

**Estudio de resistencia antimicrobiana en cepas de *Listeria monocytogenes*  
aisladas de cortes de carne de origen porcino**



**LEYDI JOHANA NIÑO JIMENEZ**

**Trabajo de Grado  
Presentado como requisito para optar por el título de  
Microbióloga Industrial y Bacterióloga**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
PROGRAMA DE PREGRADO  
2012**

**Estudio de resistencia antimicrobiana en cepas de *Listeria monocytogenes*  
aisladas de cortes de carne de origen porcino**



**LEYDI JOHANA NIÑO JIMENEZ**

---

**Ingrid Schuler Ph.D**  
**Decana Académico**

---

**Janeth Arias Palacios MSc**  
**Directora de la carrera de Microbiología**

---

**Diana Patiño MSc**  
**Directora de la Carrera de Bacteriología**

**Estudio de resistencia antimicrobiana en cepas de *Listeria monocytogenes*  
aisladas de cortes de carne de origen porcino**



**LEYDI JOHANA NIÑO JIMENEZ**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A. Carrascal', written over a horizontal line.

**Director  
Ana Karina Carrascal**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Nadenka Melo', written over a horizontal line.

**Jurado  
Nadenka Beatriz Melo**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la Resolución N°13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velara por qué no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien vea en ellas anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

## Resumen

**Objetivo.** Evaluar la resistencia antimicrobiana en cepas de *L. monocytogenes* aisladas de cortes de carne de origen porcino. **Materiales y métodos.** Se recolectaron 135 muestras, distribuidas en cinco muestreos durante el año 2010 y 2011, provenientes de puntos de venta en la ciudad de Bogotá. Las muestras se procesaron según la norma ISO 11290-1 y posteriormente se confirmaron los aislamientos por PCR-múltiple. A cada uno de los aislamientos confirmados, se efectuó el perfil de sensibilidad antimicrobiana por la técnica de microdilución (sistema MicroScan) y los datos fueron procesados en el software Whonet 5.6. **Resultados.** Se obtuvo una incidencia del 33,3% de *L. monocytogenes* en carne de origen porcino; con respecto al perfil de sensibilidad antimicrobiana se encontró un aislamiento resistente a tripretoprim/sulfametoxazol, 34 (75,6%) cepas resistentes a clindamicina, 4 (8,9%) a azitromicina y 4 (8,9%) a eritromicina. **Conclusiones.** El estudio mostró que los aislamientos de *L. monocytogenes* provenientes de muestras de origen de carne porcino fueron sensibles a los antibióticos más comúnmente utilizados para tratar la listeriosis humana.

## Introducción

El género *Listeria* spp corresponde a bacterias coco bacilos Gram positivos, móviles y no esporulados (1), se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, en el suelo, agua, abonos orgánicos, vegetación y aguas residuales (2). Actualmente se han descrito ocho especies de este género: *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria grayi*, *Listeria rocourtiae* y *Listeria marthii* (3), de las cuales únicamente las especies *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* se consideran patogénicas, la primera en humanos y *L. ivanovii* en otros mamíferos, especialmente en rumiantes (4).

El impacto que tiene *L. monocytogenes* a nivel de salud, está al ser responsable de una enfermedad llamada "listeriosis" la cual afecta principalmente a poblaciones de riesgo tales como: mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas, como pacientes VIH positivo, o con afecciones crónicas como cirrosis, entre otras (5-6), causando diversas patologías como abortos, partos prematuros, meningitis y septicemia (7).

La transmisión de *L. monocytogenes* por el consumo de alimentos es reconocida desde 1980 como vía principal (6). La carne de cerdo y sus derivados se han visto involucrados en brotes alimentarios (7-10).

En Colombia, se reconoce la importancia de *L. monocytogenes*, sin embargo la información en humanos es escasa, dado que los casos clínicos no se diagnostican adecuadamente, puesto que los signos y síntomas pueden llevar a la confusión etiológica, y por tanto a la generación de subregistros en la notificación (11). El diagnóstico que se realice es fundamental para suministrar tratamiento ya sea con antibióticos como la ampicilina o con asociaciones de un aminoglucosido

como la gentamicina (12), no obstante para ello es primordial conocer el perfil de sensibilidad antimicrobiana de este microorganismo.

### **Justificación y planteamiento del problema**

La listeriosis es una enfermedad causada por *L. monocytogenes*. En Colombia el Instituto Nacional de Salud (INS) en los últimos 10 años ha reportado 186 casos de listeriosis siendo los más frecuentes aquellos asociados a meningitis (13), demostrando así, la circulación del microorganismo en el país. A pesar de ser una enfermedad considerada inusual por la presencia de casos esporádicos, su índice de mortalidad es muy elevado, el cual varía entre el 20 y 30%, alcanzando un 70% en casos de meningitis, 50% en septicemia y hasta el 80% en infecciones neonatales (14), de ahí la importancia de prevenir esta patología.

Los alimentos tales como leche cruda, quesos, vegetales, carne cruda y curada, son los principales vehículos de entrada de *L. monocytogenes* en el ser humano; sin embargo los alimentos denominados listos para el consumo han sido asociados con mayor frecuencia a la listeriosis al ser productos que tienen una conservación prolongada y se consumen sin tratamientos previos (15).

La carne de origen porcino contaminada, es un alimento asociado a la enfermedad, probablemente como resultado de la exposición ante-mortem del animal al microorganismo (2), por tanto la importancia que las plantas de alimentos cárnicos encargadas del procesamiento del alimento, evalúen si este se encuentra contaminado con el patógeno.

A pesar que en Colombia existen normativas como el Decreto 2270 del 2012, el cual modifica al Decreto 1500 del 2007 con el fin de ejercer un control sanitario sobre las plantas de desposte y expendios de carne (16-17); ha sido complejo manejar esta situación, ya que algunas plantas no han conseguido implementar el plan HACCP (Plan de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) que está dentro de los requerimientos de la normativa (18), lo cual ha ocasionado la ampliación de los plazos para cumplir las especificaciones, y por tanto un control sanitario deficiente que puede favorecer la presencia del patógeno, adicionalmente en el país no hay una norma gubernamental donde se pida la búsqueda de este patógeno en derivados cárnicos.

Con respecto al tratamiento indicado para pacientes con listeriosis, se han agrupado en medicamentos de elección primaria y de elección secundaria. Estos primeros corresponden a la ampicilina o a asociaciones con un aminoglucósido como la gentamicina y en los medicamentos de elección secundaria se encuentran antibióticos como el cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina y rifampicina (19).

No obstante, se han encontrado algunas cepas de *L. monocytogenes* resistentes a algunos medicamentos indicados para su tratamiento como son: el cloranfenicol, eritromicina, estreptomina, tetraciclina, vancomicina y trimetoprim (12,20-21), de

ahí la importancia de evaluar el perfil de sensibilidad antimicrobiano de aquellas cepas de *L. monocytogenes* que circulan en alimentos como la carne de cerdo en el país.

