

Listeria Y LISTERIOSIS

Jesús Oteo y Juan Ignacio Alós.
Servicio de Microbiología. Hospital de Móstoles. Móstoles. Madrid.

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. En cultivos viejos pueden aparecer formando filamentos de 6-20 mm de longitud. Presentan de 1 a 5 flagelos peritricos que les confieren movilidad a 28°C.

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. Su temperatura óptima de crecimiento está entre 30°C y 37°C, pero pueden crecer a 4°C en pocos días.

Listeria spp. son anaerobias facultativas, catalasa positivas y oxidasa negativas. Las reacciones de Voges-Proskauer y rojo de metilo son positivas. Hidrolizan la esculina en pocas horas, pero no la urea ni la gelatina; no producen indol ni SH₂. Producen ácido de la D-glucosa y de otros azúcares. El contenido de guanina-citosina de su ADN es bajo, entre el 36% y el 38%.

Entre las diferentes especies incluidas en el género, *Listeria monocytogenes* es la única implicada en patología humana y el objeto principal de esta revisión.

EPIDEMIOLOGÍA. PATOGENIA. SÍNDROMES CLÍNICOS.

Las especies de *Listeria* están muy extendidas en el medio ambiente. Se han aislado del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, comida animal, pollo fresco y congelado, alimentos frescos y procesados, queso, leche no procesada, desechos de los mataderos, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. *L. monocytogenes* se ha aislado de variadas especies de mamíferos, aves, peces, crustáceos e insectos. No obstante su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición, en la cual sobrevive y crece como saprofito. Debido a su amplia distribución, este microorganismo tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos en distintos pasos de la producción alimentaria, siendo ésta la vía más frecuente por la que el ser humano adquiere la infección.

La listeriosis puede presentarse esporádicamente o en epidemias; en ambas situaciones, los alimentos contaminados son los principales vehículos de transmisión de *L. monocytogenes*. La leche, el queso, los vegetales frescos, la berza, el pollo, las setas, el pavo y muchos otros suelen ser los alimentos más frecuentemente implicados en ella. La incidencia anual por 100.000 habitantes puede variar del 0,3 al 0,8% y alcanzar un 5% durante algunos brotes epidémicos.

L. monocytogenes produce una toxina citolítica y hemolítica, llamada listeriolisina O, que actúa como un importante factor de virulencia. Se trata de una proteína de 52 kD que se secreta a pH bajo y 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 definitorias de *L. monocytogenes*.

En personas adultas, la listeriosis invasiva se manifiesta como bacteriemia o como meningoencefalitis secundaria a una bacteriemia, con una mortalidad elevada, de hasta el 30%. Se piensa que el tracto gastrointestinal es la puerta de entrada. Son especialmente susceptibles los pacientes de edad avanzada o con patología de base. Entre éstas, hay que hacer especial mención de las neoplasias, sobretudo hematológicas, trasplantes de órganos, colagenosis, diabetes mellitus y SIDA.

Las mujeres embarazadas son especialmente propensas a sufrir bacteriemia por *L. monocytogenes*, representando hasta la tercera parte de los casos descritos. Suele producirse en el tercer trimestre del embarazo y cursar como un cuadro pseudogripal de evolución favorable. Es muy poco frecuente el desenlace fatal en la madre, pero si no se instaura el tratamiento adecuado se suele producir una amnionitis e infección fetal. La afectación fetal puede ser causa de aborto, alumbramiento de un niño muerto o parto prematuro de un neonato infectado con el cuadro clínico denominado *granulomatosis infantiséptica*. Este proceso se caracteriza por la formación de abscesos o granulomas diseminados en órganos internos como hígado, pulmón, bazo, riñón y cerebro. Las manifestaciones sólo se producen cuando la infección se ha adquirido intraútero, a través de la placenta, y tiene muy mala evolución, con una mortalidad cercana al 100%.

Hay otro cuadro de listeriosis que afecta a neonatos sin ningún tipo de manifestación clínica en el momento del nacimiento y durante los primeros días de vida. A los 3-4 días de edad, comienzan con un cuadro de fiebre y síntomas pseudocatarrales como consecuencia de una bacteriemia por *L. monocytogenes*. Debido al especial tropismo que tiene esta bacteria por el sistema nervioso central no es infrecuente que durante esta bacteriemia se produzca meningoencefalitis o cerebritis. Se piensa que la infección se adquiere de la madre durante o después del nacimiento y no intraútero.

