volumen final de la reacción fue de 50 µl y el termociclador empleado fue de marca GENE-UP® (bioMérieux, Francia). La corrida electroforética se visualizó en gel de agarosa al 2,5% revelado con bromuro de etidio (0,5 µg/ml). Aquellas condiciones modificadas fueron verificadas en el laboratorio utilizando cepas caracterizadas en investigaciones nacionales ya publicadas^{28,29,40}. Mediante esta técnica, se identificaron cuatro serogrupos moleculares: serogrupo IIa (incluye serotipos 1/2a, 3a), serogrupo IIb (incluye serotipos 1/2b, 3b y 7), serogrupo IIc (incluye serotipos 1/2c y 3c) y serogrupo IVb (incluye serotipos 4b, 4d y 4e).

Resultados y discusión

La listeriosis es un problema relevante en todo el mundo por su alta tasa de morbimortalidad, razón por la cual la

Tabla 2 Número de muestras totales y positivas y distribución y tipo de producción por establecimiento

| Establecimiento | n total | n positivas | Origen | Productos |
|-----------------|---------|-------------|--------------|--|
| 1 | 203 | 44 | Buenos Aires | Alimentos listos para consumo |
| 2 | 305 | 24 | Buenos Aires | Cárnico (carne vacuna cruda) |
| 3 | 2 | 1 | Buenos Aires | Cárnico (chacinados) |
| 4 | 12 | 2 | Buenos Aires | Cárnico (carne vacuna cruda) |
| 5 | 25 | 9 | Santa Fe | Cárnico (carne vacuna cruda, embutidos) |
| 6 | 18 | 2 | C.A.B.A. | Cárnicos (embutidos) |
| 7 | 38 | 15 | Río Negro | Cárnicos (carne vacuna cruda, chacinados, embutidos) |
| 8 | 43 | 18 | Buenos Aires | Cárnicos (rebozado de pollo) |
| 9 | 63 | 24 | Buenos Aires | Cárnicos (embutidos) |
| 10 | 248 | 9 | Buenos Aires | Helados |
| 11 | 2 | 2 | Buenos Aires | Vegetales congelados |
| 12 | 15 | 2 | Buenos Aires | Lácteos |
| 13 | 97 | 5 | C.A.B.A. | Helados |
| 14 | 2 | 2 | Santa Fe | Lácteos |
| 15 | 22 | 1 | Santa Fe | Helados |
| 16 | 81 | 2 | C.A.B.A. | Alimentos listos para consumo |
| TOTAL | 1.176 | 161 | — | — |

Tabla 3 Detalle de los procedimientos de PCR

| Blanco | Cebadores | Tamaño amplificado (pb) |
|----------------|--|-------------------------|
| <i>lmo0737</i> | F: 5'-AGGGCTTCAAGGACTTACCC-3' R: 5'-ACGATTCTGCTTGCCATTC-3' | 691 |
| <i>lmo1118</i> | F: 5'-AGGGGTCTTAAATCCTGGAA-3' R: 5'-CGGCTTGTTCGGCATACTTA-3' | 906 |
| ORF2819 | F: 5'-AGCAAAATGCCAAAACCTCGT-3' R: 5'-CATCACTAAAGCCTCCCATTG-3' | 471 |
| ORF2110 | F: 5' AGTGGACAATTGATTGGTGAA-3' R: 5'-CATCCATCCCTTACTTTGGAC-3' | 597 |
| <i>prs</i> | F: 5' GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG-3' R: 5'-CAAAGAAACCTTGATTGCGG-3' | 370 |

vigilancia de *L. monocytogenes* en alimentos es de suma importancia para la evaluación de los riesgos y el impacto de este patógeno en la salud pública⁹. Si bien se estima que en Argentina la prevalencia de *L. monocytogenes* en muestras de alimentos varía entre el 1 y el 10%³, se cree que este dato podría estar subestimado o subreportado debido a la dificultad en las búsquedas microbiológicas, la falta de sospecha de la presencia de agente por parte de las industrias productoras de alimentos y la ineficacia de los sistemas de reporte^{6,41}. Esta situación se ve reflejada en la actual investigación, donde se observó que, de un total de 1.832 muestras, se obtuvieron 226 aislamientos compatibles con *L. monocytogenes*, que representa una positividad del 12,33% en matrices alimentarias.

