

Listeria monocytogenes

Incidencia en explotaciones ovinas del País Vasco y Navarra



JOSÉ M^o HERNADORENA (ITG GANADERO), SAIOA ELIZALDE (ARTZAI GAZTA ELKARTEA)

Este trabajo ha podido llevarse a cabo gracias a la colaboración de la Denominación de Origen Idiazábal y sus queserías asociadas y a la financiación del Gobierno Vasco y el Instituto Técnico y de Gestión Ganadero (ITGG).

Listeria monocytogenes es un microorganismo telúrico, muy extendido en el medio ambiente (suelo, vegetación, agua). Su temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C, pero puede crecer incluso a 4°C. Tiene una gran tolerancia a factores usados para controlar el desarrollo microbiano en los alimentos, como alta acidez (pH ≈ 4.4), alta concentración de sal (12%) y baja actividad de agua (0,92), aunque la combinación de estos factores disminuye la tolerancia. *Listeria monocytogenes* es capaz de adherirse a las superficies (biofilms) de las instalaciones y equipos, y por tanto contaminarlas.

Está reconocida actualmente en la sanidad humana como un agente patógeno de origen alimentario. Puede encontrarse sobre todo en alimentos vegetales, embutidos y en los productos lácteos, en particular aquellos de pasta blanda.

Aunque los alimentos contaminados son el origen de la mayoría de los casos de listeriosis, la mayor parte de las personas tiene poco riesgo de padecerla. La listeriosis afecta esencialmente a personas con el sistema inmunitario debilitado o modificado, como los inmunodeprimidos, los recién nacidos, las embarazadas, los pacientes tratados con corticoides y personas de edad avanzada.

La incidencia de listeriosis clínica en las explotaciones profesionales de Navarra y País Vasco es muy baja. No obstante, con el fin de determinar su verdadero alcance y sobre todo ver los posibles orígenes de la contaminación, se ha realizado un estudio sobre 261 explotaciones de estas dos Comunidades. Los participantes en el estudio han sido: el

Instituto Técnico y de Gestión Ganadero, por parte de Navarra, las Asociaciones de raza latxa ELE (Gipuzkoa), ACOL (Bizkaia) y AGORALA (Araba), y el Instituto Lactológico de Lekunberri (ALVO). A continuación hacemos un balance de los resultados obtenidos.

Listeria monocytogenes es una bacteria que produce listeriosis, una enfermedad que se manifiesta en la mayoría de los casos por encefalitis o meningoencefalitis en los rumiantes adultos y por septicemia con necrosis hepática focal en los rumiantes jóvenes y monogástricos. También pueden producirse abortos en infección perinatal. La listeria es ubicua y extremadamente resistente a condiciones ambientales adversas. Por tanto, puede convertirse en un problema para los ganaderos.

Como ya se apunta al comienzo del artículo, se considera un agente patógeno para los humanos porque es la causa de la enfermedad llamada listeriosis. Esa enfermedad llega a través de alimentos de origen animal y vegetal contaminados, en particular de productos lácteos como el queso.



El ensilaje de mala calidad con pH alcalino está implicado con mucha frecuencia en brotes que se producen en rumiantes. La listeria se elimina por heces, sin ser necesario que los animales sufran sintomatología clínica. Las heces a su vez contaminan las áreas de descanso y como consecuencia la piel de los pezones. Esto supone un mayor riesgo de presencia de listeria en leche cruda, bien por mamitis producidas por listeria, bien por contaminación directa.

La incidencia de listeriosis clínica en explotaciones del ITG Ganadero es del 5%. Por otro lado, en leche cruda de oveja la presencia de estas bacterias en tanque, en 2005, fue de 2,95%, según datos de 237 explotaciones del País Vasco y Navarra (Kausal 2005).

Durante la campaña 2004, en los análisis de control rutinario que realiza el Departamento de Sanidad del País Vasco, se detectaron dos casos de presencia de *Listeria monocytogenes* en queso de oveja de pasta prensada curada. El Reglamento (CE) nº 2073/2005 admite un recuento de 100 ufc/g en alimentos listos para el consumo que no puedan favorecer el desarrollo de *Listeria monocytogenes*.