## **Marco teórico**

### **Contaminación de la carne de cerdo**

*Listeria* spp., es una bacteria ampliamente distribuida en la naturaleza, ya que habita en lugares como el suelo, agua dulce o salada, abonos orgánicos, vegetación y aguas residuales (2). *L. monocytogenes* específicamente se ha encontrado en el medio ambiente (suelo, agua y vegetación en descomposición), en animales salvajes y domésticos sintomáticos o asintomáticos, y en plantas procesadoras de alimentos (22). Por lo anterior, cualquiera de los hábitats donde se encuentre el patógeno puede llevar a la contaminación de alimentos (8,23). Dentro de estos, se ha vinculado a la carne de cerdo como un vehículo de transmisión, ya que diversos estudios han demostrado que el 50% de los cerdos pueden ser portadores de *L. monocytogenes* (7,9).

No obstante, es necesario mencionar como es el proceso de transmisión de *L. monocytogenes* hasta que llega a contaminar alimentos como la carne de cerdo. Este puede darse en la granja o en las plantas de beneficio; en las granjas, se puede facilitar por la contaminación inicial al utilizarse fertilizantes como el estiércol, así como por rumiantes domesticados, a través de una transmisión oro-fecal (24); con respecto a la transmisión en las plantas de beneficio, el ingreso del patógeno puede darse a través de las botas o la vestimenta del personal, equipos de transporte de alimentos crudos de origen animal o animales portadores, quienes albergan al microorganismo en el tracto gastro-intestinal (9,25).

Es decir, que impedir la transmisión es un paso fundamental en la industria alimentaria, sin embargo, una de las dificultades que se tienen con este microorganismo es su capacidad de adaptarse a los ambientes, sea en la granja o en las plantas de procesamiento de carnes, ya que su crecimiento es favorecido por ciertas condiciones propias de las fábricas procesadoras de alimentos como las salas de trabajo, equipos y superficies. Ciertamente, la capacidad de adaptación se ha encontrado ligada a la habilidad de ciertas cepas para formar biopelículas en superficies inertes como acero inoxidable, resinas y plásticos, lo que facilita que las células presentes allí, desarrollen resistencia a desinfectantes, favoreciendo a su vez, la diseminación bacteriana y contaminación de los alimentos que entren en contacto directo con estas áreas contaminadas (9,26- 27).

Continuando con la capacidad de adaptación de *L. monocytogenes*, características tales como la tolerancia a altas concentraciones de sal, pH bajo y temperaturas de refrigeración, permiten que este microorganismo pueda sobrevivir por largos periodos de tiempo (9,28-29); es por esto que es considerado un riesgo para la inocuidad de alimentos como las carnes y derivados cárnicos de cerdo refrigerados y precocidos o listos para el consumo.

En los últimos años, diferentes investigaciones realizadas por países como Estados Unidos, Canadá, Francia, entre otros, reportan la incidencia de *L. monocytogenes* en las plantas de beneficio y procesamiento, y en los productos cárnicos de cerdo (30-33). Con estos resultados se ha indicado que los procesos de limpieza y desinfección son un punto clave para disminuir la contaminación de alimentos por este patógeno (30).

Con relación a Colombia, según un estudio realizado por la Secretaria Distrital de Salud desde el año 2001 hasta el 2004, se determinó que la prevalencia de *L. monocytogenes* en derivados cárnicos cocidos fue de 11.2%. Los alimentos como el jamón, las salchichas y la mortadela, fueron los más contaminados (34), por otra parte Gamboa, *et al.* 2012 (35) encontró una prevalencia del 13.82% de *L. monocytogenes* en derivados cárnicos como salchichas, jamones, y chorizos, adicionalmente estableció una prevalencia del 33,9% en carne en desposte.

## Listeriosis

Una vez un alimento es contaminado con el patógeno, éste representa un riesgo para la salud de los consumidores, puesto que estudios realizados por McLauchlin, *et al.* 1991 (36) mostraron que células entre  $10^2$  a  $10^4$  del patógeno por gramo del alimento han sido asociados con el desarrollo de la listeriosis en humanos. Sin embargo, es importante recalcar que la dosis infectiva varía de acuerdo a la patogenicidad y virulencia de la cepa y factores de riesgo tales como el estado inmunológico del paciente, concentración del patógeno en el alimento así como la cantidad de alimento consumido (36-37).

Ahora bien, una vez se da la ingestión del alimento contaminado, la infección suele comenzar alrededor de 20 horas después de la ingesta (38) y los síntomas más comunes suelen ser náuseas, vómito y diarrea, en la infección no invasiva (39). Mientras que el periodo de incubación para la enfermedad invasiva es generalmente entre 20 y 30 días y los síntomas suelen ser convulsiones, cambios en el comportamiento y confusión (40).

Como los anteriores síntomas mencionados, son poco específicos y *L. monocytogenes* afecta principalmente a poblaciones de riesgo tales como: mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas, como pacientes VIH positivo (5,6), se dificulta aún más su diagnóstico. Por ejemplo, en las mujeres en estado gestacional, la listeriosis puede ser transmitida por vía transplacentaria de la madre al feto, infección que se ha asociado luego del quinto mes de embarazo (41). La infección por este microorganismo puede llevar a complicaciones tanto a la madre como al neonato; para la madre se han descrito inconvenientes como un aborto o un parto pre término, además de ocasionar complicaciones en embarazos posteriores al mantenerse el microorganismo presente en el tracto genital (42); mientras que el neonato al estar infectado, puede presentar bajo peso al nacer, septicemia, astenia, deficiencias respiratorias, cianosis, vómito, convulsiones y granulomatosis



infantiséptica (43), de ahí la importancia de un diagnóstico temprano que reduzca las complicaciones.

Igualmente, es fundamental conocer cada uno de los pasos que ocurren una vez el alimento contaminado entra al organismo, en el estómago es capaz de resistir sus condiciones de pH al inducir proteínas de estrés oxidativo y de “shock” tóxico, y de esta manera llegar hasta intestino (44-45). Una vez allí, la bacteria puede interactuar con la E-caderina del enterocito y cruzar la barrera intestinal llegando así a nódulos linfáticos mesentéricos, hígado y bazo (46).

En el hígado, *L. monocytogenes* es capaz de sobrevivir y multiplicarse dentro de los macrófagos (47), de manera tal que el patógeno puede diseminarse a través del parénquima hepático sin ser detectado por el sistema inmune humoral (48).

A pesar que *L. monocytogenes* tiene la capacidad para adherirse, invadir y multiplicarse dentro de una gran variedad de células no fagocíticas (enterocitos, hepatocitos, fibroblastos, células endoteliales y células dendríticas), su principal tropismo es por el útero grávido y el sistema nervioso central (45), razón por la cual dentro de sus manifestaciones clínicas más frecuentes están los abortos o partos a pre término y la meningitis.

### Resistencia a antimicrobianos

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) en el año 2012, especifica que toda persona con síntomas de listeriosis por consumo de alimentos contaminados que se encuentre dentro de la categoría de alto riesgo debe buscar atención médica de forma inmediata. Igualmente, si alguna persona especula haber consumido un alimento contaminado con este patógeno, el tratamiento es necesario, ya que este microorganismo puede ser muy virulento (49). Es por esto, que se han descrito medicamentos de elección primaria y secundaria para contrarrestar la infección, dentro de los que se encuentran la ampicilina, penicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina y rifampicina (12,20-21, 50).

