

Proyectos relacionados con diversidad, ecología, desplazamiento, virulencia y potencial biotecnológico de cepas de *Listeria* spp. aisladas en Costa Rica a partir de muestras alimentarias, clínicas y ambientales


Research projects about diversity, ecology, movement, virulence and biotechnological potential of *Listeria* spp. isolated in Costa Rica from food, clinic and environmental samples


Kattia Núñez-Montero¹, Luis Barboza-Fallas², Rossy Guillén-Watson³, Olga Rivas-Solano⁴, Johnny Peraza-Moraga⁵


Núñez-Montero, K; Guillén-Watson, R; Rivas-Solano, O; Peraza-Moraga, J. Proyectos relacionados con diversidad, ecología, desplazamiento, virulencia y potencial biotecnológico de cepas de *Listeria* spp. aisladas en Costa Rica a partir de muestras alimentarias, clínicas y ambientales. *Tecnología en Marcha*. Especial 2019. 25 Aniversario del Centro de Investigación en Biotecnología. Pág 104-113.


 <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4637>

1 Ingeniera en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Costa Rica. Correo electrónico: knunez@tec.ac.cr.  <https://orcid.org/0000-0002-8629-5107>

2 Ingeniero en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Costa Rica. Correo electrónico: luis12barboza@gmail.com.  <https://orcid.org/0000-0001-8381-3696>

3 Ingeniera en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Costa Rica. Correo electrónico: roguillen@tec.ac.cr.  <https://orcid.org/0000-0003-0388-2910>

4 Ingeniera en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Costa Rica. Correo electrónico: orivas@tec.ac.cr.  <https://orcid.org/0000-0003-0990-149X>

5 Biólogo, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Costa Rica. Correo electrónico: jperaza@tec.ac.cr.  <https://orcid.org/0000-0001-7769-1944>



Palabras claves

Listeria monocytogenes; *Listeria costaricensis*; aislamiento; suelos; ambiente; comunidades bacterianas.

Resumen

El género *Listeria* está compuesto por más de 15 especies, que pueden ser aisladas de diferentes ambientes, incluyendo vegetación, suelo, agua y animales. *L. monocytogenes* ha sido mundialmente estudiada como un modelo de patogénesis intracelular, lo cual ha permitido descifrar información importante sobre el comportamiento del patógeno, como es el caso de la respuesta a la actividad antibiótica intracelular, transcripción de genes durante la vida intracelular y desarrollo de modelos *in vivo* para el estudio de infecciones. Costa Rica es una de las naciones del mundo más ricas biológicamente siendo de interés para estudios de diversidad genética en organismos. Por lo tanto, la mayoría de los estudios realizados en el país se centran en el aislamiento de *Listeria* spp. para determinar la presencia o ausencia del microorganismo en muestras de interés, siendo las alimenticias las más analizadas. La poca información genética sobre estas bacterias llevó a que investigadores del Centro de Investigación en Biotecnología del TEC, junto con colaboradores nacionales e internacionales, realizarán el primer estudio sobre la diversidad genética de *Listeria* spp. en Costa Rica. Desde entonces los proyectos de investigación en *Listeria* spp. que se han desarrollado actualmente en el CIB tienen un alcance científico que permiten la comprensión de las bacterias presentes en nuestro ambiente, su potencial patogénico, trazabilidad, control de contaminación y potencial biotecnológico. Asimismo, se pretende mantener y fortalecer las colaboraciones importantes tanto nacionales como internacionales con miras a formar una red orientada a la investigación aplicada al sector de las infecciones alimentarias del país.

Keywords

Listeria monocytogenes; *Listeria costaricensis*; isolation; soils; environment; bacterial communities.