Dada la escasa información científica disponible sobre la incidencia y comportamiento de *Listeria monocytogenes* en este tipo de producto, se consideró la necesidad de llevar a cabo un estudio

en profundidad, de manera conjunta, en País Vasco y Navarra. Específicamente los **objetivos del trabajo** fueron: **conocer la incidencia** de *Listeria monocytogenes* en leche cruda de oveja y su evolución en la maduración del queso; **conocer las fuentes de contaminación** en la explotación y la quesería, **y establecer un programa de prevención y control** en leche cruda de oveja y queso.



Análisis de muestras de 261 explotaciones, con seguimiento de quesos elaborados

Inicialmente, se realizó un screening que consistió en la recogida y análisis de muestras de leche cruda de tanque en 261 explotaciones. En cada una de las explotaciones en las que la muestra de leche indicó presencia de *Listeria monocytogenes*, se procedió a realizar el Test de California (CMT) a todas las ovejas en ordeño. Se tomaron muestras individuales de las CMT positivas. Las ovejas positivas al CMT fueron retiradas del ordeño hasta conocer los resultados de los análisis. Por otro lado, se recogió una muestra de leche de tanque, sin incluir la leche de ovejas que mostraron resultados positivos al CMT. Además, se muestreó con hisopos el tanque de refrigeración, las pezoneras y la unidad final de la máquina de ordeño, así como los pezones de algunas ovejas. Para tener en cuenta el estado ambiental de la cuadra, se recogió también una muestra de cama, silo y agua.

En las queserías en las cuales se detectó *Listeria monocytogenes* en leche, se realizó un seguimiento de los quesos elaborados con dicha leche, con el fin de conocer la evolución del patógeno en la maduración del queso, muestreándose los días 5, 15, 30 y 60 días de maduración.

Como medidas complementarias, se recogió una muestra de agua utilizada en la quesería, una muestra de la salmuera empleada para el salado de los quesos en ese momento e hisopos de las superficies de las instalaciones y equipos, todo ello con el fin de comprobar la ausencia del patógeno en el establecimiento de transformación.

Todos los análisis se llevaron a cabo en el Instituto Lactológico de Lekunberri (ALVO), laboratorio acreditado por ENAC (ISO 17025) y reconocido como Centro de Innovación Tecnológico.

Explotaciones

Las explotaciones colaboradoras en este estudio tenían una media aproximada de 250 ovejas en ordeño y, en su mayoría, disponían de máquina de ordeño. De las 261 muestras de leche cruda de tanque de las explotaciones, en 7 se determinó la presencia de *L. monocytogenes*, por lo que **la incidencia fue del 2,68%**. Esta incidencia detectada está dentro de los márgenes de la CAV (3,92%) y Navarra (0,92%). Los recuentos (ufc/mL) detectados en estas 7 muestras fueron: 890 (explotación 1), 110 (explotación 2), 70 (explotación 6) y <10 (explotaciones 3, 4, 5 y 7).

A partir de los resultados del screening realizado, es posible diferenciar básicamente **3 tipos de explotaciones en función de la incidencia de Listeria**.

- **Caso 1:** recuento en tanque 1ª muestra >10 ufc/ml. y presencia de animales eliminadores.
- **Caso 2:** recuento en tanque 1ª muestra <10 ufc/ml. y ausencia en análisis posteriores.

- **Caso 3:** recuento en tanque 1ª muestra <10 ufc/ml. y persistente.

CASO 1

Las ovejas son alimentadas con silo y en campañas anteriores ha habido casos de listeriosis clínica. La rutina de ordeño y la limpieza y desinfección del equipo de ordeño y del tanque son correctas. Por otro lado, el recuento de células somáticas (RCS) fueron inferiores a 500.000 cel./ml. y la bacteriología menor a 50.000 ufc/ml. Los resultados obtenidos tras la aplicación del protocolo por el veterinario responsable, indican un recuento de *L. monocytogenes* superior a 10 ufc/mL en la muestra de tanque y se detectan animales eliminadores CMT(-). Sorprendentemente, los animales CMT(+) no eliminan *L. monocytogenes* en leche. Por otro lado, se detecta presencia del patógeno en unidad final y es variable en pezoneras y heces. Tras la retirada de los animales eliminadores, las muestras de tanque indican ausencia o recuentos inferiores a 10 ufc/ml.

