

# Listeria monocytogenes

## Características taxonómicas bioquímicas y fisiológicas

- Familia Listeriaceae
- El género *Listeria* contiene seis especies (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* y *L. grayi*)
- Sólo *L. monocytogenes* causa infecciones en humanos
- *L. monocytogenes* incluye 13 serogrupos de acuerdo con su antígeno O (celular) (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4ab y 7).
- Los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b son responsables del 98% de los brotes infecciosos asociados a alimentos
- Bacilo Gram-positivo, que puede agruparse en empalizada, no esporulado, catalasa positivo y oxidasa negativo.
- Anaerobio facultativo, desarrollándose mejor en presencia de una tensión reducida de oxígeno (2-10% O<sub>2</sub>)
- Presenta a 25°C una “movilidad en paraguas” sobre agar blando y en presencia de hierro debido a la presencia de flagelos peritricos pero es inmóvil a 37°C
- Su pH óptimo de crecimiento está próximo a la neutralidad (7,2-7,6) con un pH límite alrededor de 5,6
- Crece entre +3 y +45°C (temperatura óptima 30-37°C). **Psicrotrofa**
- Su actividad del agua es 0,92, crece en alimentos con concentración moderada de sal (6,5%) pudiendo incluso crecer en alimentos con 10-12% NaCl
- Es capaz de formar biofilms