Abstract

The genus *Listeria* is composed of more than 15 species, which can be isolated from different environments, including vegetation, soil, water and animals. *L. monocytogenes* has been studied worldwide as a model of intracellular pathogenesis, which has allowed deciphering important information on the behavior of the pathogen, such as the response to intracellular antibiotic activity, transcription of genes during intracellular life and development of *in vivo* models for the study of infections. Costa Rica is one of the most biologically rich nations in the world, being of interest for studies of genetic diversity in organisms. Therefore, most studies conducted in the country focus on the isolation of *Listeria* spp. to determine the presence or absence of the microorganism in samples of interest, being the foodstuffs the most analyzed. The little genetic information on these bacteria, led researchers from the Biotechnology Research Center of TEC, together with national and international collaborators, to carry out the first study on the genetic diversity of *Listeria* spp. in Costa Rica. Since then the research projects in *Listeria* spp. that have been developed at the CIB have a scientific scope that allow the understanding of the bacteria present in our environment, their pathogenic potential, traceability, contamination control and biotechnological potential. Likewise, it is intended to maintain and strengthen important national and international collaborations with a view to forming a network oriented to research applied to the sector of food infections in the country.



Características del género *Listeria*

El género *Listeria* está compuesto por más de 15 especies [1], [2], entre ellas: *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. rocourtii*, *L. marthii*, *L. grayi*, *L. flesichmannii*, *L. weihenstephanensis*, *L. ivanovii* y *L. monocytogenes*, estas dos últimas son conocidas por su patogenicidad en animales y humanos. Se ha demostrado que las especies de *Listeria* spp. pueden ser aisladas de diferentes ambientes, incluyendo vegetación, suelo, agua y animales [1].

L. monocytogenes es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que puede ser aislada de una gran diversidad de ambientes, incluyendo suelos, aguas y alimentos de diversos tipos. *L. monocytogenes* causa graves infecciones, tanto localizadas como generalizadas, en humanos, aves y en gran diversidad de mamíferos [3]. En humanos, se considera un patógeno de transmisión alimentaria que puede causar septicemia, meningitis, encefalitis e infecciones intrauterinas. Estas últimas pueden conducir a abortos espontáneos cuya cantidad varía dependiendo de la población infectada y de la virulencia de las cepas. La enfermedad, por lo general, empieza con síntomas parecidos a los de la gripe aproximadamente horas después de la infección [4]. A pesar de que se trata de un patógeno bien conocido, en la actualidad continúa cobrando cientos de vidas humanas alrededor del mundo [5], y en los últimos años ha habido gran preocupación por el aumento de casos de listeriosis [6].

Además de su importancia clínica, *L. monocytogenes* ha sido mundialmente estudiada como un modelo de patogénesis intracelular, lo cual ha permitido descifrar información importante sobre el comportamiento del patógeno, como es el caso de la respuesta a la actividad antibiótica intracelular, transcripción de genes durante la vida intracelular [7] y desarrollo de modelos *in vivo* para el estudio de infecciones [8]. Desde finales de 1980, los estudios realizados en biología celular combinado con biología molecular y genómica han elucidado la estrategia utilizada por *L. monocytogenes* para ingresar al hospedero, multiplicarse y propagarse entre célula-célula. Estos estudios identificaron y caracterizaron los factores de virulencia involucrados en el ciclo intracelular, además, de los mecanismos de regulación que modulan la virulencia [9]. *L. monocytogenes* se caracteriza por tener una alta heterogeneidad en la virulencia, lo cual se ha identificado tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*. Gran parte de las cepas son naturalmente virulentas y capaces de producir alta mortalidad; en cambio existen otras que son avirulentas e incapaces de establecer una infección dentro del hospedero [10]. Las diferencias en la virulencia entre las cepas de *L. monocytogenes* pueden deberse a polimorfismos en las secuencias nucleotídicas de estos genes, debido a mutaciones puntuales y/o la presencia o ausencia de algún gen de virulencia [11]. En un sub-grupo de cepas de *L. monocytogenes* pertenecientes al linaje I, se ha identificado la producción de un factor de virulencia adicional conocido como listeriolisina S [LLS], el cual es responsable del aumento de la virulencia en *L. monocytogenes*. LLS se encuentra codificada en una nueva isla de patogenicidad, designada como LIPI-3 y corresponde a una citolisina, que pertenece a la familia de la estreptolisina S [SLS] [12]. Se ha determinado que su presencia está asociada con el aumento de la virulencia de las cepas, lo cual contribuye a la citotoxicidad y a la activación inflamatoria [13]. Además, se ha demostrado que la LLS juega un rol en la sobrevivencia de *L. monocytogenes* y contribuye a su virulencia *in vivo*. LIPI-3 sólo ha sido identificada en algunas cepas del linaje I y muchas de éstas han estado implicadas en brotes de listeriosis; por lo tanto, es necesario distinguir aquellas cepas que son productoras de LLS [12].