No obstante, diferentes autores han descrito aislamientos de *L. monocytogenes* resistentes a antimicrobianos de elección y de no elección, los cuales se pueden observar en la siguiente tabla (Tabla 1).

**Tabla 1.** Aislamientos de *L. monocytogenes* resistentes a antibióticos.

Lugar	Año	Resistencia	Bibliografía
Francia	1990	Cloranfenicol, eritromicina y tetraciclina.	(51)
España	1996	Cefotaxima, cefoxitina, tobramicina, amikacina, cloranfenicol, tetraciclina y eritromicina.	(52)
España	2001	Tetraciclina.	(53)
España	2004	Tetraciclina.	(54)

Colombia	2008	Rifampicina, clindamicina, azitromicina y eritromicina.	(55)
Grecia	2009	Tetraciclina.	(56)
Francia	2010	Tetraciclina y fluoroquinolonas.	(57)

Lo cual permite analizar que desde hace mas de dos décadas hay circulación de cepas de *L. monocytogenes* resistentes a los antimicrobianos de elección para su tratamiento.

Luego de varios estudios y análisis realizados, hoy en día hay varias explicaciones a la resistencia a antimicrobianos de bacterias como *L. monocytogenes*. Una de ellas, ha sido asociada al uso excesivo de antibióticos para la salud humana y con fines ganaderos y agrícolas. Los antibióticos de uso animal, como por ejemplo la tetraciclina, también son usados en dosis subterapéuticas o como promotores de crecimiento en diferentes tipos de animales, lo cual puede favorecer la aparición de resistencia bacteriana (54).

No obstante, otras investigaciones han sugerido que esta situación de resistencia a antibióticos, podría estar vinculada con la transferencia de genes de resistencia entre especies de *Listeria* spp, como podría ser el caso entre *L. innocua* y *L. monocytogenes*, ya que esta primera a través de la historia ha mostrado una alta frecuencia de resistencia a antibióticos (54). De tal manera, que si hay transferencia genética de una especie a otra de *Listeria* spp. puede llevar a generar una resistencia a antimicrobianos como a la estreptomina, eritromicina y el cloranfenicol.

Continuando con las hipótesis de la adquisición de resistencia antimicrobiana, diferentes estudios han mostrado que *Listeria* spp puede adquirir genes de resistencia a partir de otros géneros poco emparentados, como *Enterococcus* spp y *Streptococcus* spp, bacterias portadoras de genes de resistencia, que mediante transferencias horizontales por conjugación, traslocación de genes, diseminación por exportaciones, importaciones y instituciones de salud (54,58), pueden llegar a transferir esos genes de resistencia a *L. monocytogenes*.

En Colombia, hay reportes epidemiológicos de la prevalencia de *L. monocytogenes* (33-34), lo que ha generado que la patología sea investigada y a que hasta el momento se reporten estudios orientados a establecer la prevalencia del microorganismo en los principales alimentos vehículo de entrada del patógeno, entre estos la carne de origen porcino. Igualmente, es fundamental analizar las cepas que se encuentran circulando en el país, y poder determinar su perfil de sensibilidad antimicrobiana, puesto que como se observa en la tabla 1, ya se han reportado casos de aislamientos resistentes a antibióticos.

## Objetivo

### Objetivo general

Evaluar la resistencia antimicrobiana en cepas de *L. monocytogenes* aisladas de cortes de carne de origen porcino.

### Objetivos específicos

- Determinar la incidencia de *L. monocytogenes* en muestras de carne de cerdo.
- Establecer el perfil de sensibilidad antimicrobiana en cepas de *L. monocytogenes*.

### Metodología

Este trabajo hace parte del proyecto titulado "Aislamiento y caracterización molecular de *Salmonella* spp. y de *Listeria monocytogenes* susceptibilidad antimicrobiana y valoración del riesgo microbiológico de contaminación en carne de canal, corte y derivados cárnicos de cerdo, estrategias de prevención y control en plantas de beneficio y procesamiento" (Código 2008 W4845), realizado por el Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI) del Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana, financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia.

### Muestras

Las muestras de carne de cerdo fueron adquiridas de diferentes puntos de venta de Bogotá.

Se recolectaron 135 muestras, distribuidas en cinco muestreos durante el año 2010 y 2011, los cuales se especifican en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución de muestreos.

Tipo de muestra	Fecha	Número de Muestras
	16/11/2010	30
Carne de origen porcino	04/01/2011	31
	18/01/2011	20
	23/02/2011	31
	17/03/2011	23
<b>Total</b>		<b>135</b>

### Aislamiento bacteriano

Para el aislamiento se uso el método ISO 11290-1. Se pesaron 25g de la muestra de carne, se homogenizo con 225mL de caldo Fraser semi y se incubaron durante

24 a 48 horas a 30°C. Una vez transcurrido este tiempo se transfirió una alícuota de 100µl a 10mL de Fraser completo incubando a 37°C durante 48 horas.

Posterior a la etapa de enriquecimiento, se continuó con la siembra por agotamiento en agares selectivos PALCAM y OTTAVIANI-AGOSTI, incubando a 37°C por un tiempo de 24 a 48 horas. Finalizado el tiempo de incubación, las colonias presuntivas de *L. monocytogenes* por su actividad β-glucosidasa y fosfolipasa fueron repicadas por agotamiento en agar TSAYE (agar tripticasa de soya-extracto de levadura 0.6% para ser incubadas por 24 horas a 37°C (59).

### **Confirmación bioquímica**

A las colonias obtenidas en medio TSAYE con prueba de Henry positiva, se efectuó coloración de Gram, prueba de catalasa y asimilación de azúcares (ramnosa, manitol y xilosa) según la norma ISO 11290-1 lo indica (4).

### **Criopreservación**

Las cepas presuntivas de *L. monocytogenes* fueron criopreservadas en glicerol a una concentración del 20% (v/v) y se congelaron a -70°C.

### **Extracción, cuantificación de ADN y PCR**

La extracción del ADN se llevo a cabo por un kit comercial (Invitrogen). Y su cuantificación se determinó según la relación entre la absorbancia a 260nm, 280nm y 320nm en un espectrofotómetro BioRad (60).

Para la confirmación de *L. monocytogenes*, se realizó PCR múltiple para lo cual se emplearon dos juegos de iniciadores, L1 (CTCCATAAAGGTGACCCT), U1 (CAGCMGCCGCGTAATWC) y LF (CAAACGTTAACAACGCAGTA), LR (TCCAGAGTGATCGATGTTAA), con el objetivo de obtener una banda de 938 pb para género y 750 pb para especie (61). Como control positivo la cepa de *L. monocytogenes* ATCC19115 fue empleada.