La epidemiología de *L. monocytogenes* difiere según las partes del mundo, las distintas zonas urbanas de un mismo país y los hábitos de consumo de la población. A su vez las herramientas microbiológicas disponibles y los esfuerzos de los sistemas de vigilancia en detectar al patógeno son claves para conocer mejor la epidemiología de la enfermedad. El porcentaje de positividad en esta investigación, si bien fue más alto que el estimado para nuestra región, es menor

del 20%, valor propuesto por investigaciones realizadas en China sobre alimentos crudos de mercados minoristas⁴⁷. Un valor comparable se ha documentado en Chile, donde *L. monocytogenes* estuvo presente en el 10% de las 2.647 muestras de alimento analizadas (principalmente, de carnes y RTE)⁴². Según lo expuesto, podría comprobarse la hipótesis de que existe una probable subestimación de datos con respecto a las prevalencias publicadas, tanto en otras partes del mundo como por los organismos de reporte argentinos.

Teniendo en cuenta la cantidad de aislamientos compatibles con *L. monocytogenes* en cada una de las matrices, la positividad presentó el siguiente orden decreciente: cárnicos (n=154; 68,1%), RTE (n=48; 21,2%), helados (n=16; 7,1%), lácteos (n=5; 2,2%) y vegetales congelados (n=3; 1,3%). Todas estas matrices se encuentran enmarcadas en la legislación argentina vigente, que exige la ausencia de este patógeno en 25 g de muestra, excepto la categoría helados, la que, hasta el momento, carece de dicha exigencia¹².

Se serotipificaron 161 aislamientos compatibles con *L. monocytogenes* provenientes de 16 establecimientos de distintas zonas productivas del país. Se detectó que el serogrupo mayoritario fue el IIb (n=107; 66,5%), con frecuencias

más bajas le siguieron el IIc (n = 36; 22,4%), y, por último, el IIa y el IVb (n = 9; 5,6% cada uno). Si bien la PCR múltiple propuesta no distingue entre los serovares 3a, 3b, 3c, 4a, 4c, 4e, 4d, 4h y 7, estos son muy poco frecuentes en los alimentos y rara vez se han detectado en listeriosis humana¹⁶.

En comercios minoristas e industrias de alimentos del Uruguay, Braga et al.⁷ encontraron como mayoritario al serotipo 1/2b y señalaron que esto podría deberse a que dicho serotipo permanece viable durante períodos prolongados. Por otro lado, en Chile, un informe de Paduro et al.³⁸ muestra a los serotipos 4b (40%) y 1/2a (31,2%) como los más frecuentemente detectados en muestras de alimentos y entre aislamientos clínicos. Por otra parte, tanto Wu et al.⁴⁷ en productos crudos como Yu et al.⁴⁸ en productos de comercios minoristas en China describieron que el serotipo mayoritario fue el 1/2a, con el 45,2%, seguido del 1/2b, con el 30,6%, del 1/2c, con el 16,1%, y, por último, del 4b, con el 5,2%.

Teniendo en cuenta lo detectado en distintas partes del mundo y lo observado en la presente investigación, el serogrupo mayoritariamente aislado es variable según la región geográfica²⁷, la matriz⁴ y el establecimiento²⁸, y esto se encuentra estrechamente relacionado con la capacidad de *L. monocytogenes* para adherirse a superficies y elementos de trabajo y persistir en estos, y para resistir a los sanitizantes³⁴. En relación con esto, en esta investigación se detectaron 64 aislamientos compatibles con *L. monocytogenes* (22,7%) provenientes de 282 muestras correspondientes a monitoreos ambientales en plantas elaboradoras de alimentos listos para consumo, embutidos y lácteos. Además, la serotipificación de todos los aislamientos de *L. monocytogenes* obtenidos (matrices alimentarias y monitoreos ambientales) indicó como preponderante al serogrupo IIb. Esto refuerza la idea de que existiría una contaminación de los alimentos en los establecimientos y a lo largo de la cadena productiva, lo cual se relacionaría directamente con las superficies y los instrumentos de trabajo contaminados y con la escasez de buenas prácticas de manufactura.