En alimentos de origen casero, artesanal y en ferias del agricultor, el porcentaje de productos contaminados con *Listeria* spp. aumenta cuando no se aplican controles de calidad en la manipulación de los alimentos [14]. Por consiguiente, esto incrementa el riesgo de contraer alguna enfermedad provocada por la exposición a alimentos o ambientes con presencia de *L. monocytogenes*. A nivel mundial, la preocupación es creciente respecto al impacto en la

salud pública como consecuencia de las distintas prácticas que se aplican en la enmienda de suelos, sumado a los pocos controles que existen para la valoración de patógenos en suelos cultivables [14], [15]. En muchos países, incluyendo Costa Rica, continúa siendo un reto el aumentar el conocimiento sobre la prevalencia y colonización de patógenos en suelos según las prácticas de explotación realizadas en los terrenos, con miras al establecimiento de controles para asegurar la inocuidad de los productos alimenticios derivados de dichas prácticas; ya que los patógenos bacterianos tienen habilidades que les permiten ser altamente persistentes en suelos, por lo que es difícil identificar cómo y cuáles factores antropogénicos pueden modificar su circulación e incidencia en la biosfera de forma natural [16].

Impacto de las infecciones transmitidas por alimentos

Las enfermedades debidas al consumo de alimentos contaminados con microorganismos han tenido un gran impacto a lo largo de la historia, tanto en la economía, como en la salud pública alrededor del mundo, la atención principal se ha centrado en las bacterias patógenas como *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp., encontradas con facilidad en América del Norte; así como *Yersinia*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, que pueden adaptarse y sobrevivir a una gran variedad de ambientes y condiciones [17], [18].

Se estima que sólo en Estados Unidos, 48 millones de personas son víctimas de intoxicaciones alimentarias causadas por patógenos, 128000 terminan hospitalizadas y 3000 mueren anualmente. Entre los 31 patógenos conocidos, que son transmitidos por alimentos, las especies de *Salmonella*, *Toxoplasma*, *Listeria*, y *norovirus* son causantes de la mayor cantidad de muertes; representando *Salmonella typhimurium* un 29%, *Toxoplasma gondii* un 23% y *L. monocytogenes* un 20% del total de muertes [19].

Estudios previos sobre *Listeria* spp. en Costa Rica

Costa Rica, por ser una de las naciones del mundo más ricas biológicamente, resulta de interés para estudios de diversidad genética en organismos. Este interés aplica para microorganismos procariotas como las bacterias, algunas de ellas estudiadas a fondo por las implicaciones directas con el ser humano. Este es el caso de *Listeria* spp., una bacteria patogénica en humanos y otros vertebrados, cuyo estudio ha permitido entre otros desentrañar los mecanismos celulares y moleculares implicados en los procesos de invasión de parásitos intracelulares humanos.

Particularmente *Listeria* spp. no se encuentra dentro del grupo de bacterias de vigilancia obligatoria por el Ministerio de Salud de Costa Rica. Esto quiere decir que los centros médicos nacionales no se encuentran en la obligación de detectar y reportar cepas de *Listeria* en la población costarricense. Además, con respecto a la elaboración y venta de alimentos, no existe una norma que exija la ausencia de *Listeria* en los productos de consumo nacional, como es el caso de los alimentos de exportación e importación, los cuales deben certificar la ausencia de este grupo de bacterias. Debido a esto, el conocimiento sobre *Listeria* spp. en alimentos, *L. monocytogenes* en casos clínicos y las características genéticas de estas cepas es muy limitado en Costa Rica.

La mayoría de los estudios realizados en el país se centran en el aislamiento de *Listeria* spp. para determinar la presencia o ausencia del microorganismo en muestras de interés, siendo las alimenticias las más analizadas. En el ámbito clínico solamente existe un reporte de *L. monocytogenes* realizado por Schuchat *et al.*, [20]. El estudio se basó en un brote de listeriosis neonatal en el año 1989, del cual se aisló *L. monocytogenes* de 9 recién nacidos infectados por el uso de aceite mineral contaminado, el cual era utilizado para limpiar a los neonatos después



del nacimiento. Como consecuencia, en Costa Rica se dejó de utilizar el aceite mineral en recién nacidos.

