

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

**TÍTULO:** VARIABILITY OF LISTERIA MONOCYTOGENES RESPONSE TO HIGH HYDROSTATIC PRESSURE. A CASE STUDY ON MEAT PRODUCTS / VARIABILIDAD DE LA RESPUESTA DE LISTERIA MONOCYTOGENES A LAS ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS. UN CASO DE ESTUDIO EN PRODUCTOS CÁRNICOS

**AUTORA:** WILCHES PÉREZ, DIEGO FERNANDO  
**PROGRAMA DE DOCTORADO:** AVANCES EN CIENICA Y BIOTECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**FECHA LECTURA:** 03/02/2016  
**HORA:** 11:30

**CENTRO LECTURA:** FACULTAD DE CIENCIAS. SALÓN DE ACTOS  
**DIRECTORES/ES:** JORDI ROVIRA CARBALLIDO – ISABEL JAIME MORENO  
**TRIBUNAL:** JACINT ARNAU ARBOIX  
MARIE NICOLAS DE LAMBALLERIE  
ADOLFO J. MARTÍNEZ RODRÍGUEZ  
DAVID RODRÍGUEZ LÁZARO  
BEATRIZ MELERO GIL

**RESUMEN:** Según la Organización Mundial de la Salud, los alimentos contaminados con bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas, son la causa de más de 200 enfermedades. Se estima que aproximadamente dos millones de personas mueren anualmente como consecuencia de enfermedades relacionadas con el consumo de agua o los alimentos contaminados. Las enfermedades alimentarias son una amenaza para el desarrollo socioeconómico de las regiones, en tanto que desgastan los sistemas de atención sanitaria y conducen a malnutrición, fundamentalmente entre los grupos de población de niños, mayores e inmunodeprimidos. La globalización ha desencadenado una creciente demanda en la variedad alimentaria lo que resulta en una cadena alimentaria cada vez más compleja. Además, los cambios en el estilo de vida de la población, han incrementado el consumo de productos listos para consumir, lo que genera un aumento del riesgo de contaminación alimentaria por *Listeria monocytogenes*.

Desde 1980s, tras los primeros brotes alimentarios, el control de dicho patógeno se ha convertido en una prioridad para las autoridades de seguridad alimentaria a nivel mundial, por las graves consecuencias que ocasiona sobre la salud humana. Dentro de las enfermedades alimentarias, la listeriosis genera una de las mayores tasas de hospitalización y mortalidad.

Una de las tecnologías usadas para el control de *L. monocytogenes* es el procesamiento por altas presiones. El efecto letal sobre los microorganismos que ocasiona dicha tecnología se debe a los cambios moleculares inducidos por altas presiones hidrostáticas (hasta 600 MPa). Esta tecnología no térmica ha demostrado ser eficaz en el control de *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, tal eficacia depende de la diversidad intra-especie del patógeno objetivo y de la matriz alimentaria. Variaciones a nivel de cepa son las responsables de la habilidad que caracteriza a *Listeria monocytogenes* para soportar distintas

condiciones de estrés. La matriz alimentaria y los componentes de la misma pueden ejercer un efecto baroprotector. Por todo ello, la selección de aquellas condiciones de procesamiento que permitan una considerable inactivación del patógeno constituye un gran desafío para la industria. Por tanto, en la presente Tesis Doctoral se hipotetiza que la respuesta de *Listeria monocytogenes* al procesamiento por altas presiones depende de la cepa y que dicha variabilidad cepa a cepa podría estar afectada por la matriz alimentaria y las condiciones de procesamiento.

La primera parte del trabajo consistió en la selección de un número de cepas representativo de *L. monocytogenes* para cubrir la diversidad natural del patógeno. De las 120 cepas de partida pertenecientes a tres colecciones distintas, se escogieron 30 cepas. La selección se basó en una caracterización geno- y fenotípica y en la información en parte proporcionada por los proveedores de las colecciones. Las 30 cepas son representativas de los 4 linajes, de los 4 serogrupos, aisladas de casos clínicos y de alimentos, de brotes epidémicos y casos esporádicos y de diversos factores de virulencia de *Listeria monocytogenes*.