Los productos cárnicos se consideran una de las principales fuentes de transmisión de *L. monocytogenes*, y se debe destacar que la alta prevalencia en carne y derivados sugiere que la contaminación, probablemente, ocurra durante el procesamiento. Se detectó que el porcentaje de positividad fue del 68,1%. La subcategoría de carne bovina cruda representó un 14% de la positividad de los productos cárnicos, a diferencia de lo estimado por Liu et al.²⁷ en China, quienes documentaron una prevalencia del 8,5%. Se observó, además, que el 85,3% de los aislamientos correspondió al serogrupo IIb (n = 29), luego al IIc (n = 4; 11,8%) y al IIa (n = 1; 2,9%).

En otra investigación efectuada en la región en carne picada cruda, se observó la siguiente distribución de serotipos: 1/2c, 57,6%; 1/2b, 18,7%; 4b, 12,9%; 1/2a, 6,5%, y 4a/4c, 4,3%²⁸. Las razones de esta diferencia podrían radicar en la matriz de estudio y en los proveedores involucrados en el abastecimiento de la carne cruda. Esto último toma relevancia si tenemos en cuenta que la gran mayoría de las contaminaciones en los alimentos estudiados se relacionaron íntimamente con las condiciones sanitarias de los establecimientos.

Otro de los principales vehículos de *Listeria* son las aves de corral, que pueden propagar este microorganismo al medioambiente. *L. monocytogenes* se ha informado en diferentes productos avícolas, crudos y cocidos²⁴. En esta investigación se observó un 40,4% de positividad en rebozados de pollo, resultado comparable con el de Schäfer et al.⁴³, quienes informaron una tasa de contaminación en muestras de muslo de pollo del 44,19%. Además, se detectó como serogrupo mayoritario en este tipo de muestras el IIc (n = 12; 66,7%), seguido del IIb (n = 3; 16,7%), del IIa (n = 2; 11,1%) y del IVb (n = 1; 5,6%). Estos resultados difieren de los que informan otros investigadores: en algunos casos, el serotipo 1/2b fue el más frecuentemente hallado⁴⁹, y en otros fue el 4b el serotipo predominante en productos avícolas¹⁷. Por otro lado, se detectó diversidad de serogrupos provenientes de un mismo establecimiento productor de rebozados de pollo (establecimiento 8), lo que podría implicar que el proveedor de materias primas no sería uno solo (fig. 1).

La subcategoría de chacinados arrojó un porcentaje de positividad del 18,5% y el serogrupo mayoritariamente hallado fue el IIc (n = 8; 61,5%), seguido del IIb (n = 3; 23,1%) y del IIa (n = 2; 15,4%). Para algunos investigadores, el procesamiento y la producción de chacinados en sí ha demostrado ser una causa importante de contaminación³⁹.

En la subcategoría de embutidos, detectamos una tasa de positividad de *L. monocytogenes* del 27%, porcentaje comparable con los datos surgidos de investigaciones previas como las de De Cesare et al.¹⁵ y Mureddu et al.³⁷, con prevalencias del 28,2% y del 31,5%, respectivamente. En esta matriz detectamos principalmente al serogrupo IIb (n = 27; 84,4%), al IIc (n = 2; 6,25%), al IVb (n = 2; 6,25%) y al IIa (n = 1; 3,1%). Este resultado difiere del reportado por Mureddu et al.³⁷, ya que en ese estudio fue el serotipo 1/2c el más prevalente (43%), seguido de los serotipos 1/2a (40%), 4b (8,6%) y 1/2b (8,6%). A pesar de nuestro hallazgo, en un análisis sobre consumo de embutidos fermentados y riesgo de listeriosis en Argentina se concluyó que la protección que otorga el actual criterio microbiológico argentino para los embutidos fermentados y la paleta de cerdo curada en seco garantiza la inocuidad de estos productos⁸.