Seguidamente, en 1991 se realizó un análisis para determinar la presencia de *L. monocytogenes* en muestras de alimentos, encontrándose distintas especies de *Listeria* en queso blanco, helado, pescado, pollo y camarón fresco. Este estudio reveló, por primera vez en Costa Rica, la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos [21]. Posteriormente se han realizado múltiples reportes que indican la presencia de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* en todos los tipos de alimentos producidos en el país, incluyendo 14% de presencia en 220 muestras de leche cruda [22], 32% en muestras de 50 ensaladas [23], 65% en muestras de pescado fresco de 67 pescaderías del área metropolitana [24], 12% en 65 muestras de helado [25], presencia en múltiples muestras de leche [26], queso blanco no pasteurizado [27] y pulpas de frutas [28]. Con esto se hace evidente que en Costa Rica existe riesgo de contraer alguna enfermedad provocada por la exposición a alimentos o ambientes con presencia de *L. monocytogenes* [29].

Otros estudios también han descrito la resistencia a ampicilina de 5 cepas de *L. monocytogenes* aisladas de pacientes, la capacidad de formación de biopelículas de cepas de *L. monocytogenes* aisladas a partir de queso tierno de origen costarricense [30] y la optimización de protocolos de reacción en cadena de la polimerasa [PCR] para la identificación de *L. monocytogenes* [31].

Las investigaciones de *Listeria* spp. realizadas en el Centro de Investigación en Biotecnología del TEC corresponden al primer estudio sobre la diversidad genética de *Listeria* spp. en Costa Rica. Los proyectos de investigación en *Listeria* spp. que se han realizado y se desarrollan actualmente en el CIB tienen un alcance científico que permitirá la comprensión de las bacterias presentes en nuestro ambiente, su potencial patogénico, trazabilidad, control de contaminación y potencial biotecnológico.

Proyecto “Diversidad de *Listeria* spp. en Costa Rica: Un estudio de la genómica, transcriptómica y patogénesis”: 2015-2016

Este proyecto surgió ante la necesidad de generar información sobre la diversidad genética de las cepas de *Listeria* spp. en Costa Rica, además de generar alternativas en su identificación y estudio molecular. Bajo la coordinación del MSc. Johnny Peraza y en conjunto con la Ing. Kattia Núñez se formuló un estudio exploratorio para la descripción de la diversidad genética de este género bacteriano en Costa Rica. Además, se contó con la participación de la Dra. Fabiola Jiménez del CEQUIATEC y con la colaboración del Dr. Javier Pizarro Cerdá de la Unidad de Interacción Bacteria-Célula del Instituto Pasteur, París, Francia, centro especializado en el estudio de *L. monocytogenes* como modelo para el estudio de la invasión celular.

Este proyecto contó con financiamiento de la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del TEC y permitió establecer una colección de 182 cepas de *Listeria* spp., registrada ante CONAGEBIO bajo el código R-CM-ITCR-001-2016-OT. Estas cepas fueron aisladas de todas las provincias del país, a partir de muestras alimentarias, ambientales y clínicas. En colaboración con el Instituto Pasteur, en París, Francia, se secuenció el genoma completo de los aislamientos y se realizaron estudios filogenéticos para determinar relaciones genéticas entre los mismos, según distribución geográfica y tipo de muestra, lo cual contribuyó al estudio de la epidemiología de patógenos transmitidos por alimentos en Costa Rica. Adicionalmente, se optimizaron cuatro protocolos para la caracterización e identificación molecular de *Listeria* spp. y se logró aplicar por primera vez la técnica de *Multi-Locus sequence Typing* (MLST) para la genotipificación de cepas costarricenses de *L. monocytogenes*. Por su parte, el análisis genómico permitió determinar que Costa Rica cuenta con una alta frecuencia de cepas de *L. monocytogenes*

que han sido catalogadas como hipervirulentas. Otro hallazgo importante del proyecto fue el descubrimiento de una nueva especie de *Listeria*, denominada *L. costaricensis*.