Las infecciones localizadas son infrecuentes. Pueden presentarse tras un episodio de bacteriemia o de *granulomatosis infantiséptica*, habiéndose descrito casos de endocarditis, artritis, osteomielitis, absceso intraabdominal e infección pleuropulmonar. También se han descrito formas locales que afectan a la piel y globo ocular en trabajadores de mataderos o en veterinarios y otras personas relacionados con animales. En este caso no existe una bacteriemia previa y la infección se produce

por contacto directo con tejidos o animales contaminados.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

L. monocytogenes se aísla fácilmente de muestras orgánicas habitualmente estériles como sangre, líquidos cefalorraquídeo y amniótico, placenta y tejido fetal. Estas muestras deben ser remitidas al laboratorio y procesadas tan pronto como sea posible en su defecto conservarse a 4°C durante un máximo de 48 h. Las muestras clínicas habitualmente estériles pueden ser inoculadas directamente en medios habituales como el agar sangre. Las muestras de sangre pueden inocularse en cualquier sistema convencional de hemocultivos.

Para el estudio de portadores las muestras de heces son más productivas que las torundas rectales. Las muestras de heces deben ser inoculadas en un medio de enriquecimiento selectivo, de los que existen diversas formulaciones.

Las muestras no estériles pueden conservarse a 4°C durante 24-48 h como máximo. Si se va a producir una mayor demora en su procesamiento deben ser congeladas a -20°C para evitar el sobrecrecimiento bacteriano. Este tipo de muestras, así como las alimentarias, deben ser enriquecidas con un medio selectivo para *Listeria spp.* antes de sembrarse en placas. Tradicionalmente se ha usado un método de enriquecimiento en frío, utilizando un caldo de crecimiento no selectivo mantenido a 4°C durante dos o más meses para su posterior subcultivo en placas. En los últimos años se han desarrollado distintos métodos de enriquecimiento selectivos como el USDA y el NGFIS, con los que se consigue una reducción importante en el tiempo necesario para su aislamiento. No obstante ninguno alcanza una sensibilidad del 100%.

Identificación de género.

La observación en la tinción de Gram de una colonia de bacilos gram-positivos que sean catalasa positivos, produzcan ácido de la D-glucosa, hidrolicen la esculina, den positivas las reacciones de Voges-Proskauer y del rojo metilo y sean móviles, debe hacernos pensar que nos encontramos ante una bacteria perteneciente al género *Listeria*.

Debido a que comparte algunas características con otros géneros bacterianos gram-positivos, se debe establecer el diagnóstico diferencial con algunos de ellos. Del género *Streptococcus* puede diferenciarse por la tinción de Gram (bacilo gram-positivo), la movilidad (móvil), la prueba de la catalasa (positiva) y la sensibilidad a la gentamicina (sensible). De *Erysipelothrix rhusiopathiae* puede diferenciarse por el crecimiento a 4°C (crece), la prueba de la catalasa (positiva), la movilidad (móvil) y la sensibilidad a la vancomicina (sensible). De las corinebacterias móviles, por la hidrólisis de la urea (negativa), la reacción de Voges-Proskauer (positiva) y por la producción de ácido de la D-glucosa en condiciones estrictamente aerobias (positiva).

Identificación de especie.

La identificación de especie es importante ya que todos los miembros del género *Listeria* son capaces de contaminar alimentos pero sólo *L. monocytogenes* produce patología en humanos. Dicha identificación se realiza mediante unas pocas reacciones bioquímicas y la capacidad de producir hemólisis, característica esencial para distinguir *L. monocytogenes* de *L. innocua*, que es la especie no patógena aislada con más frecuencia.

Sólo tres especies son hemolíticas, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* y *L. ivanovii*. Las dos primeras producen una estrecha zona de hemólisis, a veces limitada al diámetro de la colonia; *L. ivanovii* muestra una hemólisis amplia. La prueba de CAMP es positiva para *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* en la proximidad de una estría de *Staphylococcus aureus*, mientras que *L. ivanovii* sólo da positiva la prueba de CAMP en presencia de una estría de *Rhodococcus equi*.