Tras la caracterización y selección de las cepas, se evaluó la respuesta (inactivación y daño subletal) de las cepas a altas presiones hidrostáticas en un buffer. La resistencia de *L. monocytogenes* en buffer se mostró variable cepa a cepa, dependiendo de las condiciones de procesamiento. La variabilidad entre cepas fue más notable en las condiciones intermedias de procesamiento. La mayoría de las cepas ofreció una resistencia intermedia-baja, observándose tres cepas considerablemente más tolerantes a la presión que el resto. La resistencia a la presión de las cepas no correlacionó con sus características geno- y fenotípicas (linaje, serogrupo, factores de virulencia, patogenicidad u origen).

Teniendo en cuenta que las matrices alimentarias influyen en el efecto letal generado por el procesamiento basado en altas presiones, se determinó la variabilidad cepa a cepa de la respuesta de *Listeria monocytogenes* frente a altas presiones, en este caso en matrices cárnicas. Se seleccionaron jamón cocido y jamón curado dada la importancia de estos productos en la industria cárnica española y los problemas asociados con la presencia de *L. monocytogenes* en los mismos. Se determinó la resistencia a la presión de 15 cepas de origen clínico y cárnico, observándose diferencias en la tolerancia a la presión a nivel de cepa. La variabilidad entre cepas dependió del tiempo de procesamiento (a 600 MPa) y de la matriz cárnica, encontrándose un mayor número de cepas resistentes a la presión en el jamón curado que en el cocido. Esto podría indicar un fenómeno de protección cruzada entre el estrés osmótico y el causado por la presión hidrostática. No se encontraron correlaciones entre la resistencia a la presión de las cepas de *L. monocytogenes* y características como el linaje, serogrupo, factores de virulencia, patogenicidad u origen, para ninguno de los productos cárnicos estudiados.

Los resultados de esta Tesis Doctoral sobre la variabilidad cepa a cepa del patógeno en cuestión, permitieron el diseño de un cóctel formado por cinco cepas resistentes a la presión, con el objeto de ser empleado en *challenge tests* de productos cárnicos procesados por altas presiones. El cóctel propuesto demostró ser resistente frente a altas presiones hidrostáticas en la mayoría de las matrices cárnicas evaluadas, con la excepción de los cárnicos curados-fermentados, probablemente debido a la sensibilidad a la acidez de una o más de las cepas

incluidas.

Una cepa de *Listeria innocua* aislada de carne fue incluida a lo largo del estudio con fines comparativos. La cepa denominada *L. innocua* UBU mostró una resistencia a la alta presión comparable con la correspondiente a las cepas de *L. monocytogenes* más tolerantes, tanto en buffer como en jamón cocido y curado. Los niveles de inactivación de *L. innocua* UBU fueron similares o menores que los del cóctel propuesto, en productos cárnicos crudos, cocidos, curados y curados-fermentados. Estos resultados sugieren que la cepa de *L. innocua* estudiada puede ser usada como *surrogate* de *Listeria monocytogenes* en diversos productos cárnicos procesados por altas presiones.

En conclusión, la respuesta de *Listeria monocytogenes* frente a altas presiones difiere entre cepas. Dicha variabilidad se ve afectada por las características de la matriz alimentaria y las condiciones de procesamiento, presión y tiempo. El conocimiento relativo a la variabilidad cepa a cepa permite el diseño apropiado de cócteles y la selección de *surrogates* adecuados para ser empleados en estudios de validación de productos cárnicos procesados por altas presiones..

**Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, Altas presiones hidrostáticas, Productos cárnicos, Jamón cocido, Jamón curado