### **Incidencia de *L. monocytogenes***

Se determinó teniendo en cuenta la siguiente fórmula dada por Greenberg, *et al.* 2005 (62):

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de aislamientos de } L. \textit{ monocytogenes}}{\text{Total de muestras analizadas}} \times 100$$

### **Ensayo de antimicrobianos**

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de *L. monocytogenes* por la técnica de microdilución (sistema MicroScan). Sistema aprobado por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), y con el

uso del panel MICRoSTREP plus 3 (INVIMA 2006RD-0000092) (55). Y el análisis estadístico de los resultados fue realizado en el software Whonet 5.6.

Todas las células fueron suspendidas a un equivalente de la escala 0.5 McFarland, siguiendo las instrucciones indicadas en el instructivo del panel. El panel contenía los siguientes antimicrobianos: penicilina, ampicilina, cefotaxima, cefradina, cefepima, cloranfenicol, trimetoprim, cefuroxima, rifampicina, meropenem, amoxicilina, eritromicina, vancomicina, ácido clavulánico, clindamicina, tetraciclina, azitromicina y ciprofloxacina (55). Para el análisis, no se tuvieron en cuenta los antibióticos de tipo cefalosporinas de tercera generación, puesto que *L. monocytogenes* tiene resistencia natural hacia estos antibióticos (58).

Para determinar la CMI en cada antibiótico, se tuvieron como referencia los parámetros otorgados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) del 2012 código M100-S22 (63), dentro de los cuales se encuentran disponibles para *L. monocytogenes* los antibióticos ampicilina, penicilina y trimetoprim/sulfametoxazol, mientras que para los demás antibióticos se tomaron los puntos de corte establecidos para *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp.

## Resultados y discusión

### Aislamientos

A partir de los cinco muestreos realizados, y analizados bajo criterios microbiológicos y bioquímicos, fueron aisladas un total de 88 muestras presuntivas de contaminación con *L. monocytogenes* (Tabla 3).

**Tabla 3.** Resultados por criterios microbiológicos y bioquímicos

Tipo de muestra	Fecha	Número de muestras	Presencia	Ausencia
	16/11/2010	30	20	10
Carne de origen porcino	04/01/2011	31	23	8
	18/01/2011	20	8	12
	23/02/2011	31	29	2
	17/03/2011	23	8	15
<b>Total</b>		135	88	47

Una vez realizado el análisis de las muestras por métodos bioquímicos y microbiológicos, fue necesario confirmar la presencia del patógeno por técnicas moleculares, obteniéndose como resultados la confirmación de 45 colonias de *L. monocytogenes* de las 88 cepas presuntivas (Tabla 4).

**Tabla 4.** Confirmación de la presencia de *L. monocytogenes*.

Tipo de muestra	Fecha	Colonias presuntivas	Colonias confirmadas
-----------------	-------	----------------------	----------------------

		por PCR	
	16/11/2010	20	18
Carne de origen porcino	04/01/2011	23	6
	18/01/2011	8	0
	23/02/2011	29	15
	17/03/2011	8	6
<b>Total</b>		88	45

En la tabla 4 se observan las diferencias entre los resultados obtenidos por métodos bioquímicos y microbiológicos, con los métodos moleculares, lo cual puede deberse a la cepa analizada, ya que hay situaciones donde las pruebas bioquímicas no pueden distinguir claramente entre *L. monocytogenes* y *L. innocua*, como por ejemplo en cepas con una hemólisis débil (64). Mientras que las pruebas moleculares, tienen una alta especificidad otorgada por los primers empleados que pueden ser cercano al 100% (65), de ahí la importancia de realizar una confirmación por estas técnicas.

Se obtuvo una incidencia del 33,3% de aislamientos de *L. monocytogenes* en el presente estudio, que al comparar con otros autores como Simón, *et al.* 1992 (31) quien reportó una incidencia del 17.3% en carne de res, cerdo y ave en España; Gudbjornsd, *et al.* 2004 (66) reportaron una incidencia del 15.6% en muestras de carne en Finlandia; con lo antepuesto, se permite evidenciar una incidencia importante en las muestras de carne dentro de las que se encuentran las de origen porcino. Lo cual es consistente con lo mencionado por varios autores que señalan que las plantas de carne porcino cruda son una fuente importante de contaminación de *L. monocytogenes* (7-8), que puede estar relacionado con brotes alimentarios causados por el microorganismo, en países como Estados Unidos y Francia (9-10).

Actualmente, en Colombia no hay reportes de brotes por consumo de carne de origen porcino. Sin embargo, en estudios realizados por Crespo, *et al.* 1999 (67) encontraron 19 pacientes con listeriosis, donde se concluyó que la posible vía de entrada del patógeno fue el consumo de productos lácteos y cárnicos, además, en los últimos 10 años, el Instituto Nacional de Salud (INS) ha reportado 186 casos de listeriosis (13), lo cual demuestra la circulación del microorganismo en el país.

A pesar que en Colombia existen normativas como el Decreto 2270 del 2012, el cual modifica al Decreto 1500 del 2007, con el fin de ejercer un control sanitario sobre las plantas de desposte y expendios de carne (16-17), la dificultad de llevarlas a la realidad, ha ocasionado una ampliación de tiempo para el cumplimiento del plan HACCP, el cual permitiría tener un control estricto, reduciendo el riesgo de contaminación con *L. monocytogenes* en los alimentos. Los procesos deficientes de limpieza y desinfección en las plantas de desposte, puede estar relacionado con la alta incidencia de 33,3% encontrada en este

estudio, ya que este proceso es fundamental para disminuir la contaminación en alimentos (30).

### Perfil de sensibilidad antimicrobiana

Para el tratamiento de *L. monocytogenes* se utilizan medicamentos de primera elección y segunda elección; dentro de los más utilizados se encuentran la penicilina, ampicilina y trimetoprim/sulfametoxazol, de ahí que en el presente estudio fueran evaluados (Tabla 5 y Figura1).