Descubrimiento de la nueva especie *L. costaricensis*

A partir de una muestra de desagüe de una industria alimenticia, se consiguió la obtención de una cepa del género *Listeria* pero sin coincidencias genéticas que la asociaran a alguna de las 17 especies previamente conocidas. Tampoco se consiguió identificar la especie mediante técnicas de espectrometría de masas (MALDI-TOF MS), secuenciación de ARN 16S y test de perfil bioquímico. Debido a esto, se procedió con los análisis que confirmaron el descubrimiento de una nueva especie, la cual fue denominada *L. costaricensis*, haciendo honor a la diversidad microbiana que puede tener nuestro país.

El genoma de *L. costaricensis* fue secuenciado y analizado, mostrando que filogenéticamente se encuentra más relacionada a las especies *L. fleishmannii*, *L. floridensis* y *L. aquatica*. Por su parte, las características bioquímicas la ubican cerca de las especies más emparentadas con *L. monocytogenes*, grupo conocido como “*sensu stricto*”.

L. costaricensis es una bacteria Gram-positiva, con forma de bacilo. No posee cápsula, ni produce esporas, figura 1b. En medio Brain Heart Infusion (BHI) forma colonias opacas de color amarillo, figura 1a. Su crecimiento óptimo es entre 30 y 37°C, pudiendo crecer desde los 22 a 42°C. Es móvil a 37°C y es negativa para la prueba de catalasa, lo cual la diferencia de las demás especies de *Listeria*. Esta cepa se encuentra depositada en las colecciones mundiales de microorganismos DSMZ – *German Collection for Microorganisms and Cell Cultures GmbH* (Braunschweig, Alemania) y CIP- *Collection of Institut Pasteur* (Paris, Francia).

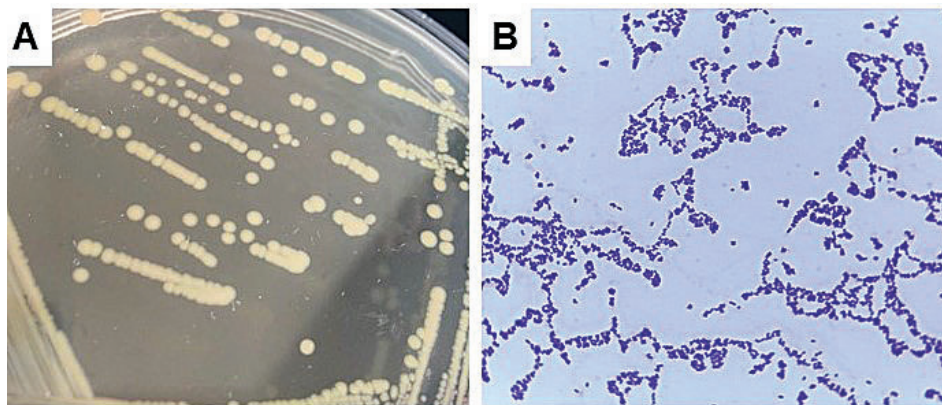


Figura 1. a) Colonias de *L. costaricensis* crecidas en medio BHI (Brain Heart Infusion). b) Tinción de Gram positiva en colonia de *L. costaricensis*, observada en el microscopio óptico en aumento de 100X.

L. costaricensis no produce hemólisis y no posee genes de virulencia conocidos, por lo que probablemente no sea un organismo patógeno para el ser humano, pero su estudio puede ayudar a comprender los mecanismos que rigen la supervivencia de otras especies de *Listeria* en el ambiente y permitirá el estudio futuro de potenciales moléculas con actividad antimicrobiana, como la Listeriolisina S descrita recientemente en *Listeria monocytogenes* [32], [33], [34].



Proyecto “Ecología de *Listeria monocytogenes* en suelos de Costa Rica: Estudio ambiental de un patógeno humano”: 2017-2018

Este proyecto surge con la finalidad de esclarecer los factores bióticos y abióticos que permiten la presencia de *Listeria* spp. en los suelos de Costa Rica, principalmente en suelos agrícolas y ganaderos, con la hipótesis de que estos pueden ser la fuente primaria de contaminación de alimentos con *L. monocytogenes*. La comprensión de los factores ecológicos que rigen la vida y comportamiento de *Listeria* spp. en el ambiente es muy limitada, en comparación a la gran cantidad de información que se conoce sobre la vida del patógeno dentro del organismo hospedero. Un mayor entendimiento de estos factores puede ser de gran importancia para la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos e incluso servir de modelo para otros organismos patógenos cuyo nicho primario es el suelo.

