

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

- TÍTULO:** EVALUACIÓN DE LOS MECANISMOS DE SUPERVIVENCIA DE CEPAS DE LISTERIA MONOCYTOGENES PERSISTENTES EN PLANTAS ALIMENTARIAS. // ASSESSMENT OF SURVIVAL MECHANISMS IN PERSISTENT LISTERIA MONOCYTOGENES STRAINS ISOLATED FROM FOOD PROCESSING INDUSTRIES.
- AUTORA:** MANSO GONZÁLEZ, BEATRIZ
- PROGRAMA DE DOCTORADO:** AVANCES EN CIENCIA Y BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIAS.
- FECHA LECTURA:** 28/06/2019
- HORA:** 11:30
- CENTRO LECTURA:** SALÓN DE ACTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE BURGOS.
- DIRECTORES:** DAVID RODRÍGUEZ LÁZARO  
BEATRIZ MELERO GIL
- TRIBUNAL:** JESÚS GARCÍA GIL  
ANA MARÍA DIEZ MATÉ  
LUCA COCOLIN  
ISABEL JAIME MORENO  
ROSA MARÍA CAPITA GONZÁLEZ
- RESUMEN:** Listeria monocytogenes es el agente etiológico responsable de la listeriosis, la quinta enfermedad más frecuente ligada a alimentos en la Unión Europea, según el último informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

El objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido profundizar en el conocimiento de la presencia de *L. monocytogenes* en la industria alimentaria y determinar las estrategias de supervivencia que es capaz de desarrollar para mantenerse en los ambientes de procesado y llegar al hospedador a través de alimentos contaminados. Para ello, se estudió la presencia y prevalencia de *L. monocytogenes* en tres industrias alimentarias: una industria cárnica, una empresa de elaboración de marisco y una industria láctea, todas ellas caracterizadas por presentar diferentes condiciones ambientales, materias primas y procesos de elaboración. El resultado de los diferentes muestreos reveló que los mayores niveles de prevalencia de *L. monocytogenes* se encontraron en la industria cárnica, aunque distintas cepas persistentes se aislaron de los tres ambientes de procesado.

Posteriormente, se utilizaron diferentes técnicas de tipificación (electroforesis de campo pulsado – PFGE-, tipado de secuencias multilocus –MLST- y tipado de secuencias de virulencia multilocus –MvLST-) junto a técnicas de biología molecular para clasificar y caracterizar a las diferentes cepas de *L. monocytogenes* en genotipos persistentes, potencialmente virulentos o con un carácter intermedio. Aquellos genotipos caracterizados como persistentes (ST9, ST121, ST204 y ST321) presentaron marcadores genéticos relacionados con una mejor adaptación a los ambientes de procesado, por ejemplo: tener la internalina A (InlA) truncada, presencia del transposón 6188 (Tn6188) y/o el conjunto génico bcrABC cassette, la isla de supervivencia 1 (SSI-1) o la isla de supervivencia 2 (SSI-2). Por otro lado, las cepas caracterizadas como potencialmente virulentas (ST1, ST87, ST388, ST6, ST29 y ST382) presentaban la proteína listeriolisina S (LLS) y la internalina A (InlA) completa permitiéndoles invadir células Caco-2. Posteriormente, la caracterización fenotípica reveló la existencia de genotipos que mostraban un comportamiento intermedio entre las cepas más persistentes y virulentas (ST5, ST8, ST2 y ST7), al ser menos

susceptibles a desinfectantes basados en amonios cuaternarios, capaces de formar biopelículas sobre superficies de PVC pero también de invadir células Caco-2. A pesar de que algunos genotipos mostraron resistencias a varias familias de antibióticos, todas las cepas fueron sensibles a los antibióticos utilizados en el tratamiento de la listeriosis. Excepcionalmente, se encontró que las cepas pertenecientes a los ST2, ST8, ST9 y ST204 mostraron resistencia o resistencia intermedia a la fosfomicina en los ensayos in vitro contradiciendo la sensibilidad habitual de *L. monocytogenes*.

Finalmente se comprobó, que las temperaturas de refrigeración atenuaron el efecto del estrés oxidativo al que fueron expuestas las cepas de *L. monocytogenes*, lo que también favoreció el aumento de la expresión del gen *hly* bajo estas condiciones.

Este trabajo de Tesis Doctoral aporta información muy relevante para la industria alimentaria para aplicar las metodologías y planes de muestreo más adecuados a las necesidades de cada industria para reducir o erradicar la presencia de *L. monocytogenes*.

**Palabras clave:** persistencia, virulencia, colonización, genotipado, respuesta al estrés.

**Keywords:** persistence, virulence, colonization, genotyping, stress response.