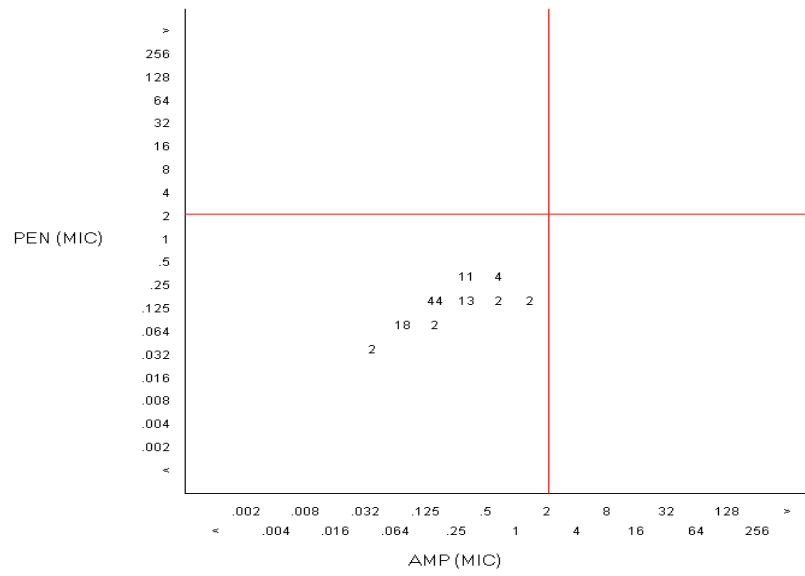
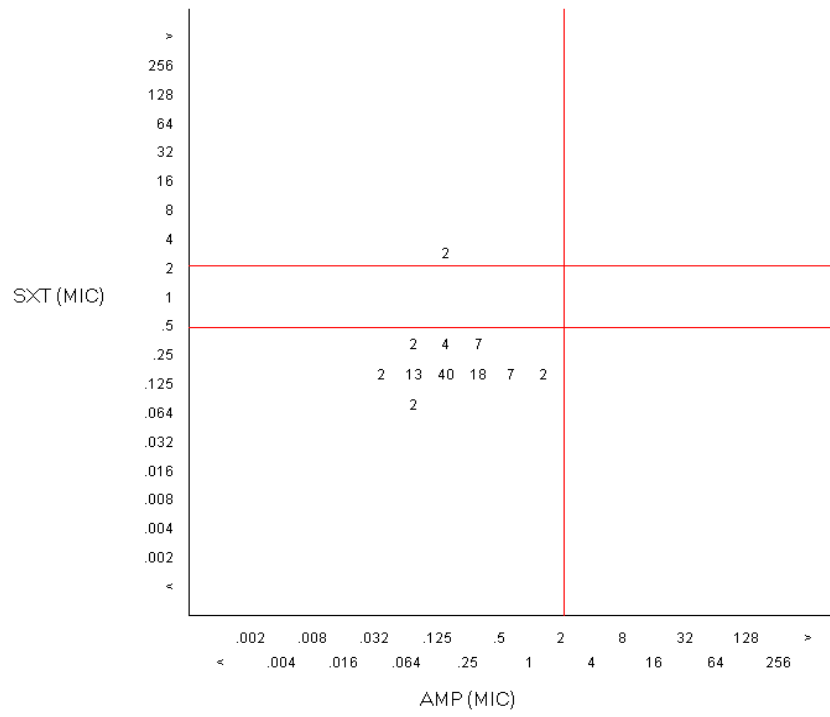
**Tabla 5.** Perfil de Susceptibilidad antimicrobiana de Penicilina, Ampicilina, y Trimetoprim/sulfametoxazol de aislamientos de *L. monocytogenes*.

Antimicrobiano	Puntos de Corte ( $\mu\text{g}/\text{MI}$ )			Rango MIC	MIC 50	MIC 90	No. De aislamientos (%)		
	R	I	S				R	I	S
AMP	-	-	$\leq 2$	0,06-2	0,25	0,5	0(0)	0(0)	45(100)
PEN	-	-	$\leq 2$	0,06-0,5	0,25	0,5	0(0)	0(0)	45(100)
STX	$\geq 4$	0,6-3,9	$\leq 0,5$	0,12-4	0,25	0,5	1(2,3)	0(0)	44(97,7)

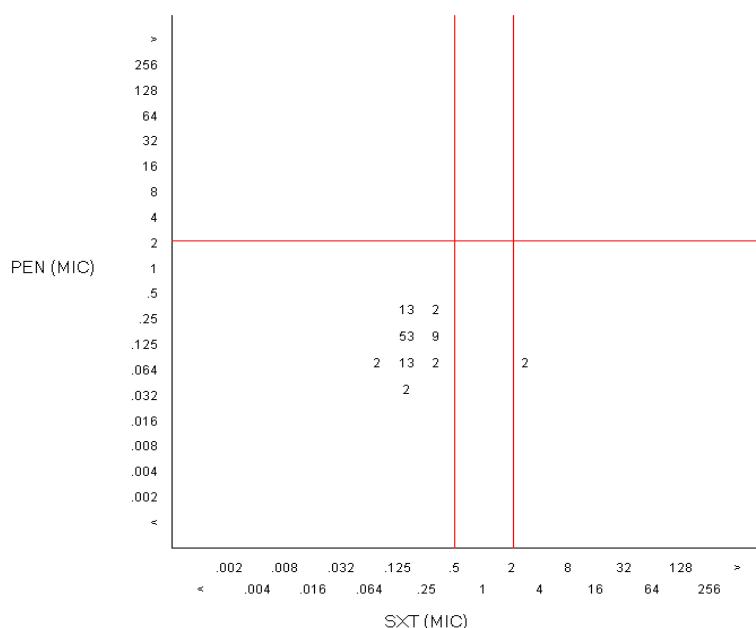
Los puntos de corte utilizados para la interpretación de los resultados de *L. monocytogenes* fueron tomados del CLSI 2012 M100-S22; MIC, concentración mínima inhibitoria; R, resistente; I, Intermedio; S, sensible; AMP, ampicilina; PEN, penicilina; STX, trimetoprim/sulfametoxazol.

Con respecto a la penicilina y la ampicilina, todos los aislamientos fueron susceptibles, y la MIC<sub>90</sub> fue de 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , lo cual es comparable con los resultados obtenidos por Martínez, *et al.* 2001 (68) donde tuvieron una MIC<sub>90</sub> de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , y en estudios realizados en Colombia Ruiz, *et al.* 2011 (55) reportaron una sensibilidad en el 100% de las cepas a ampicilina y de un 84% a la penicilina, mientras Carrascal, 2012 (69) informó un 100% de susceptibilidad para ambos antibióticos, lo que puede sugerir que los aislamientos de *L. monocytogenes* no muestran un aumento de la resistencia a estos dos antibióticos.

Para el caso del trimetoprim/sulfametoxazol los aislamientos tuvieron una MIC<sub>90</sub> de 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , resultado que se encuentra dentro del punto de corte de susceptibilidad y sugiere que el antibiótico no ha perdido efectividad. No obstante, un (2,3%) aislamiento fue resistente al antibiótico, lo cual es congruente con lo reportado por autores como Lyon, *et al.* 2008 (70) con <1% de aislamientos con resistencia intermedia al antibiótico, Conter, *et al.* 2009 (71) quien reportó 1,6% de aislamientos resistentes, Carrascal, 2012 (69) informó 5.6% de aislamientos con resistencia intermedia en un estudio realizado en Colombia. Esta resistencia, puede atribuirse a la existencia de un plásmido de 3.7Kb en cepas de *Staphylococcus haemolyticus* que codifica para una enzima llamada dihidrofolato reductasa y que confiere resistencia al sulfametoxazol (1) y mediante la transferencia horizontal por conjugación o translocación de genes (54,58), pueden llegar a transferirse a *L. monocytogenes* y ocasionar la resistencia.







**Figura 1.** Gráficas realizadas en Whonet 5.6 (2010). Distribución de aislamientos de *L. monocytogenes* según la MIC. Trimetoprim/STX versus AMP; PEN versus AMP; y PEN versus Trimetoprim/STX. Las líneas internas remarcen susceptibilidad y resistencia de acuerdo a los puntos de corte de *L. monocytogenes*, y los espacios entre las dos líneas verticales o horizontales muestran puntos de corte intermedio de la MIC por STX. En el caso de la PEN y AMP, solo aparece una línea que marca el punto de susceptibilidad, debido a que no se han definidos puntos de corte de resistencia para estos dos antibióticos. MIC, concentración mínima inhibitoria; AMP, ampicilina; PEN, penicilina; STX, trimetoprim/sulfametoxazol.