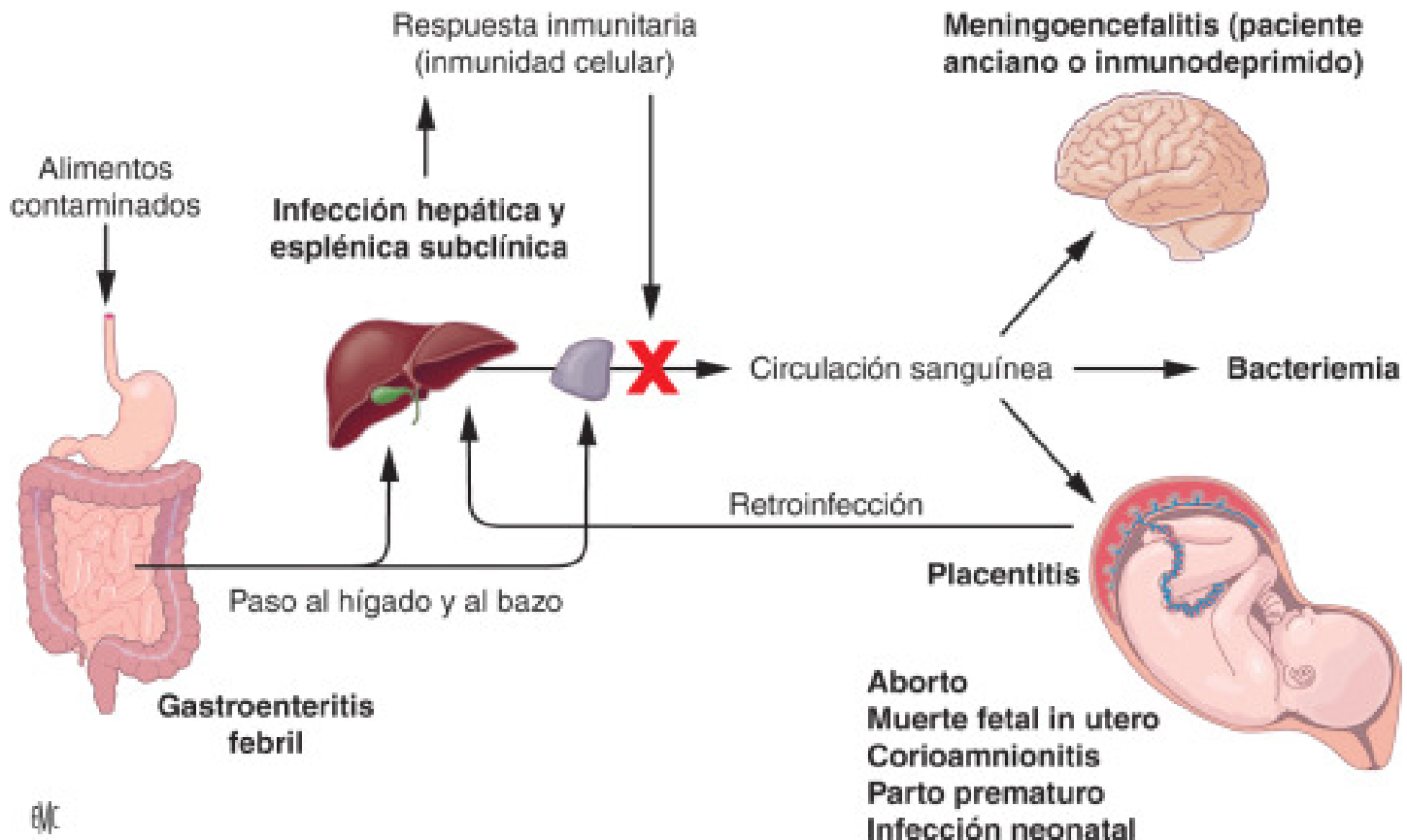


## Mecanismo de patogenicidad, cuadro clínico y epidemiología de listeriosis

- Microorganismos **ubicuo** (aguas superficiales, tierra, vegetación, hortalizas, carnes en canales y cuartos, despieces, carne picada, aves de corral y alimentos marinos, intestino de portadores)
- **Factores de virulencia:** adherencia a las células, hemolisinas (listeriolisina O), internalinas (para entrar dentro de las células, fosfolipasas (para salir del fagolisosoma al citoplasma) y otros. La mayoría de los genes de virulencia se localizan en una región del cromosoma denominada isla de patogenicidad (PAI) de 9 Kb.
- *L. monocytogenes* es un **patógeno intracelular facultativo** que sobrevive y se multiplica en las células epiteliales y en las células del sistema monocito-macrófago (monocitos, células dendríticas y macrófagos)

| Locación cromosoma | Gen         | Producto del gen                           | Función                                                                              |
|--------------------|-------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| LIPI- 1            | <i>hly</i>  | Listeriolisina O (LLO)                     | Lisis del fagosoma                                                                   |
|                    | <i>plcA</i> | Fosfatidilinositol fosfolipasa C (PI- PLC) | Lisis del fagosoma                                                                   |
|                    | <i>plcB</i> | Fosfatidilcolina fosfolipasa C (PC- PLC)   | Lisis del fagosoma                                                                   |
|                    | <i>mpl</i>  | Precursor zinc metaloproteasa (Mpl)        | Procesa al precursor PC- PLC a su forma madura                                       |
|                    | <i>prfA</i> | Factor regulador positivo A (PrfA)         | Requerida para la expresión de los factores de virulencia de <i>L. monocytogenes</i> |
|                    | <i>actA</i> | Proteína inductora de ensamblaje actina    | Participa en la movilidad intra- intercelular                                        |
| Exterior LIPI- 1   | <i>hpt</i>  | Proteína transportadora de hexosa fosfato  | Requerido para el crecimiento intracelular                                           |
|                    | <i>inlA</i> | Internalina A (InlA)                       | Participa en la invasión celular                                                     |
|                    | <i>inlB</i> | Internalina B (InlB)                       | Molécula señalizadora y participa en la invasión celular                             |
|                    | <i>inlC</i> | Internalina C (InlC)                       | Proteína secretada, contribuye a la virulencia de <i>Listeria</i>                    |
|                    | <i>inlJ</i> | Internalina J (InlJ)                       | Adhesión celular, contribuye a la virulencia de <i>Listeria</i>                      |

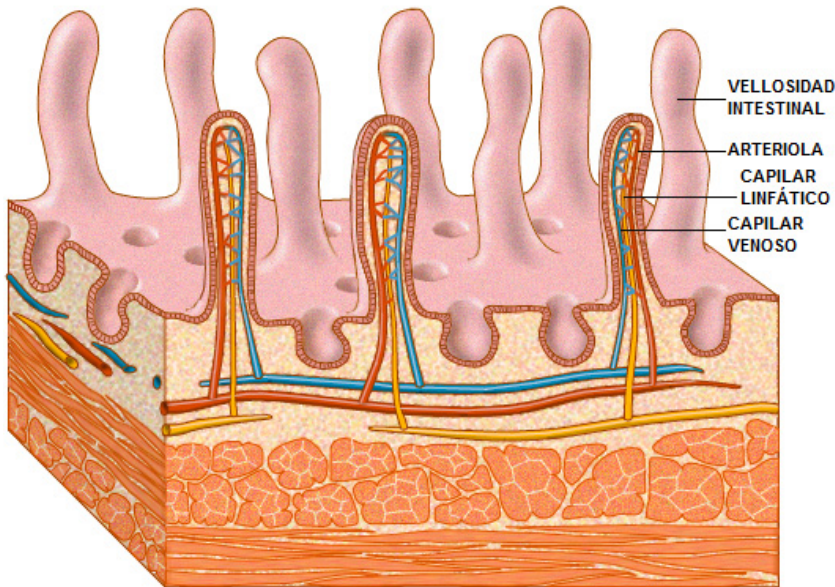
- La **dosis infectiva es baja** pero siempre  $>100$  ufc/g y depende del huésped. En huéspedes inmunocomprometidos, se requieren dosis más bajas para producir la enfermedad que en individuos sanos.
- La bacteria se **ingiere**, pasa el estómago indemne y alcanza el intestino delgado. Los factores de virulencia **glutamato descarboxilasa** ayuda a la bacteria a sobrevivir al ácido del estómago y la hidrolasa la protege de la acción de las sales biliares.
- L. monocytogenes* causa tres formas de enfermedad: **gastroenteritis febril**, enfermedad sistémica invasiva y aborto y listeriosis neonatal



