

M-18

## DETECCIÓN DE *Listeria sp* Y *Listeria monocytogenes* EN MUESTRAS DE POLLO CRUDO Y DE CUERPOS DE AGUA DE LA REGIÓN MEDIANTE PCR

Cantú Ramírez Rubén, Ávila Aguilar Selene, Sierra Juárez Graciela, Cruz Pulido Wendy, Rivera Sánchez Gildardo, Bocanegra García Virgilio.

Departamento de Biología Molecular y Bioingeniería. U. A. M. Reynosa-Aztlán. U.A.T.

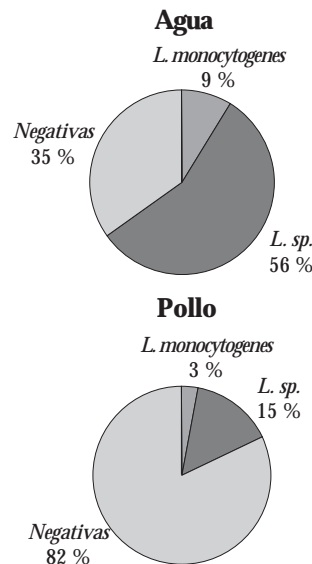
**Palabras clave:** *Listeria*, PCR, inocuidad de alimentos.

**Introducción:** El género *Listeria* comprende bacilos gram positivos no formadores de esporas, catalasa positivo y oxidasa negativo, presentan flagelos peritricos que les confieren movilidad, crece en un amplio rango de temperatura de -0.4 a 50 °C. Entre las especies incluidas en este género, *Listeria monocytogenes* es la única implicada en patología humana. Las especies de *Listeria* están muy distribuidas 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, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. Debido a su amplia distribución este microorganismo tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos y aguas, y es importante contar con métodos rápidos y confiables para su detección.<sup>1,2,3</sup>

**Objetivo:** Determinar la prevalencia *Listeria sp* y de *L. monocytogenes* en muestras de agua y pollo crudo mediante PCR

**Materiales y métodos:** **Muestreo,** se obtuvieron 34 muestras de los diversos cuerpos de agua de Matamoros y Reynosa y 67 muestras de pollo crudo, a partir de estas muestras se llevó a cabo un enriquecimiento no selectivo y lisis por calor, el lisado obtenido se utilizó para la detección molecular. **Estandarización,** Para la estandarización se llevó a cabo una curva de reacción en las siguientes condiciones de reacción: Buffer de magnesio (10 mM Tris-HCl pH 9, 50 mM KCl, 0.1% Tritón X-100), 0.2 mM de dNTPs, 0.1 μM de cada iniciador, 0.25 U de Taq polimerasa y 80 ng de DNAg, o 5 μL de lisados bacterianos. Las concentraciones de la curva fueron desde 1, 1.5, 2 y 2.5 mM, a condiciones de reacción de PCR fueron 95°C, 50°C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos y 45°C por 20 segundos, para obtener un amplicón de 234 pb para *L. monocytogenes* y de 120 pb para *L. sp*.<sup>4</sup> Después de esto se realizó una amplificación para probar especificidad, la cual consistía en realizar una lisis de una mezcla de distintos géneros de bacterias (*S. aureus*, *E. coli enterohemorrágica* y *L. monocytogenes* y *L. innocua*) y a partir de ese lisado amplificar el gen de la hemolisina con las condiciones de amplificación previamente, obteniendo la banda correspondiente al amplicón de 234 pb.

**Resultados:** Se logró obtener amplificación selectiva de *Listeria sp* de *Listeria monocytogenes* y se detectó la presencia de *Listeria sp* y *L. monocytogenes* en las muestras de pollo y de agua. Los resultados se muestran en la figura 1.



**Figura 1.** Prevalencia de *L. sp* y *L. monocytogenes* en muestras de agua y de pollo crudo.

**Conclusiones:** El sistema de amplificación permite a detección del gen de la hemolisina a partir de DNA de *L. monocytogenes* puro, de lisado de *L. monocytogenes* y de lisado de varios géneros de bacterias, sin que se presente interferencia, por lo que el método es adecuado para aplicarse a la detección cualitativa de *L. monocytogenes* en alimentos y en cuerpos de agua, así como para la detección de *Listeria sp*. Existe una distribución considerable de *Listeria sp* en los cuerpos de agua de la región, sin embargo la prevalencia de *L. monocytogenes* es baja.

### REFERENCIAS

- Vázquez-Boland J, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, et al. *Listeria* Pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(3): 584-640.
- Farber J, Peterkin P. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological reviews* 1991; 55: 476-511.
- Cocolin L, Rantsiou K, Iacumin L, Cantoni C, Comi G. Direct identification in food samples of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* by molecular methods. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 6273-6282.
- Wang R, Cao W, Cerniglia C. A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods. *J Appl Microbiol* 1997; 83:727-736.