Este proyecto contó además con la participación de la MSc. Olga Rivas, el PhD. Federico Masis y la Ing. Rossy Guillén, además fue financiado por la VIE. Consistió en analizar los factores bióticos y abióticos de suelos donde se ha logrado aislar *Listeria* spp. También permitió continuar con el aislamiento de más cepas, a las que se les secuenció el genoma completo. Con esto se logró ampliar la colección de cepas, así como la base de datos con las secuencias de ADN de sus genomas completos. Asimismo, se pudo correlacionar ciertos factores abióticos que permiten la incidencia de *L. monocytogenes* [resultados pronto a publicarse]. De la misma forma, se están estudiando los metagenomas de las comunidades bacterianas que se encuentran asociadas al género *Listeria* spp. en suelos de los diferentes puntos de muestreo que se analizaron durante este proyecto [resultados pronto a publicarse], para evidenciar también las estructuras microbianas asociadas con la supervivencia, incidencia y circulación de *L. monocytogenes*.

Proyecto “Estudio del desplazamiento en suelo, virulencia y potencial biotecnológico de cepas de *Listeria* spp. aisladas en Costa Rica”: 2019-2022

Como continuación de las investigaciones anteriores, este año el grupo de investigación propuso el proyecto denominado: “Estudio del desplazamiento en suelo, virulencia y potencial biotecnológico de cepas de *Listeria* spp. aisladas en Costa Rica”.

Uno de los principales problemas que se han identificado, es que los estudios previos en *L. monocytogenes* a nivel global se han enfocado principalmente en comprender la patogénesis de esta bacteria en los mamíferos y la respuesta inmune a la infección bacteriana, dejando de lado las investigaciones que explican cómo esta bacteria sobrevive en el suelo y logra colonizarlo. Se sabe que *L. monocytogenes* se adapta muy bien en el medio ambiente, específicamente en el suelo y la materia vegetal en descomposición, lo que le permite contaminar fácilmente alimentos crudos, procesados y/o elaborados con leche no pasteurizada, e incluso puede sobrevivir varias semanas en algunos alimentos congelados, facilitando el contagio a los humanos. Por este motivo, la presente investigación pretende establecer un modelo para visualizar la movilidad y el transporte de *L. monocytogenes* en suelos, para así comprender mejor sus procesos de colonización y supervivencia. Los resultados obtenidos permitirán generar insumos para aumentar la inocuidad alimentaria en cultivos tratados con enmiendas de suelos. Otro problema que se ha detectado a raíz de los proyectos desarrollados es que actualmente no existe en el país una red de vigilancia epidemiológica para *L. monocytogenes*, ya que no existe información sobre los fenotipos de virulencia ni de resistencia a antibióticos que circulan en Costa Rica. Tampoco hay información sobre el potencial biotecnológico de aislamientos autóctonos no patogénicos, los cuales podrían estar desempeñando un papel clave en la ecología microbiana de suelos en nuestro país. Se busca utilizar la colección de cepas de

Listeria spp. del CIB, así como la base de datos con las secuencias de sus genomas, para estudiar la presencia de genes de virulencia y genes de resistencia a antimicrobianos en las cepas patógenas autóctonas, así como la presencia de genes asociados a rutas metabólicas de utilidad biotecnológica en las cepas no patógenas, como por ejemplo la nueva especie *L. costaricensis*. Los resultados obtenidos podrán utilizarse a futuro para justificar una red de vigilancia nacional de *L. monocytogenes* y para plantear nuevas aplicaciones biotecnológicas basadas en el uso de recursos biológicos autóctonos.

Colaboración nacional e internacional

El proyecto ha contado con importantes colaboraciones a nivel nacional e internacional. En el primer caso, destacan el Centro de Referencia en Bacteriología del INCIENSA, el Centro de Investigación y Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC), el Laboratorio de Análisis Microbiológico Suplilab y el Laboratorio de Alimentos de la UCR. A nivel internacional destacan la Unidad de Interacción Bacteria Célula y Centro de Referencia de *Listeria*, ambos del Instituto Pasteur en París, Francia. Además, en el presente proyecto se colaborará con la Universidad de la Frontera en Araucanía, Chile, donde la Ing. Kattia Núñez Montero realiza actualmente sus estudios doctorales. También se contará con la colaboración de la Universidad Cardenal Herrera en Valencia, España. Todo este trabajo colaborativo ha permitido dar un enfoque multidisciplinario a los proyectos, así como un abordaje más integral del tema de estudio.