## ■ Gastroenteritis febril

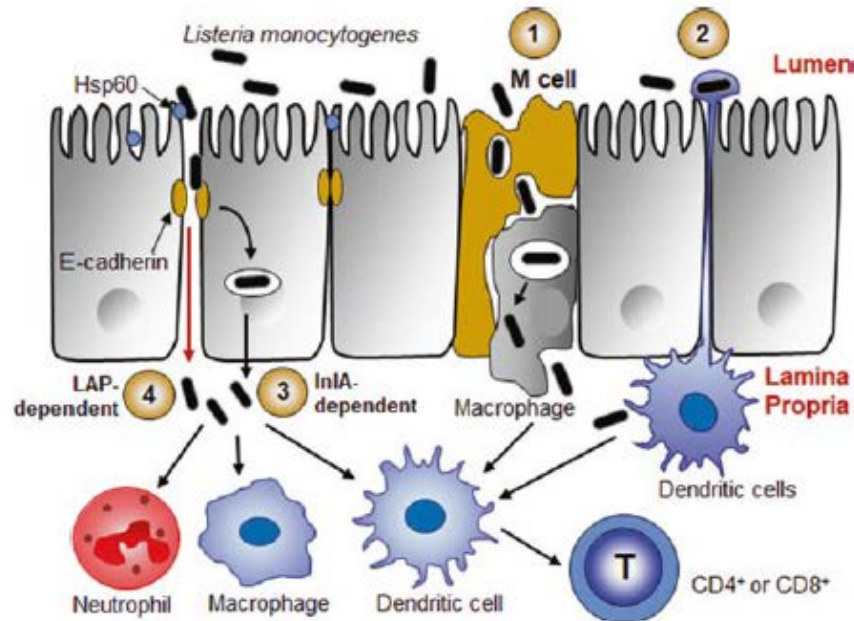
- Se da en **adultos sanos**
- las dosis infectivas tienen un rango de  $10^8$  a  $10^{10}$
- los síntomas aparecen entre 1 y 7 días después de la ingestión e incluyen fiebre ligera, calambres abdominales y diarrea
- Los síntomas ceden a los pocos días, pero las personas afectadas excretan el patógeno en las heces durante algún tiempo
  - se cree que causa **daño en las microvellosidades intestinales** afectando la absorción de nutrientes y promoviendo la secreción de fluidos

### ABSORCIÓN EN EL INTESTINO DELGADO



## ■ Enfermedad sistémica invasiva

- se asocia a poblaciones con **deficiencias inmunológicas**, como niños, personas mayores (>60 años), embarazadas e inmunocomprometidos (pacientes con VIH, cáncer, transplantados, diabéticos, alcohólicos, con enfermedades cardiovasculares)
- Las bacterias pasan a través del intestino a través de dos vías principales: translocación a través de las células M de las placas de Peyer o por la invasión de los enterocitos
- El proceso invasivo (endocitosis mediada por receptor) comienza con la unión a las células epiteliales a través de las proteínas de adhesión, a continuación invade las células epiteliales mediante la internalina A o proteína de invasión virulenta