El consumo de productos RTE se encuentra en crecimiento debido al estilo de vida de los ciudadanos²³. En la presente investigación se detectó un 21,2% de *L. monocytogenes* en esta matriz, porcentaje mayor que el observado por Szymczak et al.⁴⁵, que fue del 13,5%. Además, el serogrupo mayoritario fue el IIb (n = 32; 74,4%), seguido por el IIc (n = 10; 23,3%) y por el IVb (n = 1; 2,3%). El serogrupo IIb se encuentra asociado a la mayoría de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos y es un grave problema de salud pública^{23,46}.

Es importante destacar que la categoría helados presentó un porcentaje de positividad del 7,01% y el serogrupo IIb fue el mayoritario (n = 11; 73,3%), seguido del IVb (n = 4; 26,6%). Teniendo en cuenta que la legislación argentina no exige la búsqueda de *L. monocytogenes* en helados, y destacando la particularidad de este patógeno de resistir a bajas temperaturas⁹ y de persistir mediante la formación de biopelículas en este tipo de matrices y sus entornos de producción²¹, se considera que es de vital importancia poner foco en esta categoría. Existen precedentes de

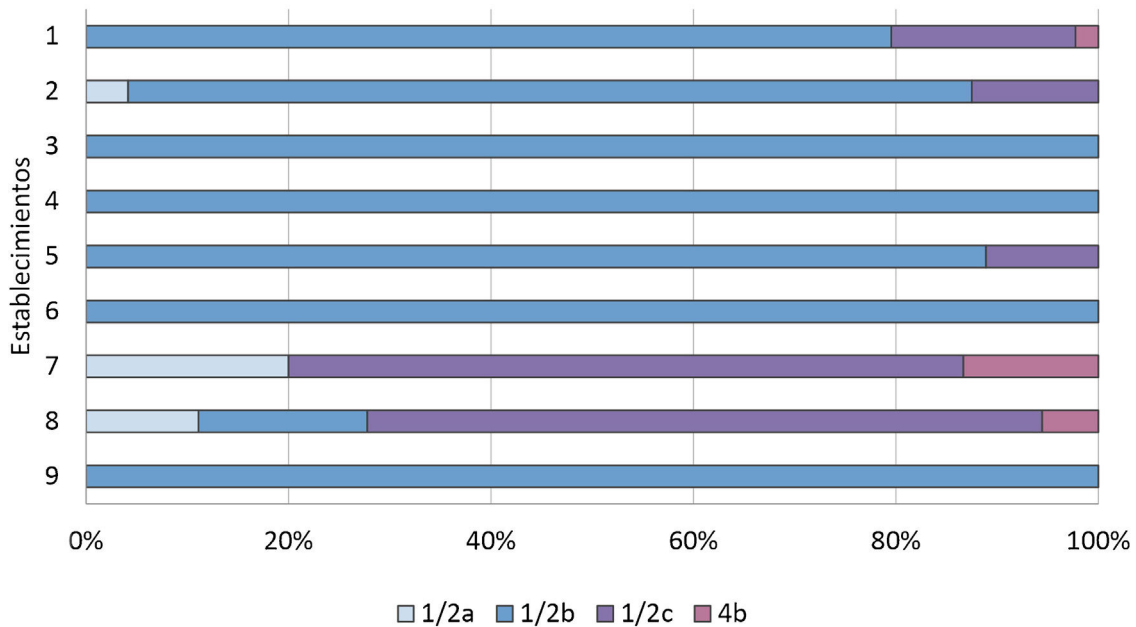


Figura 1 Proporción de serogrupos identificados en matrices cárnicas según establecimientos (expresado en porcentaje). Establecimiento 1 (n = 35 IIb, n = 8 IIc, n = 1 IVb); Establecimiento 2 (n = 1 IIa, n = 20 IIb, n = 3 IIc); Establecimiento 3 (n = 1 IIb); Establecimiento 4 (n = 2 IIb); Establecimiento 5 (n = 8 IIb, n = 1 IIc); Establecimiento 6 (n = 2); Establecimiento 7 (n = 3 IIa, n = 10 IIc, n = 2 IVb); Establecimiento 8 (n = 2 IIa, n = 3 IIb, n = 12 IIc, n = 1 IVb); Establecimiento 9 (n = 24 IIb).