CASO 2

Las ovejas son alimentadas con silo y no ha habido casos de listeriosis clínica. La rutina de ordeño y la limpieza y desinfección del equipo de ordeño y del tanque son correctas. Por otro lado, el RCS fue inferior a 500.000 cel./ml. y la bacteriología menor a 50.000 ufc/ml. Los resultados obtenidos tras la aplicación del protocolo por el veterinario responsable, indican ausencia de *Listeria* en leche de tanque, así como en los hisopos. No hay animales eliminadores. La ausencia de *Listeria* en leche de tanque persiste en las muestras posteriores.

CASO 3

Las ovejas son alimentadas con silo y en la presente campaña y anteriores ha habido casos de listeriosis clínica. La rutina de ordeño y la limpieza y desinfección del equipo de ordeño y del tanque son correctas. Por otro lado, el RCS fue inferior a 500.000 cel./ml. y la bacteriología menor a 50.000 ufc/mL. Los resultados obtenidos tras la aplicación del protocolo por el veterinario responsable, indican un recuento de *L. monocytogenes* inferior a 10 ufc/ml. en la muestra de tanque y no se detectan animales eliminadores. Por otro lado, se detecta presencia del patógeno en heces y silo, y sin embargo no se detectan en los hisopos de la unidad final, pezoneras y pezones. La limpieza y desinfección habituales del circuito de ordeño y del tanque, no eliminaban por sí solas la presencia de *Listeria*, manteniéndose los recuentos inferiores a 10 ufc/ml. La ausencia de *listeria* en muestras de tanque posteriores se obtuvo tras desmontar y desinfectar exhaustivamente la instalación de ordeño y el tanque de refrigeración.

Por otro lado, cabe señalar la detección de un **caso 4** al margen del screening inicial. Se trató de una explotación de 235 ovejas en ordeño, alimentadas con silo, con buena rutina de ordeño, correcta limpieza y desin-



fección del equipo de ordeño y del tanque. En este caso, el RCS fue inferior a 500.000 cel./ml y la bacteriología menor a 50.000 ufc/ml. Asimismo, en la campaña 2009, se detectó una explotación con presencia de *L. monocytogenes* en leche cruda de tanque con recuentos persistentes <10 ufc/ml., y con un animal eliminador (recuento individual de 6600 *Listerias*/ml., y RCS 236.000 cel./ml). Los RCS de este animal en los 2 meses anteriores fueron de 71.000 cel./ml. y 38.000 cel./ml.

Queserías

En el caso de las queserías se pueden distinguir 2 tipos. Las queserías que transforman exclusivamente la leche producida en su propia explotación (casos 1, 2 y 3), y la quesería (caso 4) que transforma en queso la leche recogida de distintas explotaciones.

QUESERÍA 1

La quesería además de elaborar queso, embolsaba leche cruda. El día que se recogió la muestra de leche de tanque para el screening inicial, no se elaboró queso, por lo que se optó por muestrear el lote de queso más próximo a dicha fecha. El recuento de *L. monocytogenes* en la primera muestra de leche fue de 890 ufc/ml. En la muestra de salmuera el recuento fue inferior a 10 ufc/ml., mientras que en los hisopos (cuba, lira, moldes, sumidero) y de agua (cloro libre 0,4 ppm) se determinó ausencia de *Listeria*. En queso el recuento fue de 2300 ufc/g. Tras realizar una limpieza y desinfección de las instalaciones y un cambio de salmuera, no se detectó *Listeria*. El tiempo de maduración necesario para obtener un recuento inferior a 100 ufc/g. en queso, fue de 4 meses. En esta explotación se detectó 1 animal eliminador.

QUESERÍA 2

El día que se recogió la muestra de leche de tanque para el screening inicial el recuento fue de 110 ufc/ml. El recuento en salmuera fue de 10 ufc/ml., existió presencia de *Listeria* en el hisopo del sumidero y ausencia

tanto en el resto de hisopos (cuba, lira y moldes) como en el agua (cloro libre 0,2 ppm). El recuento en el queso elaborado con dicha leche y con una maduración de 8 días fue de 6600 ufc/g. En este caso, el tiempo de maduración necesario para obtener un recuento inferior a 100 ufc/g. en queso fue de 5 meses y de 6 meses para obtener ausencia total. También se detectaron animales eliminadores en esta explotación.