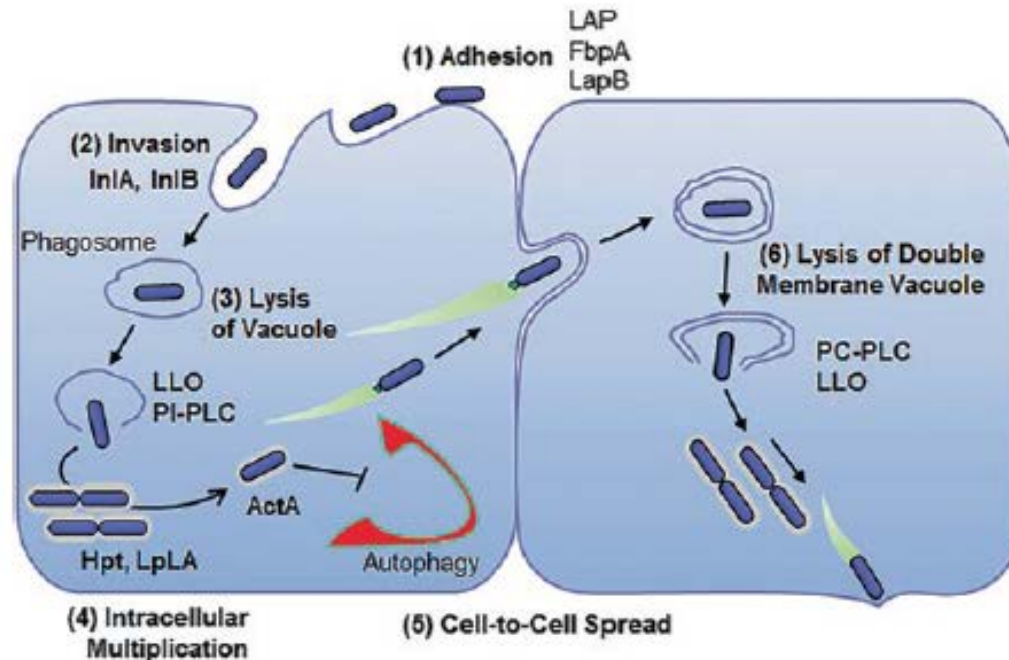


**Fig. 13.3** *Listeria monocytogenes* translocation through intestinal cell lining (barrier). Four possible pathways are proposed: (1) translocation through M cells, (2) entrapment by dendritic cells, (3) active invasion through the epithelial cell by internalin A (InlA)-E-cadherin pathway, and (4) LAP-mediated transepithelial pathway. Immune cells (macrophage, neutrophil, DC) interact with bacteria for innate and adaptive responses

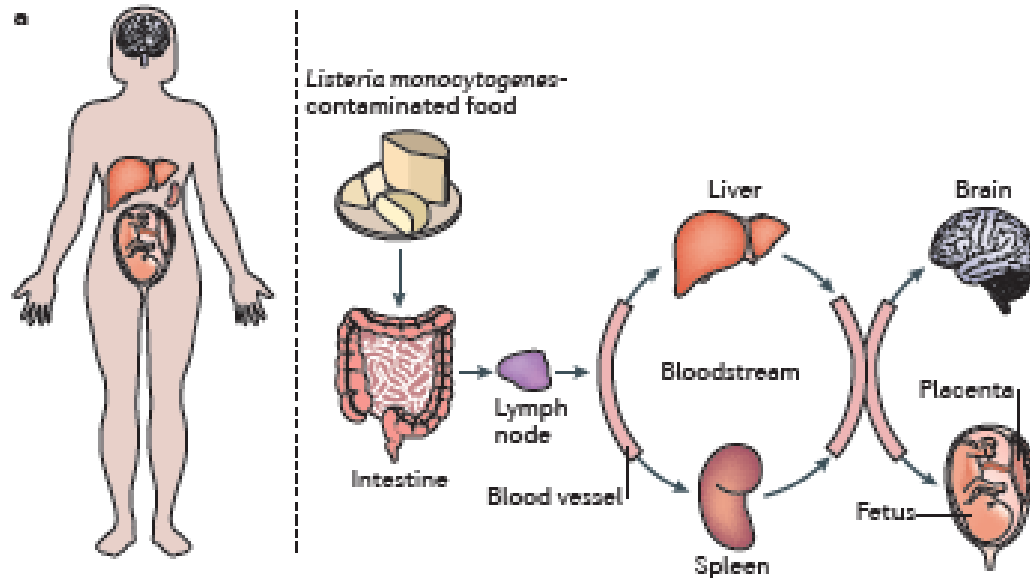
- Una vez dentro del enterocito, la bacteria queda atrapada en el fagosoma, pero escapa de inmediato formando poros con la ayuda de la listeriolina O y la fosfolipasa
- Ya libre en el citoplasma, se multiplica y luego forma una cola de actina para moverse de una célula a otra con la ayuda de otros factores de virulencia (proteína de polimerización de actina y la fosfolipasa)
- El paso de una célula a otra forma una estructura tipo pseudopódica que acaba con la bacteria en la célula recién infectada rodeada por una doble membrana (la membrana externa es la de la célula recién infectada y la membrana interna es la de la célula previamente infectada)



**Fig. 13.5** Mechanisms of *Listeria monocytogenes*: (1) adhesion, (2) invasion, (3) lysis of vacuole, (4) intracellular multiplication, (5) cell-to-cell spread, and (6) lysis of double-membrane vacuole



- Después de atravesar la barrera intestinal es internalizada por los macrófagos y células dendríticas, donde se replica y la llevan vía sanguínea a su localización extraintestinal: nódulos linfáticos, hígado y bazo (donde la mayoría son destruidas) las que sobreviven vía sanguínea llegan a distintos órganos como cerebro y la placenta (diseminación sistémica).
- El periodo de incubación de la enfermedad invasiva es de 2 a 3 semanas.
- Los síntomas son fiebre, cefalea, meningitis, encefalitis, endocarditis, absceso hepático y otros
- La tasa de mortalidad de las infecciones sintomáticas por *Listeria monocytogenes* es del 20-30%,