brotos asociados al consumo de helados contaminados con *L. monocytogenes* en muchas partes del mundo^{5,11,36}. Debido a la forma de consumo, haber detectado al serogrupo IIb en helados (27%) y productos lácteos (25%) expone un grave problema para la salud de la comunidad.

Otras industrias que pueden verse afectadas por *L. monocytogenes* son aquellas productoras de vegetales congelados, debido a que estos alimentos no están sometidos a tratamientos térmicos diseñados para la eliminación del patógeno del producto final¹⁹. En la presente investigación se obtuvo un porcentaje de positividad de *L. monocytogenes* en vegetales congelados del 1,3%; los serogrupos detectados fueron el IIa (n = 1) y el IIb (n = 1), en iguales proporciones (tabla suplementaria 1).

Considerando que el serogrupo IIb de *L. monocytogenes* fue el mayoritariamente aislado en nuestra investigación, independientemente de la matriz y el establecimiento involucrado, cobra fuerza la idea de que este serogrupo podría presentar cierta ventaja evolutiva que favorecería su instalación en los ambientes de producción²⁵. Asimismo, se hipotetiza que ciertas serovariedades de *L. monocytogenes* podrían causar contaminación persistente y aumentar el riesgo de contaminación del producto final¹⁴. En esta investigación pudimos detectar que en los establecimientos en donde se procesa una mayor cantidad de matrices (establecimientos 5 y 7) hubo mayor variabilidad de serogrupos, lo que podría indicar que el abastecimiento de materias primas fue de diferentes orígenes, lo que, sumado a las características únicas de este patógeno en cuanto a persistencia en los ambientes e insumos, da como resultado un amplio abanico de serogrupos (fig. 1). Además, los resultados de los monitoreos ambientales que acompañaron a parte de estas matrices y que fueron analizados en el mismo laboratorio corroboran dicha persistencia en diversidad de superficies,

así como la resistencia a agentes sanitizantes y la contaminación cruzada entre los alimentos cuando se utilizan las mismas máquinas y espacios sin una efectiva descontaminación previa.

Actualmente, tanto en Argentina como en Estados Unidos y en la Unión Europea se considera a todas las cepas de *L. monocytogenes* potencialmente patógenas. Los avances futuros en la asociación de determinados marcadores de virulencia con los diferentes grupos genéticos permitirán mejorar la evaluación de riesgos de la enfermedad que causa este microorganismo, teniendo en cuenta no solo la definición de la especie sino también la de los subtipos virulentos³⁰. Identificar la subespecie de *L. monocytogenes* entre las cepas que producen listeriosis es primordial para controlar y prevenir la enfermedad.

Conclusiones

Los antecedentes con respecto al patógeno *Listeria monocytogenes* en nuestro país son escasos; esta es la primera investigación que involucra diversidad de matrices y orígenes. Este estudio presenta vital relevancia, sienta precedente en el país y destaca la necesidad de profundizar las políticas públicas de control y refuerzo de la vigilancia epidemiológica en Argentina. La implementación y la difusión de las buenas prácticas de control en las industrias productoras de alimentos, conjuntamente con la educación del personal responsable y la vigilancia de *L. monocytogenes*, contribuirán al control de este patógeno y de la enfermedad que produce.

Financiación

La presente investigación ha sido completamente financiada por Stambouliau Servicios de Salud.

Conflictos de intereses

Las autoras declaran que no presentan ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Este estudio se realizó en los Laboratorios de Higiene y Seguridad Alimentaria y Ambiental, Stambouliau Servicios de Salud, cuyo apoyo es muy reconocido.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.ram.2023.05.004](https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.05.004).