La figura 1 muestra que el 100% de los aislamientos presentaron susceptibilidad a la penicilina y ampicilina. El 2% de estos presentó resistencia al trimetoprim/sulfametoxazol (MIC: 4  $\mu\text{g/mL}$ ). Lo cual podría tenerse en cuenta, en caso de dar tratamiento, ya que los aislamientos resistentes al trimetoprim/sulfametoxazol fueron sensibles a la ampicilina y la penicilina.

Los demás antibióticos del panel MICRroSTREP plus 3 fueron analizados igualmente (Tabla 6).

**Tabla 6.** Perfil de Susceptibilidad antimicrobiana de los demás antibióticos estudiados en aislamientos de *L. monocytogenes*.

Antimicrobiano	Puntos de Corte ( $\mu\text{g/mL}$ )			Rango MIC	MIC 50	MIC 90	No. De aislamientos (%)		
	R	I	S				R	I	S
Amox/Clav	$\geq 2$	-	$\leq 2$	0,25-0,5	0,25	0,25	0(0)	0(0)	45(100)
Meropenem	$\geq 16$	8	$\leq 4$	0,06-0,5	0,25	0,25	0(0)	0(0)	45(100)
Rifampicina	$\geq 4$	2	$\leq 1$	0,5-0,5	0,5	0,5	0(0)	0(0)	45(100)
Ciprofloxacina	$\geq 4$	2	$\leq 1$	0,25-4	1	1	1(2,2)	1(2,2)	43(95,6)
Clindamicina	$\geq 4$	1-2	$\leq 0,5$	0,5-4	4	4	34(75,6)	9(20)	2(4,4)
Azitromicina	$\geq 8$	4	$\leq 2$	0,5-8	1	1	4(8,9)	0(0)	41(91,1)
Eritromicina	$\geq 8$	1-4	$\leq 0,5$	0,25-8	0,25	0,25	4(8,9)	0(0)	41(91,1)
Cloranfenicol	$\geq 32$	16	$\leq 8$	4-16	8	8	0(0)	1(2,2)	44(97,8)
Tetraciclina	$\geq 16$	8	$\leq 4$	1-2	1	2	0(0)	0(0)	45(100)

Vancomicina	≥32	8-16	≤4	1-2	1	1	0(0)	0(0)	45(100)
-------------	-----	------	----	-----	---	---	------	------	---------

El 100% de los aislamientos fueron sensibles a amoxicilina/ ácido clavulánico, meropenem, rifampicina, tetraciclina y vancomicina. Entre un 90-98% de los aislamientos fueron sensibles a ciprofloxacina, azitromicina, eritromicina, cloranfenicol. Mientras que un 75,6% de los aislamientos fueron resistentes a la clindamicina, con una MIC<sub>90</sub> de 4µg/mL, lo cual concuerda con resultados reportados en Colombia por Ruiz, *et al.* 2011 (55) donde obtuvieron una resistencia del 70% de los aislamientos a clindamicina, Carrascal, 2012 (69) informó 47,2% aislamientos resistentes y 44,2% aislamientos de resistencia intermedia al antibiótico; resistencia que Brisson-Noel, *et al.* 1988 (72) explicaron por medio de la producción de enzimas que modifican la estructura del antibiótico, y por lo tanto conlleva a una acción ineficiente por parte del mismo.

La eritromicina es un antibiótico de elección secundaria en pacientes diagnosticados con listeriosis. En la presente investigación se encontraron 4 aislamientos resistentes, estudios realizados por MacGowan, *et al.* 1990 (73) reportaron un aislamiento resistente, Ruiz, *et al.* 2011 (55) informaron 9% de sus aislamientos con resistencia intermedia, mientras Carrascal, 2012 (69) obtuvo 16,7% aislamientos resistentes a eritromicina en Colombia, lo cual podría asociarse con la transferencia de un gen llamado plP811 de *Enterococcus* spp que otorga resistencia al cloranfenicol, eritromicina y estreptomina como se ha reportado previamente (20).

Con respecto a la ciprofloxacina y la azitromicina, con las que se presentaron uno (2,2%) y 4(8,9%) aislamientos resistentes respectivamente, diferentes autores han descrito resultados similares, como Ruiz, *et al.* 2011 (55) donde obtuvieron 2% de cepas resistentes a azitromicina y 30% con resistencia intermedia a la ciprofloxacina en los aislamientos analizados, mientras Carrascal, 2012 (69) informó 2,8% de aislamientos resistentes y 16,7% con resistencia intermedia a la ciprofloxacina, y 19,4% de aislamientos resistentes a la azitromicina; De Nes, *et al.* 2010 (74) reportó un aislamiento con resistencia intermedia a la ciprofloxacina, lo cual puede analizarse como una pérdida en la susceptibilidad al antibiótico.

El presente estudio mostró aislamientos resistentes al trimetoprim/sulfametoxazol, clindamicina, eritromicina, azitromicina y ciprofloxacina, a partir de muestras de carne. Y a pesar que la industria porcícola colombiana está autorizada para usar antimicrobianos con fines terapéuticos, algunos productores los usan de manera indiscriminada con dosis subterapéuticas o como promotores de crecimiento, lo que puede llevar a la aparición de resistencia bacteriana (54). A pesar de tener una normativa como el Decreto 2270 del 2012 (16) para vigilar y controlar la comercialización de estos productos, existen aun deficiencias en este control.

## Conclusiones

Se encontró una incidencia del 33,3% de *L. monocytogenes* en las muestras de carne de cerdo, lo cual demuestra la importancia de este alimento como posible vehículo de transmisión de este microorganismo en el país.

El estudio mostró que los aislamientos de *L. monocytogenes* fueron sensibles a los antibióticos más comúnmente utilizados para tratar la listeriosis humana (Ampicilina, penicilina y trimetoprim/sulfametoxazol).

Las cepas analizadas fueron sensibles al cloranfenicol, tetraciclina y rifampicina, los cuales son antibióticos de segunda elección para la listeriosis, pero de los cuales se han reportado aislamientos resistentes (12,20-21).

### **Agradecimientos**

A mi familia que me apoya incondicionalmente, y me guía para ser mejor persona y profesional. A la doctora Ana Karina Carrascal por brindarme la oportunidad de trabajar con ella y todo lo que me ha brindado en este proceso para mi vida profesional.