## ■ Aborto y listeriosis neonatal

- Durante el embarazo, la listeriosis sistémica con frecuencia ocasiona la infección intrauterina ocasionando aborto o listeriosis neonatal
- La mujer embarazada exterioriza muy poco la infección (algo de fiebre)
- Se produce **aborto** al segundo trimestre o el parto prematuro con muerte intrauterina del feto
- síntomas de la listeriosis neonatal son insuficiencia respiratorio, neumonía, hiperexcitabilidad, conjuntivitis, erupción cutánea, vómitos, calambres e hipo o hipertermia.
- La mortalidad en listeriosis neonatal es del 36%



## Alimentos implicados y medidas de prevención

- *L. monocytogenes* ha sido asociada con alimentos listos para el consumo tales como la leche cruda, la leche erróneamente pasteurizada, los quesos (en especial las variedades que han sufrido un corto período de maduración), helados, vegetales crudos, embutidos, las aves de corral, crudas y cocidas, las carnes crudas (de todo tipo) y el pescado fresco o ahumado.
- Su capacidad de crecer a temperaturas tan bajas como los 3°C permite su multiplicación en estos los alimentos listos para consumo refrigerados
- los alimentos adecuadamente cocidos, calentados o almacenados son por lo general seguros (la bacteria muere a una temperatura de 75°C).
- El mayor riesgo lo constituye la contaminación cruzada, que se da cuando los alimentos cocidos entran en contacto con las materias primas crudas o contaminadas.



# Aeromonas

## Características taxonómicas bioquímicas y fisiológicas

- Familia Aeromonadaceae
- El género *Aeromonas* contiene 36 especies de las que se han identificado como enterovirulentas *A. hydrophila*, *A. sobria* y *A. caviae*.
- Bacilo Gram-negativo, presentándose sólo, en parejas o en cortas cadenas.
- Anaerobio facultativo
- La mayoría móvil por flagelo polar
- Su pH óptimo de crecimiento está próximo a la neutralidad con un pH límite alrededor de 6
- Crece entre +4 y +42°C (temperatura óptima 28°C). **Psicrotrofa**
- No tolera la sal (crece a concentración <5% NaCl)
- Es capaz de formar **biofilms**





- Microorganismos ubicuo de agua dulce y salobres (agua potable, aguas negras, aguas contaminadas, ríos, lagos y estuarios), alimentos (pescado, mariscos, productos cárnicos, alimentos preparados, productos de pastelería, verduras, leche y derivados lácteos) y numerosos animales silvestres, mascotas e invertebrados
- La enfermedad se adquiere por **ingestión de la alimentos** principalmente de origen acuícola (peces y marisco) o a través de **heridas abiertas** por contacto con aguas contaminadas.