Bibliografía

1. Aoukhiyad Lebrahimi L, Mora Canet B, Munuera Arjona S, Agüera Ortiz FJ, Albendín Ariza MJ, Álvarez Franco JM, Arrizabalaga-Asenjo M, Burillo Julián I, Cortada Gracia M, Dueñas Morales J, Fermin-Gamero G, Hidalgo Pardo O, Martín Pena ML, Oliver-Palomo A, Orpesa Juanes R, Rueda Rubio R, Sobrino Luengo S, Sureda Barbosa MDM. Protocol d'actuació davant la sospita de casos de listeriosis associats a un brot. Servei de Salut de les Illes Balears; 2019. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.13003/18222>
2. Arribas B, Manuel J. Listeriosis: realidad de un brote alimentario. *Sanid Mil.* 2019;75:189–90.
3. Asociación Argentina de Microbiología. Argentina; 2022 [actualizado Mar 2023; consultado 15 Mar 2023]. Disponible en: https://panel.aam.org.ar/img_up/16092018.2.pdf
4. Augustin JC, Bergis H, Midelet-Bourdin G, Cornu M, Couvert O, Denis C, Huchet V, Lemonnier S, Pinon A, Viallette M, Zuliani V, Stahl V. Design of challenge testing experiments to assess the variability of *Listeria monocytogenes* growth in foods. *Food Microbiol.* 2011;28:746–54, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.028>.
5. Babacan O. Antibiotic susceptibility and phylogenetic analyses for the origins and serotypes of *Listeria monocytogenes* strains isolated from ice cream and cream cakes. *Tur J Vet Anim Sci.* 2020;44:1100–9, <http://dx.doi.org/10.3906/vet-2003-116>.
6. Barancelli GV, Silva-Cruz JV, Porto E, Oliveira CAF. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. *Arq Inst Biol.* 2020;78:155–68, <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v78p1552011>.
7. Braga V, Vázquez S, Vico V, Pastorino V, Mota MI, Legnani M, Schelotto F, Lancibidad G, Varela G. Prevalence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from foods in Montevideo-Uruguay. *Braz J Microbiol.* 2017;48:689–94, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.010>.
8. Brusa V, Prieto M, Campos CA, Epsztejn S, Cuesta A, Renaud V, Schembri G, Vanzini M, Michanie S, Leotta G, Signorini M. Quantitative risk assessment of listeriosis associated with fermented sausage and dry-cured pork shoulder consumption in Argentina. *Food Control.* 2021;123:107705, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107705>.
9. Chan YC, Wiedmann M. Physiology and genetics of *Listeria monocytogenes* survival and growth at cold temperatures. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2009;49:237–53, <http://dx.doi.org/10.1080/10408390701856272>.
10. Chen M, Cheng J, Zhang J, Chen Y, Zeng H, Xue L, Lei T, Pang R, Wu S, Wu H, Zhang S, Wei X, Zhang Y, Ding Y, Wu Q. Isolation, potential virulence, and population diversity of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products in China. *Front Microbiol.* 2019;10:946, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00946>.
11. Chen Y, Luo Y, Curry P, Timme R, Melka D, Doyle M, Parish M, Hammack TS, Allard MW, Brown EW, Strain EA. Assessing the genome level diversity of *Listeria monocytogenes* from contaminated ice cream and environmental samples linked to a listeriosis outbreak in the United States. *PloS One.* 2017;12:0171389, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0171389>.
12. Código Alimentario Argentino. Argentina; 2022 [actualizado Jul 2022; consultado 5 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
13. Colagiorgi A, Bruini I, di Ciccio PA, Zanardi E, Ghidini S, Ianieri A. *Listeria monocytogenes* biofilms in the wonderland of food industry. *Pathogens.* 2017;6:41, <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens6030041>.
14. D'Arrigo M, Mateo-Vivaracho L, Guillamón E, Fernández-León MF, Bravo D, Peiróten A, Medina M, García-Lafuente A. Characterization of persistent *Listeria monocytogenes* strains from ten dry-cured ham processing facilities. *Food Microbiol.* 2020;92:103581, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2020.103581>.
15. De Cesare A, Mioni R, Manfreda G. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. *Int J Food Microbiol.* 2007;120:124–30, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.009>.
16. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3819–22, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.8.3819-3822.2004>.
17. Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Rahnama M, Tahmasby H, Mahzounieh M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria* species isolated from poultry products marketed in Iran. *Food Control.* 2012;28:327–32, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.014>.
18. Feng Y, Yao H, Chen S, Sun X, Yin Y, Jiao X. Rapid detection of hypervirulent serovar 4h *Listeria monocytogenes* by Multiplex PCR. *Front Microbiol.* 2020;11:1309, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.01309>.
19. García Panadero I, Álvarez-Ortí M, Rabadán A, Pardo JE. El sistema APPCC como herramienta para reducir el riesgo de aparición de *Listeria monocytogenes* en vegetales congelados. *X Congreso Ibérico de Agroingeniería.* 2019:1209–20, <http://dx.doi.org/10.26754/c.agroing.2019.com.3357>.
20. Gérard A, el-Hajjaji S, Niyonzima E, Daube G, Sindic M. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in various types of cheese — A review. *Int J Dairy Technol.* 2018;71:825–43, <http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12552>.
21. In Lee SH, Barancelli GV, de Camargo TM, Corassin CH, Rosim RE, da Cruz AG, Cappato LP, de Oliveira CAF. Biofilm-producing ability of *Listeria monocytogenes* isolates from Brazilian cheese processing plants. *Food Res Int.* 2017;91:88–91, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.039>.
22. ISO 11290-1. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method. 2017.
23. Jamali H, Chai LC, Thong KL. Detection and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods with various selective culture media. *Food Control.* 2013;32:19–24, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.033>.