En cuanto a la producción de ácido de los carbohidratos, *L. monocytogenes* presenta un perfil D-xylosa negativa y a-metil D-manósido positivo que la distingue de las otras especies hemolíticas. Existen pruebas bioquímicas miniaturizadas en una galería específicamente creada para este género, el API *Listeria* (bioMérieux, Francia). También está disponible una sonda de DNA para la identificación rápida de *L. monocytogenes* a partir de colonias cuyo revelado se basa en una técnica de quimioluminiscencia.

Técnicas de tipificación.

Mediante estas técnicas se consiguen diferenciar distintos subtipos dentro de la misma especie. Se aplican en estudios taxonómicos y sobre todo en estudios epidemiológicos (localización del origen de los brotes epidémicos, encuestas y seguimiento epidemiológicos, etc).

Entre las técnicas fenotípicas se usan la serotipificación, la tipificación por fagos y la electroforesis enzimática (MLEE). Por la serotipificación se ha llegado a la conclusión de que la mayoría de la patología en humanos es producida por los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b. Sin embargo, tanto ésta como la tipificación por fagos presentan problemas (bajo poder de discriminación, algunas cepas no tipificables, entre otros), por lo que cada vez se usan más las técnicas genotípicas.

Las técnicas genotípicas en general, así como la MLEE, diferencian subtipos entre los serotipos y los fagotipos de *L. monocytogenes*, haciéndoles especialmente útiles. Entre ellas se encuentran el perfil de ADN total cortado con enzimas de restricción, la ribotipia, la electroforesis en campo pulsátil y la PCR con iniciadores arbitrarios.

SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

El patrón de sensibilidad a los antibióticos de *L. monocytogenes* ha permanecido relativamente estable con el paso de los años. Generalmente, este microorganismo es sensible a una amplia gama de antibióticos como penicilina, ampicilina, gentamicina, eritromicina, tetraciclinas, rifampicina, cotrimoxazol y vancomicina. Presentan una pobre actividad las fluorquinolonas actuales y las cefalosporinas, especialmente las de tercera y cuarta generación como cefotaxima y cefepima. Casi todas las cepas son resistentes a fosfomicina.

Se han descrito resistencias a macrólidos y a tetraciclinas en algunos aislamientos; suelen estar codificadas por plásmidos, aunque también hay casos de resistencia a tetraciclinas codificada por el cromosoma. La rifampicina tiene muy buena actividad *in vitro* pero se seleccionan cepas resistentes durante el tratamiento con mucha facilidad. Existe un caso de resistencia a trimetoprim en una cepa de *L. monocytogenes*, por un mecanismo desconocido hasta ahora. Aunque se han descrito fracasos clínicos en tratamientos con penicilina o ampicilina, no se ha encontrado ninguna cepa resistente a estos antibióticos.

La mayor parte de los antibióticos se muestran bacteriostáticos frente a *L. monocytogenes*. En particular los b-lactámicos tienen un gran intervalo entre la CMI y la CMB. Sólo se ha observado actividad bactericida en los aminoglucósidos, glucopéptidos y cotrimoxazol (principalmente asociada al trimetoprim)

TRATAMIENTO

Al ser la listeriosis una enfermedad relativamente rara en humanos, no hay estudios prospectivos y controlados que establezcan el mejor tratamiento antibiótico. Actualmente se considera que las mejores opciones son la penicilina o la ampicilina, solas o asociadas a gentamicina. Se han descrito fallos terapéuticos con estos antibióticos, pero nunca se ha demostrado *in vitro* resistencia al compuesto b-lactámico utilizado. En el manejo de estas infecciones son de gran importancia el empleo de dosis altas y la duración adecuada del tratamiento, que deben individualizarse. En las enfermedades graves como la cerebritis o la *granulomatosis infantiseptica*, el inicio precoz del tratamiento es fundamental para el control de la infección. Estudios *in vitro* han demostrado sinergia de ampicilina y penicilina con aminoglucósidos. Esta asociación debe utilizarse en casos de *granulomatosis infantiseptica* o de sepsis neonatal. En aquellos pacientes con meningoencefalitis pueden asociarse aminoglucósidos, administrados por vía intratecal, al tratamiento base de penicilina o ampicilina.