QUESERÍA 3

En esta quesería el recuento en la leche de tanque recogida para el screening inicial fue inferior a 10 ufc/ml. Las muestras de salmuera, agua (cloro libre 0,2 ppm), hisopos (cuba, lira, moldes, sumidero) y queso, indicaron ausencia de *L. monocytogenes*. En la explotación no se detectaron animales eliminadores por lo que el origen en este caso podría ser ambiental.



QUESERÍA 4

Esta quesería recogía leche de 3 explotaciones ovinas distintas y transformaba la mezcla de todas ellas. En dichas explotaciones se detectó la presencia de *L. monocytogenes* en muestras de leche de tanque con recuentos inferiores a 10 ufc/ml en 2 de ellas y 70 ufc/ml en la tercera. En la muestra de leche de la mezcla realizada con leche recogida en dicha ruta no se identificó la presencia de *Listeria*, seguramente por un efecto de dilución. Por otro lado, se determinó ausencia de *L. monocytogenes* en la salmuera, el agua (cloro libre 0,2 ppm), los hisopos (cuba, lira, moldes, sumidero) y el queso. Así, en este caso, aunque la quesería había trabajado con leches "positivas" a *Listeria*, no se creó ningún reservorio en la misma, obteniéndose ausencia en todas las muestras tomadas.



Conclusiones

En el ámbito del estudio realizado, **la incidencia de *Listeria monocytogenes*, tanto en leche cruda de oveja como en queso de oveja, se puede considerar muy baja.** La maduración de los quesos de pasta prensada elaborados a partir de leche cruda de oveja reduce los recuentos de *Listeria monocytogenes*.

El consumo de silos de mala calidad podría aumentar el riesgo de presencia de *Listeria* en leche porque la eliminación de *Listeria* por heces contamina las áreas de descanso. En las explotaciones con casos de listeriosis clínica parece aumentar el riesgo de presencia de *Listeria* en leche, incluso mucho después de su aparición. En estos casos, la contaminación de las áreas de descanso es mayor, con el consiguiente riesgo de *Listeria monocytogenes* en piel del pezón y/o mamitis.

Las muestras con recuentos persistentes superiores a 10 ufc/ml indican una alta posibilidad de que el origen de la *Listeria* sea intramamario, con ovejas eliminadoras del patógeno en leche. Los recuentos puntuales infe-

riores a 10 ufc/ml podrían indicar la existencia de contaminación ambiental, no habiéndose observado recuentos puntuales superiores a 10 ufc/ml.

Los recuentos persistentes inferiores a 10 ufc/ml indican la posibilidad de *Listeria* acantonada en el circuito de leche, sin abandonar la posibilidad de algún animal eliminador. Se constata que *Listeria monocytogenes* es capaz de adherirse a las superficies y crecer en las instalaciones y equipos tanto de la explotación como de la quesería. **La aplicación de métodos de desinfección específicos es una medida eficaz en estos casos.**

Parte de los resultados y las conclusiones obtenidas en este trabajo han contribuido a proponer un **programa de prevención y control de *Listeria monocytogenes*** en leche cruda de oveja y queso, así como una propuesta de protocolo de actuación. **En la página web de Navarra Agraria nº 182**, dentro del apartado dedicado a este tema: *Listeria*, se pueden consultar con detalle esas propuestas y programas, en los ANEXOS 1 y 2.

WWW.NAVARRAAGRARIA.COM

Además de la necesidad de confirmar algunos de las conclusiones de este trabajo, cabe señalar algunas de las limitaciones de este estudio, limitaciones que deberían superarse en futuras investigaciones.

En este sentido, la toma de muestras individuales exclusivamente de las ovejas CMT positivo parece insuficiente, ya que puede ocurrir, como se ha observado en este estudio, que los animales eliminadores de *Listeria monocytogenes* sean CMT negativos.

Finalmente, hay que decir que, para poder establecer un correcto protocolo de prevención y control de *Listeria* en leche y queso, es necesario que la presencia de *Listeria monocytogenes* sea cuantificada. De ahí la necesidad de confirmar algunas de las conclusiones de este trabajo, mediante un estudio más exhaustivo, ya que este primer análisis ha contado con algunas limitaciones que deberían superarse en futuras investigaciones.