24. Jamshidi A, Zeinali T. Significance and characteristics of *Listeria monocytogenes* in poultry products. *Int J Food Sci.* 2019; <http://dx.doi.org/10.1155/2019/7835253>, 7835253.
25. Kadam SR, den Besten HMW, van der Veen S, Zwietering MH, Moezelaar R, Abee T. Diversity assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation: Impact of growth condition, serotype and strain origin. *Int J Food Microbiol.* 2013;165:259–64, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.025>.
26. Lepe JA. Aspectos actuales de la listeriosis. *Med Clin.* 2020;154:453–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2020.02.001>.
27. Liu Y, Sun W, Sun T, Gorris LGM, Wang X, Liu B, Dong Q. The prevalence of *Listeria monocytogenes* in meat products in China: A systematic literature review and novel meta-analysis approach. *Int J Food Microbiol.* 2020;312:108358, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108358>.
28. Londero A, Costa M, Galli L, Brusa V, Linares L, Prieto M, Leotta G. Characterization and subtyping of *Listeria monocytogenes* strains from butcher shops. *LWT.* 2019;113:108363, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108363>.
29. Londero A, Costa M, Sucari A, Leotta G. Comparison of three molecular subtyping techniques for *Listeria monocytogenes*. *Rev Arg Microbiol.* 2019;51:359–62.
30. López V, Suárez M, Chico-Calero I, Navas J, Martínez-Suárez JV. *Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de virulentos? *Rev Arg Microbiol.* 2006;38:224–34.
31. Magdovitz BF, Gummalla S, Thippareddi H, Harrison MA. Evaluating environmental monitoring protocols for *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in frozen food manufacturing facilities. *J Food Prot.* 2020;83:172–87, <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-190>.
32. Martín B, Perich A, Gómez D, Yangüela J, Rodríguez A, Garriga M, Aymerich T. Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plants. *Food Microbiol.* 2014;44:119–27, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.014>.
33. Marzocca MA, Marucci PL, Sica MG, Alvarez EE. Detección de *Listeria monocytogenes* en distintos productos alimenticios y en muestras ambientales de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca (Argentina). *Rev Arg Microbiol.* 2004;36:179–81.
34. Matereke LT, Okoh AI. Virulence, antimicrobial resistance and environmental persistence: A review. *Pathogens.* 2020;9:528, <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9070528>.
35. Muñoz AI. Distribución de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos, Colombia, 2000-2009. *Biomédica.* 2012;32:408–32417, <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.709>.
36. Muñoz Delgado AB, Chaves JA, Rodríguez EC, Realpe ME. *Listeria monocytogenes* en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria. *Biomédica.* 2013;33:283–33291, <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.716>.
37. Mureddu A, Mazza R, Fois F, Meloni D, Bacciu R, Piras F, Mazzeo R. *Listeria monocytogenes* persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants. *Ital J Food Saf.* 2014;6:1697, <http://dx.doi.org/10.4081/ijfs.2014.1697>.