La combinación de trimetoprim y sulfametoxazol se ha utilizado con éxito en pacientes alérgicos a penicilinas, considerándose en la actualidad la terapia alternativa en esta circunstancia.

La duración apropiada del tratamiento tampoco está clara. Tras dos semanas de terapia se han descrito recurrencias en pacientes inmunodeprimidos. Parece conveniente, por tanto, prolongar la terapia entre tres y seis meses en estos casos. En general dos semanas parecen ser suficientes en bacteriemias mientras que en meningitis se deberían utilizar ciclos más largos.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL BÁSICA

SWAMINATHAN B., ROCOURT J., BILLE J. *Listeria*. En: MURRAY PR, et al. (eds.), *Manual of clinical microbiology*, 6ª ed. American Society for Microbiology, Washington 1995, pp. 341-348.

ARMSTRONG D. *Listeria monocytogenes*. En: MANDELL GL, et al. (eds.). *Principles and practice of infectious diseases*, 4ª ed. Willey and Sons, New York 1995, pp. 1880-1885.

HOF H., NICHTERLEIN T., KRETSCHMAR M. Management of listeriosis. *Clin Microb Rev* 1997; 10:345-57.

BIBLIOGRAFÍA RECIENTE COMENTADA

DALTON CB, AUSTIN CC, SOBEL J, et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med* 1997; 336:100-105.

L. monocytogenes es una causa de gastroenteritis con fiebre, en general con buena evolución. Algunos casos esporádicos de listeriosis invasiva pueden deberse a brotes por consumo de alimentos contaminados y podrían pasar desapercibidos.

BUBERT A, RIEBE J, SCHNITZLER N, et al. Isolation of catalase-negative *Listeria monocytogenes* strains from listeriosis patients and their rapid identification by anti-p60 antibodies and/or PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35:179-183.

Informan del aislamiento de 2 cepas de *L. monocytogenes* que no producían catalasa. La producción de catalasa no debería considerarse un criterio estricto en la identificación de las listerias.

SPYROU N, ANDERSON M, FOALE R. *Listeria endocarditis*: current management and patient outcome-world literature review. *Heart* 1997; 77:380-383.

Revisión de los 58 casos de endocarditis por *L. monocytogenes* que los autores encuentran en la literatura.

ELSNER HA, TENSCHERT W, FISCHER L, KAULFERS PM. Nosocomial infections by *Listeria monocytogenes*: analysis of a cluster of septicemias in immunocompromised patients. *Infection* 1997; 25: 135-9. Probable transmisión nosocomial mediada por alimentos de una cepa de *L. monocytogenes* que causó varias infecciones en un hospital alemán.

BLANOT S, JOLY MM, VILDE F, et al. A gerbil model for rhombencephalitis due to *Listeria monocytogenes*. *Microb Pathog* 1997; 23:39-48.

Se diseña un modelo experimental de romboencefalitis por *L. monocytogenes* en jerbos (roedores del tamaño de las ardillas) lo que permitirá estudiar la patogenicidad y comparar diversos tratamientos antibióticos.

ALVAREZ-DOMINGUEZ C, VAZQUEZ-BOLAND JA, CARRASCO-MARIN E, et al. Host cell heparan sulfate proteoglycans mediate attachment and entry of *Listeria monocytogenes*, and the listerial surface protein ActA is involved in heparan sulfate receptor recognition. *Infect Immun* 1997; 65:78-88.

Los mecanismos por los cuales *Listeria* interacciona con las células del hospedador para penetrar en su interior no están claros. En este trabajo se demuestra que la adherencia e invasión de los fagocitos por *L. monocytogenes* está probablemente mediada por unos receptores del tipo heparan-sulfato proteoglicanos que se unirían a un receptor específico de la región N-terminal de la proteína ActA de la superficie bacteriana.

SOUTHWICK FS, PURICH DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. N Engl J Med 1996; 334:770-776.

Se revisan los mecanismos por los que *Listeria* sobrevive en el interior de las células y consigue diseminarse a otras células. Las conclusiones se usan para intentar explicar algunos aspectos epidemiológicos, clínicos y de tratamiento de la listeriosis.