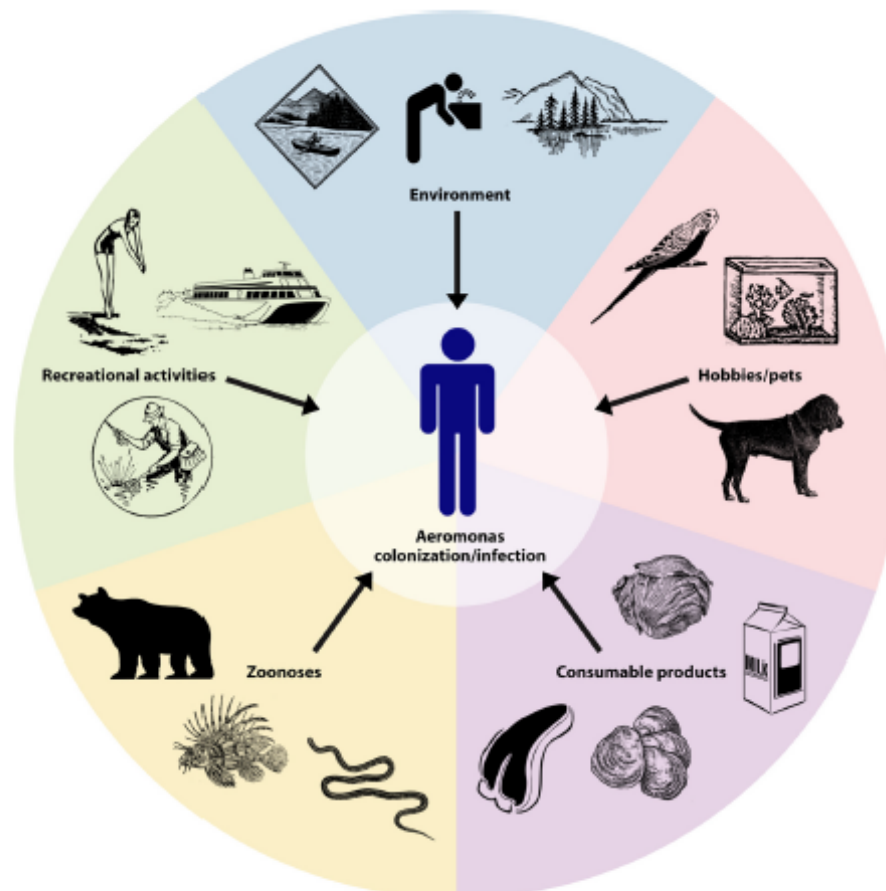


FIG. 1. Environmental sources of *Aeromonas* species potentially leading to infection or colonization in humans. Black lines indicate suspected major and minor routes of acquisition leading to colonization/infection.

- **Factores de virulencia** de *A. hydrophila* adhesinas, citotoxinas, hemolisinas, enolasas, colagenasas metaloproteasas, lipasas, proteasas, DNAsa y RNAsa.
- La dosis infectiva es de  $10^4$  a  $10^{10}$  células viables /g de alimento o ml de agua.
- La bacteria sobrevive al estómago, pasa al intestino, se une a las células intestinales a través de las fimbrias, flagelo y pili, luego produce toxinas de dos tipos:
  - **Citotoxinas** como la aerolisina que es una  $\beta$ -hemolisina que forma poros en la membrana de la célula huésped (efecto citolítico)
  - **Enterotoxinas citotónicas** que provocan incremento de AMPc y estimulan la secreción de fluidos por las células epiteliales
- Los síntomas aparecen después de **24h de la ingestión** de alimentos contaminados e incluyen diarrea acuosa, a veces con fiebre y vómitos. Autolimitada (unas 2 semanas máximo).
- La **disentería por *Aeromonas*** es una gastroenteritis grave mucho menos común debido al efecto invasivo de la bacteria en el epitelio intestinal y se manifiesta con disentería (dolor abdominal, moco y sangre en las heces) que con frecuencia requiere hospitalización y puede evolucionar hacia colitis ulcerosa.
- *Aeromonas* puede causar **septicemia** en personas inmunocomprometidas (leucemia, carcinoma, cirrosis, tratadas con inmunosupresores o con tratamiento quimioterápico anticanceroso).
  - Fiebre, ictericia, dolor abdominal, disnea, shock séptico

## SÍNTOMAS



Colitis ulcerosa por *Aeromonas hydrophila*.

- Además *Aeromonas* está implicada en infección de heridas originando celulitis (infección de tejido subcutáneo), fascitis necrosante (tejido conjuntivo subcutáneo que envuelve al músculo) o mionecrosis (tejido muscular) principalmente en pacientes con enfermedad hepática y en este caso la mortalidad está entre el 60-77%.

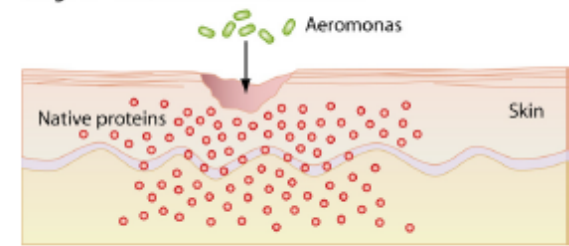


### Alimentos implicados y medidas de prevención

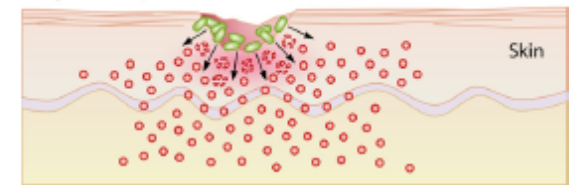
- Los principales son pescado y marisco. También se ha encontrado en carnes rojas (vacuno, cerdo, cordero) y volatería (aves de corral).
- La prevención pasa por mantener alimentos por debajo de 5°C; cocinar los alimentos marinos y desinfectar el agua de bebida.



Stage 1. Attachment and colonization



Stage 2. Replication and release of proteases



Stage 3. Invasion and destruction of deeper tissue

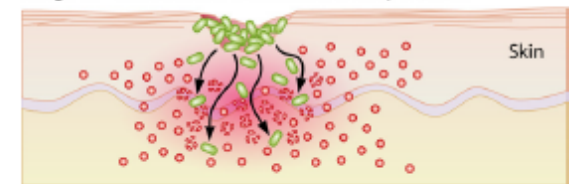


FIG. 2. Hypothetical model of *Aeromonas* wound infection. The process involves three major stages. (1) Attachment and initial colonization of wound site; (2) elaboration of proteases and degradation of proteinaceous material as an energy source, leading to multiplication of bacilli; (3) migration of aeromonads into deeper tissues due to a gradient effect (higher concentration of proteins) via chemotactic motility.