### **Bibliografía**

1. Torres K, Poutou R, Carrascal A, Mercado M. Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. *Revista MVZ Córdoba* 2005; **10** (1): 511-543.
2. Okovic C, Michanie S. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en salchichas Por hibridación de DNA. *Alimentación latinoamericana* 1997; **219**: 38-43.
3. Hein I, Klinger S, Dooms M, Flekna G, Stess B, Leclercq A, Hill C, Allerberger F, Wagner M. Stress Survival Islet 1 (SSI-1) Survey in *Listeria monocytogenes* Reveals an Insert Common to *Listeria innocua* in Sequence Type 121 *L. monocytogenes* Strains. *Applied and Environmental Microbiology* 2011; **77** (6): 2169–2173.
4. Gasanov U, Hughes D, Hansbro P. Methods for the isolation and identification of *Listeria* sp. And *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS microbiology Review* 2005; **29**: 851-875.
5. Ribet D, Hamon M, Gouin E, Nahori M, Impens F, Neyret H, Gevaert K, Vandekerckhove J, Dejean A, Cossart P. *Listeria monocytogenes* impairs SUMOylation for efficient infection. *Nature* 2010; **464**: 1192-1195.
6. FAO. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. [Ftp://ftp.fao.org/es/esn/jemra/mra4\\_es.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/jemra/mra4_es.pdf). Consultada el 21 de septiembre de 2011.
7. Thévenot D, Dernburg A, Vernoz C. An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its product. *Journal of Applied Microbiology* 2006; **101**: 7-17.
8. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological reviews* 1991; **55** (3):476-511.
9. Beloeil PA, Chauvin C, Toquin MT, Fablet C, Le Nôtre Y, Salvat G, Madec F, Fravallo P. *Listeria monocytogenes* contamination of finishing pigs: an

- exploratory epidemiological survey in France. *Veterinary Reserch* 2003; **34** (6):737-748.
10. Olsen S, Patrick M, Hunter S, Reddy V, Kornstein L, et al. Multistate Outbreak of *Listeria monocytogenes* Infection Linked to Delicatessen Turkey Meat. *Clinical Infectious Diseases* 2005; **40**:962–967.
  11. Medrano M, Restrepo S, Consuelo M. Tipificación molecular de *Listeria monocytogenes* aisladas de muestras clínicas y alimentos. *Biomédica* 2006; **26** (3): 442-450.
  12. Aureli P, Ferrine AM, Mannoni V, Hodzic S, Wedell C, Oliva B. Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics. *Journal of Applied Microbiology* 2003; **83**:325-330.
  13. INS. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco en Colombia. [Http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20LISTERIA%20EN%20LPC.pdf](http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20LISTERIA%20EN%20LPC.pdf) Consultada el 01 de octubre de 2012.
  14. US Food and Drug Administration. Bad Bug Book. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. *Listeria monocytogenes*. [Http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap6.html](http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap6.html). Consultada el 25 de septiembre de 2011.
  15. Farber J. Present situation in Canada Regarding *Listeria monocytogenes* and Ready-to-eat Seafood Products. *International Journal of Food Microbiology* 2000; **62**: 247-251.
  16. Ministerio de la protección social. DECRETO 1500 de 2007.
  17. Ministerio de la protección social. DECRETO 2270 de 2012.
  18. Revista Alimentos. De la granja a la casa. [Http://www.revistaialimentos.com.co/ediciones/edicion-7/sector-destacado-carnicos/de-la-granja-a-la-mesa.htm](http://www.revistaialimentos.com.co/ediciones/edicion-7/sector-destacado-carnicos/de-la-granja-a-la-mesa.htm). Consultada el 25 de septiembre de 2011.
  19. Formulario Modelo de la OMS 2004 [Http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5422s/s5422s.pdf](http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5422s/s5422s.pdf). Consultada el 18 de octubre de 2012.
  20. Charpentier E, Courvalin P. Minireview. Antibiotic Resistance in *Listeria* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; **43**: 2103-2108.
  21. Gluchowska J, Markiewicz Z. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiologica Polonica* 2003; **52**:113-129.
  22. Ivanek R, Gröhn Y, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* in Multiple Habitats and Host Populations: Review of Available Data for Mathematical Modeling. *Foodborne Pathogens and Disease* 2006; **3** (4): 319-336.
  23. Grif K, Hein I, Wagner M, Brandl E, Mpamugo O, McLauchlin J, Dierich MP, Allerberger F. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* in the feces of healthy Austrians. *Wien Klin Wochenschr* 2011; **113** (19):737- 742.
  24. Vázquez JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez G, Goebel W, González B, Wehland J, Kreft J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology* 2001; **14** (3):584-640.
  25. Marzocca M.A, Marucci P.L, Sica M.G, Alvarez E.E. Detección de *Listeria monocytogenes* en distintos productos alimenticios y en muestras ambientales de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca (Argentina). *Revista Argentina de Microbiología* 2004; **36** (4): 179-181.
  26. Belalcazar ME, Poutou RA, Torres KJ, Gallegos JM, Torres O, Carrascal AK. *Listeria monocytogenes* y Listeriosis Animal. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica* 2005; **8**: 95-101.

27. Pan Y, Breidt F, Kathariou S. Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; **72** (12):7711-7717.
28. Chasseignaux E, Gerault P, Toquin MT, Salvat G, Colin P, Ermel G. Ecology of *Listeria monocytogenes* in the environment of raw poultry meat and raw pork meat processing plants. *FEMS Microbiology Letters* 2002; **210** (2):271-275.
29. Sleator RD, Gahan CG, Hill C. A postgenomic appraisal of osmotolerance in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; **69** (1):1-9.
30. Purkrťová S, Turoňová H, Pilchová T, Demnerová K, Pazlarová J. Resistance of *Listeria monocytogenes* Biofilms to Disinfectants. *Czech Journal of Food Sciences* 2010; **28** (4): 326–332.
31. Simón M, Tarragó C, Ferrer MD. Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona (Spain). *The International Journal of Food Microbiology* 1992; **16** (2):153-156.
32. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, Valk H. Increasing Incidence of Listeriosis in France and Other European Countries. *Emerging Infectious Diseases*. 2008; **14** (5): 734–740.
33. Farber M, Rossb W, Harwig J. Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. *International Journal of Food Microbiology* 1996; **30**:145-156.
34. Vera H, Ferro C, Triana L. Laboratorio de Salud Publica y Secretaria Distrital de Salud, Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos cocidos para directo consumo, analizados en el laboratorio de salud pública de Bogotá 1 de septiembre 2001 - 31 agosto del 2004. <http://www.docstoc.com/docs/3180422/PREVALENCIA-DE-Listeria-monocytogenes-EN-DERIVADOS-CARNICOS-COCIDOS-PARA-CONSUMO>. Consultada el 19 de Junio de 2012.
35. Gamboa A, Buitrago S, Pérez K, Mercado M, Poutou R, Carrascal A. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in pork-meat and other processed products from the Colombian swine industry. *Revista MVZ Córdoba* 2012; **17** (1): 2827-2833.
36. McLauchlin J, Hall S M, Velani S K, Gilbert R J. Human Listeriosis and Paté: a Possible Association. *British Medical Journal* 1991; **303**: 773-775.
37. Pinner RW, Schuchat A, Swaminathan B, Hayes P, Deaver K, Weaver R, Plikaytis B, Reeves M, Broome C, Wenger J. Role of Foods in Sporadic Listeriosis II. Microbiologic and Epidemiologic Investigation. *Journal of the American Medical Informatics Association* 1992; **267**: 2046-2050.
38. Dalton CB, Austin C, Sobel J, Hayes P, Bibb W, Graves L, Swaminathan B, Proctor MGriffin P M. An Outbreak of Gastroenteritis and Fever Due to *Listeria monocytogenes* in Milk. *The New England Journal of Medicine* 1997; **336**(2): 100-105.
39. Graham J, Lanser S, Bignardi G, Pedler SHollyoak V. Hospital Acquired Listeriosis. *The Journal of Hospital Infection* 2002; **51**: 136-139.
40. Riedo FX, Pinner RW, Tosca MD, Cartter ML, Graves LM, Broome CV. A Point-source Food-borne Listeriosis Outbreak: Documented Incubation Period and Possible Mild Illness. *Journal of Infectious Diseases* 1994; **170**: 693-696.
41. Silver H. Listeriosis During Pregnancy. *Obstetrical and Gynecological Survey* 1998; **53** (12): 737-740.