Importancia e impacto

Además del aporte científico que nuestros proyectos han generado al conocimiento de *Listeria* spp. en Costa Rica, también se ha fomentado la formación profesional incluyendo la participación de 16 asistentes de investigación, estudiantes de la carrera de ingeniería en biotecnología, el desarrollo de 4 tesis de pregrado, 2 tesis de grado y un proyecto estudiantil. Por último, el proyecto ha impulsado una tesis del programa de Maestría en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción, el cual cuenta con la colaboración del estudiante de posgrado, el Ingeniero en biotecnología Luis Barboza Fallas.

Conclusiones

Los proyectos de investigación en *Listeria* spp. desarrollados en el CIB tienen un alcance científico que permite la comprensión de las bacterias presentes en nuestro ambiente, su potencial patogénico, trazabilidad, control de contaminación y potencial biotecnológico. A futuro, vislumbramos mantener y fortalecer las colaboraciones con miras a formar una red orientada a la investigación aplicada al sector de las infecciones alimentarias en Costa Rica. También se tiene la expectativa de continuar aplicando tecnologías de vanguardia para generar conocimientos que permitan un mejor control de estos patógenos, así como dar trazabilidad desde su fuente primaria de contaminación. Además, esperamos en un futuro aplicar la experiencia generada al estudio de otras bacterias patógenas y a su control mediante la búsqueda de metabolitos que inhiban su crecimiento.

Referencias

- [1] B. D. Souders *et al*, "Diversity of *Listeria* species in urban and natural environments," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 78, (12), pp. 4420-4433, 2012.
- [2] H. C. den Bakker *et al*, "*Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 64, (6), pp. 1882-1889, 2014.
- [3] J. A. Vázquez-Boland *et al*, "*Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, (3), pp. 584-640, 2001.
- [4] D. Liu, "Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen," *J. Med. Microbiol.*, vol. 55, (6), pp. 645-659, 2006.
- [5] S. Alcayaga and B. Hott, "*Listeria* y listeriosis: un desafío de los nuevos tiempos," *Revista Chilena De Salud Pública*, vol. 12, (3), pp. 188-195, 2008.
- [6] V. Chenal-Francisque *et al*, "Worldwide distribution of major clones of *Listeria monocytogenes*," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 17, (6), pp. 1110, 2011.
- [7] T. Schultze *et al*, "A detailed view of the intracellular transcriptome of *Listeria monocytogenes* in murine macrophages using RNA-seq," *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, pp. 1199, 2015.
- [8] C. Andersson, J. Gripenland and J. Johansson, "Using the chicken embryo to assess virulence of *Listeria monocytogenes* and to model other microbial infections," *Nature Protocols*, vol. 10, (8), pp. 1155, 2015.
- [9] A. Vera *et al*, "Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación," *Revista Chilena De Infectología*, vol. 30, (4), pp. 407-416, 2013.
- [10] M. Olier *et al*, "Assessment of the pathogenic potential of two *Listeria monocytogenes* human faecal carriage isolates," *Microbiology*, vol. 148, (6), pp. 1855-1862, 2002.
- [11] P. Velge and S. M. Roche, "Variability of *Listeria monocytogenes* virulence: a result of the evolution between saprophytism and virulence?" *Future Microbiology*, vol. 5, (12), pp. 1799-1821, 2010.
- [12] E. M. Clayton *et al*, "Real-time PCR assay to differentiate listeriolysin S-positive and-negative strains of *Listeria monocytogenes*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, (1), pp. 163-171, 2011.
- [13] V. Nizet *et al*, "Genetic locus for streptolysin S production by group A streptococcus," *Infect. Immun.*, vol. 68, (7), pp. 4245-4254, 2000.
- [14] I. L. Pepper *et al*, "Pathogens and indicators in United States Class B biosolids: National and historic distributions," *J. Environ. Qual.*, vol. 39, (6), pp. 2185-2190, 2010.
- [15] T. O. Rahube *et al*, "Impact of fertilizing with raw or anaerobically digested sewage sludge on the abundance of antibiotic-resistant coliforms, antibiotic resistance genes, and pathogenic bacteria in soil and on vegetables at harvest," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 80, (22), pp. 6898-6907, 2014.
- [16] A. Vivant, D. Garmyn and P. Piveteau, "*Listeria monocytogenes*, a down-to-earth pathogen," *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 3, pp. 87, 2013.
- [17] M. Gandhi and M. L. Chikindas, "*Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 113, (1), pp. 1-15, 2007.
- [18] U. Lyhs *et al*, "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in poultry meat products on the Finnish retail market," *Acta Vet. Scand.*, vol. 54, (1), pp. 64, 2012.
- [19] E. Scallan *et al*, "Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens," *Emerging Infectious Diseases*, vol. 17, (1), pp. 7, 2011.
- [20] A. Schuchat *et al*, "Outbreak of neonatal listeriosis associated with mineral oil." *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 10, (3), pp. 183-189, 1991.
- [21] R. Ellner, D. Utzinger and V. García, "Aislamiento de *Listeria* sp. de diversos alimentos en Costa Rica," *Rev Cost Cienc Med*, vol. 12, pp. 82-86, 1991.
- [22] M. L. Arias *et al*, "Occurrence of the bacteria *Listeria* spp. in raw milk in Costa Rica," *Revista De Biología Tropical*, pp. 711-713, 1994.
- [23] R. Monge and M. L. Arias-Echandi, "*Listeria monocytogenes* in fresh salad vegetables." *Rev Biomed*, vol. 10, pp. 29-31, 1999.
- [24] M. Bianchini *et al*, "*Listeria monocytogenes* incidence and evaluation of the sanitary quality of filleted fresh fish from the Metropolitan Area of San José," *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 49, (4), pp. 358-362, 1999.