# Brucella

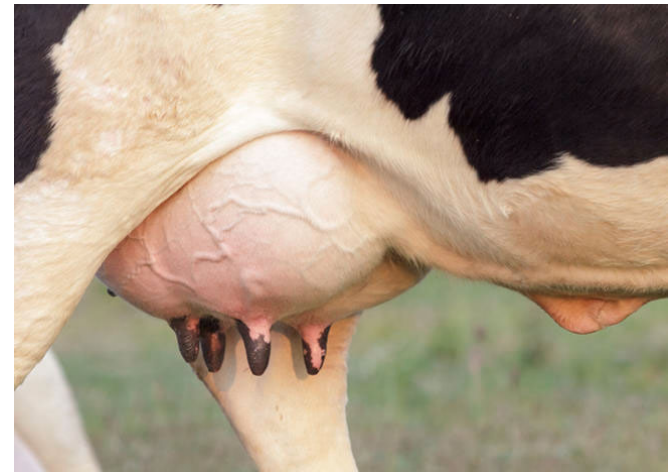
## Características taxonómicas bioquímicas y fisiológicas

- Familia *Brucellaceae*
- El género incluye 7 especies de las que 4 producen brucelosis: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* (más virulenta), *Brucella suis* y *Brucella canis*.
- Cocobacilo Gram-negativo, catalasa + y oxidasa +
- Aerobio estricto
- Inmóvil
- Su pH óptimo de crecimiento está próximo a la neutralidad
- Crece entre +10 y +40°C (temperatura óptima 37°C)



## Mecanismo de patogenicidad, cuadro clínico y epidemiología de la brucelosis (Fiebre ondulante o de Malta)

- Los reservorios animales son las cabras y las ovejas (*Brucella melitensis*), el ganado vacuno (*Brucella abortus*), los cerdos (*Brucella suis*) y los perros (*Brucella canis*).
- Se localizan en los animales en la mama, el útero y la placenta, pudiendo producir esterilidad, aborto o un estado de portador asintomático.



- **Parásito intracelular** del sistema retículo endotelial (ganglios linfáticos, hígado, bazo, médula ósea, riñones) , de células epiteliales y de diferentes tejidos (uterino, genital, articulaciones)
- Factores de virulencia de *Brucella*

**Table 1** Pathogenesis-related *Brucella* spp.—host molecular interacting elements

| <i>Brucella</i> element      | Host factor             | Reference |
|------------------------------|-------------------------|-----------|
| Adhesion and internalization |                         |           |
| SP41                         | Sialic acid residues    | 9         |
| Hsp60                        | PrP <sup>C</sup>        | 26        |
| LPS                          | Scavenger receptor SR-A | 27        |
| Intracellular trafficking    |                         |           |
| RicA                         | GTPase Rab2             | 25        |
| Intracellular survival       |                         |           |
| Cyclic B1,2-glycan           | Cholesterol             | 28        |
| Evasion of immunity          |                         |           |
| BtpA/Btp1/TcpB               | MyD88<br>MAL            | 29,30     |
| BtpB                         | MyD88                   | 24        |
| Proinflammatory reaction     |                         |           |
| VceC                         | BiP/Grp78               | 31        |

Hsp60, heat shock protein 60; LPS, lipopolysaccharide; MAL, MyD88-adaptor like; MyD88, myeloid differentiation response gene 88; PrP<sup>C</sup>, cellular prion protein; SP41, 41-kDa surface protein.

La enfermedad se adquiere por

- ingestión de la alimentos contaminados (lácteos o cárnicos; dosis infectiva es menor que 500 células viables/g de alimento)
- contacto con manos contaminadas durante la actividad laboral
- También puede transmitirse por inhalación, contacto con heridas o a través de la mucosa del orofaringe y conjuntiva.