42. Schuchat A. Listeriosis and Pregnancy: Food for Thought. *Obstetrical and Gynecological Survey* 1997; **52**: 721-722.
43. Schlech W. Overview of Listeriosis. *Food Control* 1996; **7** (4): 183-186.
44. Doyle ME. Virulence Characteristics of *Listeria monocytogenes*. <https://fri.wisc.edu/docs/pdf/virulencelmono.pdf>. Consultado el 20 de septiembre de 2012.
45. Vázquez J, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez G, Goebel W, González B, Wehland J, Kreft J. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology Review* 2001; **14** (3): 584-640.
46. Lecuit M, Cossart P. Genetically-modified-animal Models for Human Infections; the *Listeria* Paradigm. *TRENDS in Molecular Medicine* 2002; **8** (11): 537-542.
47. Mackaness GB, Hill WC. The Effect of Anti-lymphocyte Globulin on Cell-mediated Resistance to Infection. *Journal of Experimental Medicine* 1969; **129**: 993-1012.
48. Edelson B, Cossart P, Unanue R. Paradigm Revisited: Antibody Provides Resistance to *Listeria* Infection. *Journal of Immunology* 1999; **163** (8):4087-4090.
49. CDC. *Listeria* (Listeriosis). [Http://www.cdc.gov/listeria/treatment.html](http://www.cdc.gov/listeria/treatment.html). Consultado el 20 de Junio de 2012.
50. Granier S, Moubareck C, Colaneri C, Lemire A, Roussel S, Dao T, Courvalin P, Brisabois A. Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolates from Food and the Environment in France over a 10-Year Period. *Applied and Environmental Microbiology* 2011; **77** (8): 2788–2790.
51. Poyart C, et al. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet* 1990; **335**: 1422-14226.
52. Rota C, Yanguela D, Blanco D, Carraminana J, Arino A, Herrera A. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in 144 *Listeria* isolates from Spanish dairy and meat products. *Journal of Food Protection* 1996; **59**: 938-943.
53. Vela AI, Fernández JF, Vazquez JA, Latre MV, Blanco MM, et al. Molecular typing by pulsed-field gel electrophoresis of Spanish animal and human *Listeria monocytogenes* isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 2001; **67**(12):5840-5843.
54. Hernández B, Godoy J. Resistencias a antibióticos en *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* enterica aislados de alimentos de origen animal. *Revista salud ambiental* 2004; **4**: 42-46.
55. Ruiz Z, Neuque M, Poutou RA, Carrascal AK, Mattar S. Antimicrobial Susceptibility of *Listeria monocytogenes* Food Isolates from Different Cities in Colombia. *Foodborne Pathogens and Disease* 2011; **8** (8): 913-919.
56. Filioussis G, Johansson A, Frey J, Perreten V. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control* 2009; **20**:314–317.
57. Morvan A, Moubareck C, Leclercq A, Hervé-Bazin M, Bremont S, et al. Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Humans in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010; **54** (6): 2728-2731.
58. Ruiz Z, Poutou RA, Carrascal AK. Resistencia antimicrobiana y a desinfectantes de *Listeria* spp. *Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas* 2008; **6** (10): 101-236.

59. Comparison of NMKL no 136 and ISO 11290 method. [Http://www.nmkl.org/Publikasjoner/Sammenlikning/Comparision%20of%20NMKL%20no%20136%20and%20ISO%2011290.pdf](http://www.nmkl.org/Publikasjoner/Sammenlikning/Comparision%20of%20NMKL%20no%20136%20and%20ISO%2011290.pdf). Consultada el 28 de Octubre de 2011.
60. Sambrook J, Fritsch E.F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Segunda edición. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, New York, 1989.
61. Burbano EM, Carrascal AK, Mercado M, Poutou RA. Validación de PCR para *Listeria monocytogenes* en Leches. *ACTA – Asociación Colombiana de Ciencias y Tecnología de Alimentos* 2007; **10**: 39-48.
62. Greenberg R, Daniela S, Flanders D, Eley J, Boring J. *Epidemiologia medica*. Cuarta edición. Editorial manual Moderno. México. 2005, 21p.
63. CLSI. Performance Standard s for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement M11-S22. 2012. Volume 32 N° 3.
64. United States Department of Agriculture Food Safety And Inspection Service, Office of Public Health Science. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples. [Http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG\\_8\\_07.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_8_07.pdf). Consultada el 29 de Octubre de 2012.
65. Poutou R, Burbano M, Sierra S, Torres K, Carrascal A, Mercado M. Estandarización de la extracción de ADN y validación de la PCR múltiple para detectar *Listeria monocytogenes* en queso. *UNIVERSITAS SCIENTIARUM* 2005; **10** (2): 61-78.
66. Gudbjornsd B, Suihko M, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjoberg A, Niclasen O, Bredholt S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology* 2004; **21**: 217–225.
67. Crespo M, Vélez J, Castañeda C, Hoyos F, López M, Salazar. J. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel. *Revista Colombia Médica* 1999; **30** (2): 89-98.
68. Martínez L, Joyanes P, Suarez AI, Perea EJ. Activities of gemifloxacin and five other antimicrobials agents against *Listeria monocytogenes* and Coryneform bacteria isolated from clinical samples. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; **45**: 2390–2392.
69. Carrascal A. factores de riesgo de *Listeria monocytogenes* en la industria cárnica colombiana. Seminario de actualización 3M Bogotá Mayo 2012.
70. Lyon S, Berrang M, Fedorka P, Fletcher D, Meinersmann R. Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from a Poultry Further Processing Plant. *Foodborne Pathogens and Disease* 2008; **5**: 253–259.
71. Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 2009; **128**: 497–500.
72. Brisson-Noel A, Delrieu P, Samain D, and Courvalin P. Inactivation of lincosamide antibiotics in *Staphylococcus*: identification of Incosaminide o-nucleo-tidyltransferases and comparison of the corresponding resistance genes. *Journal of Biological Chemistry* 1988; **263**: 15880–15887.
73. MacGowan A P, Reeves D S, McLauchlin J. Antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet* 1990; **336**: 513–514.
74. De Nes F, Pelicioli G, Guedes A, Alves d'Azevedo P, Frazzon J. Antimicrobial resistance and investigation of the molecular epidemiology of *Listeria*

*monocytogenes* in dairy products. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2010; **43**: 382–385.