38. Paduro C, Montero DA, Chamorro N, Carreño LJ, Vidal M, Vidal R. Ten years of molecular epidemiology surveillance of *Listeria monocytogenes* in Chile 2008-2017. *Food Microbiol.* 2020;85:103280, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2019.103280>.
39. Prencipe VA, Rizzi V, Acciari V, Iannetti L, Giovannini A, Serraino A, Calderone D, Rossi A, Morelli D, Marino L, Migliorati G, Caporale V. *Listeria monocytogenes* prevalence, contamination levels and strains characterization throughout the Parma ham processing chain. *Food Control.* 2012;25:150–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.018>.
40. Reyes C, Linares LH, Moredo F, Lirón JP, Brusa V, Londero A, Galli L, Oteiza JM, Costa M, Leotta GA. Development and in-house validation of a real-time polymerase chain reaction for the detection of *Listeria monocytogenes* in meat. *Foodborne Pathog Dis.* 2018;15:55–7, <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2017.2321>.
41. Rodríguez-Auad JP. Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Rev Chil Infectol.* 2018;35:649–57, <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182018000600649>.
42. Saludes M, Troncoso M, Figueroa G. Presence of *Listeria monocytogenes* in Chilean food matrices. *Food Control.* 2015;50:331–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.08.008>.
43. Schäfer DF, Steffens J, Barbosa J, Zeni J, Paroul N, Valduga E, Junges A, Backes GT, Cansian RL. Monitoring of contamination sources of *Listeria monocytogenes* in a poultry slaughterhouse. *LWT.* 2017;86:393–8, <http://dx.doi.org/10.1016/J.LWT.2017.08.024>.
44. Skowron K, Kwiecińska-Piróg J, Grudlewska K, Świeca A, Paluszak Z, Bauza-Kaszewska J, Walecka-Zacharska E, Gospodarek-Komkowska E. The occurrence, transmission, virulence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in fish processing plant. *Int J Food Microbiol.* 2018;282:71–83, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.011>.
45. Szymczak B, Szymczak M, Trafiałek J. Prevalence of *Listeria* species and *L. monocytogenes* in ready-to-eat foods in the West Pomeranian region of Poland: Correlations between the contamination level, serogroups, ingredients, and producers. *Food Microbiol.* 2020;91:103532, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2020.103532>.
46. Wang K, Ye K, Zhu Y, Huang Y, Wang G, Wang H, Zhou G. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from chilled pork in Nanjing, China. *LWT.* 2015;64:905–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.015>.
47. Wu S, Wu Q, Zhang J, Chen M, Yan ZA, Hu H. *Listeria monocytogenes* Prevalence and characteristics in retail Raw foods in China. *PLoS One.* 2015;10:e0136682, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0136682>.
48. Yu T, Jiang X. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail food in Henan, China. *Food Control.* 2014;37:228–31, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.047>.
49. Zeinali T, Jamshidi A, Bassami M, Rad M. Serogroup identification and virulence gene characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken carcasses. *Iran J Vet Sci Technol.* 2015;7:9–19, <http://dx.doi.org/10.22067/veterinary.v7i2.43658>.
50. Zhu Q, Gooneratne R, Hussain MA. *Listeria monocytogenes* in fresh produce: Outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods.* 2017;6:21, <http://dx.doi.org/10.3390/foods6030021>.