- [25] P. Windrantz and M. L. Arias, "Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica," *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 50, (3), pp. 301-303, 2000.
- [26] A. Reuben *et al*, "Presencia de Escherichia coli O157: H7, Listeria monocytogenes y Salmonella spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica." *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 53, (4), pp. 389-392, 2003.
- [27] C. Cháves and M. L. Arias, "Caracterización de cepas de Listeria monocytogenes realizados a partir de queso fresco proveniente de diferentes zonas productoras costarricenses," *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, vol. 59, (1), pp. 66-70, 2009.
- [28] J. von Breymann, C. Chaves and M. L. Arias, "Análisis de la calidad microbiológica y potencial presencia de Listeria monocytogenes en pulpas de guanábana (*Annona muricata*), mango (*Mangifera indica*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) costarricenses," *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, vol. 63, (1), pp. 53-57, 2013.
- [29] G. Kopper, G. C. Calderon and G. Gutierrez, "No title," *Enfermedades Transmitidas Por Alimentos Y Su Impacto socioeconómico Estudios De Caso En Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras Y Nicaragua*, 2009.
- [30] G. Carrillo Zeledón, M. Redondo Solano and M. L. Arias Echandi, "Capacidad de formación de biopelículas de cepas de Listeria monocytogenes aisladas a partir de queso tierno de origen costarricense," *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, vol. 60, (2), pp. 175-178, 2010.
- [31] M. L. Arias, C. Chaves and G. Solano, "Evaluación de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la detección e identificación de Listeria monocytogenes en queso fresco proveniente del Área Metropolitana de San José, Costa Rica," *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, vol. 60, (4), pp. 391-396, 2010.
- [32] P. D. Cotter *et al*, "Listeriolysin S, a novel peptide haemolysin associated with a subset of lineage I Listeria monocytogenes," *PLoS Pathogens*, vol. 4, (9), pp. e1000144, 2008.
- [33] J. J. Quereda *et al*, "Bacteriocin from epidemic Listeria strains alters the host intestinal microbiota to favor infection," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 113, (20), pp. 5706-5711, 2016.
- [34] J. J. Quereda *et al*, "Listeriolysin S is a streptolysin S-like virulence factor that targets exclusively prokaryotic cells in vivo," *MBio*, vol. 8, (2), pp. 259, 2017.