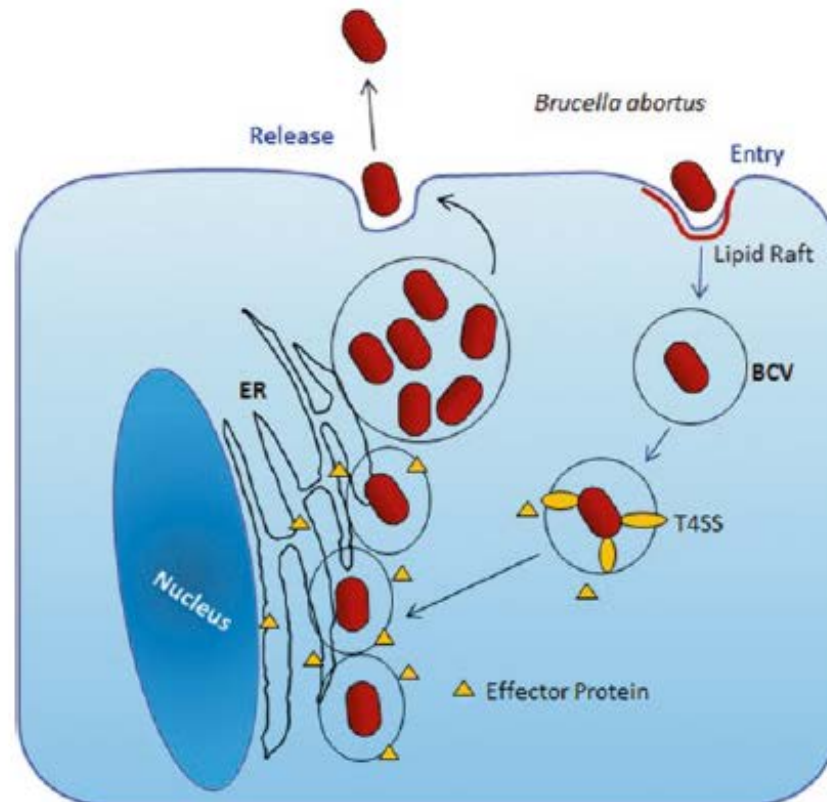
Tabla 3 Transmisión de la brucelosis en el ser humano

| Vía de infección | Vía de entrada                                | Fuente de infección                                                                                   | Población en riesgo                                                       |
|------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Oral             | Mucosa digestiva                              | Leche y sus derivados lácteos no pasteurizados                                                        | Población en general                                                      |
| Contacto directo | Piel erosionada, conjuntivas, mucosa nasal    | Productos animales contaminados, como tejidos (placenta), heces, secreciones vaginales, etc.          | Trabajadores en contacto con los animales infectados o sus productos      |
| Respiratoria     | Mucosa nasal                                  | Aerosoles en laboratorios con muestras contaminadas, vacunas vivas, aerosoles en establos, lana, etc. | Personal de laboratorio, trabajadores de lana, personal de establos, etc. |
| Parenteral       | Inoculación accidental, transfusión sanguínea | Vacunas vivas, material biológico contaminado, etc.                                                   | Personal de laboratorio, veterinarios, población en general etc.          |

Fuente: Castro et al.<sup>5</sup>

- Una vez en el intestino, atraviesan el epitelio intestinal y son endocitadas por los macrófagos y células dendríticas donde *Brucella* sobrevive en el interior de la vacuola que no se fusiona con el lisosoma conocida como Brucella containing vacuole (BCV). En la BCV, la bacteria activa el T4SS (sistema de secreción) para inyectar proteínas efectoras y promover la interacción de las BCV con el retículo endoplásmico (RE). En esta etapa, la bacteria migra hacia la región del RE, se multiplica y se mueve de una célula hacia otra.
- Se transmiten a los nódulos linfáticos y pueden pasar a la sangre y alcanzar tejidos como la placenta, sistema reproductor, sistema retículo endotelial (ganglios linfáticos, hígado, bazo, médula ósea, riñones) donde originan granulomas (inflamación granulomatosa como respuesta del hospedador)

**Fig. 20.2** Mechanism of *Brucella abortus* cell invasion and multiplication. BCV, *Brucella*-containing vacuole; T4SS, type IV secretion system; ER, endoplasmic reticulum (Schematics based on de Figueiredo et al. 2015, Am. J. Pathol. 185, 1505–1517)



- Los síntomas de la brucelosis aparecen a las 2 semanas de media y comprenden: **Fiebre** y escalofríos, con elevación de la fiebre por las tardes, dolor de cabeza muy intenso, dolores musculares y articulares, estreñimiento, falta de apetito, pérdida de peso y debilidad. Aumento de tamaño del bazo, el hígado y los ganglios linfáticos.
- La fiebre intermitente persiste durante unas semanas, y luego los síntomas remiten durante unos días, para aparecer más tarde, generalmente con picos febriles repetidos y remisiones durante meses
- Los enfermos con brucelosis aguda no complicada suelen recuperarse en 2-3 semanas, y las complicaciones son raras.
- Los pacientes con enfermedad avanzada pueden tener síntomas digestivos, derrames articulares, síntomas respiratorios, y con menor frecuencia manifestaciones cutáneas, neurológicas y cardiovasculares.



### Alimentos implicados y medidas de prevención

- La principal fuente de infecciones la **leche cruda** procedente de cabras y ovejas enfermas o que padecen la enfermedad subclínica y los quesos fabricados con ellas.
- En cuanto a la prevención, se puede erradicar la enfermedad en el reservorio animal con la **vacunación**
- En cuanto a los alimentos, la **pasteurización** adecuada de la leche y de la nata y la fabricación del queso solamente con leche pasteurizada evitará totalmente la brucelosis procedente de estas fuentes.

