

ARTICULO DE INVESTIGACIÓN

Determinación del perfil de sensibilidad a antibióticos de Listeria spp. en aislamientos de leche cruda de vaca, Tunja

Determination of antimicrobial sensibility pattern of *Listeria* spp. isolated from raw cow milk, Tunja

Determinação do perfil de susceptibilidade a antibióticos de *Listeria* spp. em isolados de leite cru de vaca, Tunja

Eliana Ximena Urbano-Cáceres¹, Astrid Maribel Aguilera-Becerra¹, Claudia Patricia Jaimes-Bernal^{1*}

¹ Grupo de Investigación del programa de Bacteriología y laboratorio clínico, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia

*Correspondencia: Dirección: Carrera 2a Este N° 64-169 Tunja, Colombia Tel: 745-0000, extensión 5412

Correo electrónico: cpjaimes@uniboyaca.edu.co

Fecha de recibido: 05-23-2016 •••••• Fecha de aceptación: 02-07-2017

Citar este artículo así:

Urbano-Cáceres EX, Aguilera-Becerra AM, Jaimes-Bernal CP. Determinación del perfil de sensibilidad a antibióticos de *Listeria* spp. en aislamientos de leche cruda de vaca, Tunja. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2017;4(1):38-52. DOI: http://dx.doi.org/10.24267/23897325.195

RESUMEN

Introducción. La presencia de especies de *Listeria* spp. en alimentos, se ha convertido en un problema de salud pública, considerando su capacidad patógena, especialmente la de *L. monocytogenes*.

Objetivo. Determinar el perfil de sensibilidad de cepas de *Listeria* spp. aisladas de muestras de leche cruda de vaca en fincas del municipio de Tunja, Boyacá.

Metodología. Se analizaron 293 muestras de leche cruda de vaca obtenidas de las cantinas de almacenamiento; para el aislamiento y la identificación bioquímica de *Listeria* spp., se hizo preenriquecimiento en caldo Fraser (Oxoid), incubación a 4 °C, aislamiento en medio Palcam (Oxoid) e identificación utilizando Microbact Listeria L-12 (Oxoid). El perfil de sensibilidad a los antibióticos se determinó por el método de difusión de disco.

Resultados. La prevalencia total de *Listeria* spp. fue de 9,89 % (n=29). La especie más prevalente fue *L. seeligeri* (7,17 %) y la menos prevalente, *L. grayi* (0,34 %). *Listeria monocytogenes* presentó una prevalencia de 2,7 %. Se determinó que todos los aislamientos de *Listeria* spp. eran sensibles a la penicilina y a la ampicilina. Un aislamiento de *L. monocytogenes* fue resistente a ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclina, mientras que las demás fueron sensibles a los antibióticos evaluados.

Conclusiones. Se determinó la presencia de varias especies de *Listeria* spp., incluyendo *L. monocytogenes*, la cual se considera de importancia en salud pública. Presentaron sensibilidad a la mayoría de los antibióticos analizados, excepto a clindamicina; asimismo, se reporta un caso aislado de resistencia a tetraciclina en una cepa de *L. monocytogenes* y se determinó la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol.

Palabras clave: inocuidad de los alimentos, productos lácteos, inspección de alimentos, bacterias Gram positivas.

SUMMARY

Introduction: The presence of the *Listeria* species in food has become a public health concern, considering its pathogenicity, especially due *L. monocytogenes*.

Objective: This study aimed to determine the susceptibility of *Listeria* spp. strains isolated from raw cow's milk samples on farms of the municipality of Tunja, Boyacá.

Methodology: Two hundred and ninety three raw cow's milk samples were analyzed, obtained from bulk milk cooling tanks; isolation and identification of *Listeria* spp. using pre-enrichment in Fraser supplement (Oxoid), incubation at 4° C, isolation in the Palcam medium (Oxoid) and distinguishing by means of Microbact Listeria L-12 (Oxoid) was carried out. The sensitivity profile was determined by the disk diffusion method.

Results: The total prevalence of *Listeria* spp. was 9.89% (n=29). *Listeria seeligeri* was the most prevalent species (7.17%) and *L. gravi* was the less prevalent (0.34%). Prevalence of *L. monocytogenes* was 2.7%. It was determined that all *Listeria* spp. isolates were susceptible to penicillin and ampicillin. An isolation of *L. monocytogenes* was resistant to ciprofloxacin, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole and tetracycline, while the others were sensitive to the antibiotics evaluated.

Conclusions: The presence of several species of *Listeria* was determined, including *L. monocytogenes*, which is considered of importance in public health. Susceptibility to most of the antibiotics analyzed except for clindamycin was reported. In addition, an isolated case of tetracycline resistance was reported in a strain of *L. monocytogenes* and resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole was determined.

Key words: Food safety, dairy products, food inspection, Gram-positive bacteria

RESUMO

Introdução. A presença de espécies de *Listeria* spp. em alimentos, tornou-se um problema de saúde pública, considerando sua capacidade patogênica, especialmente na *L. monocytogenes*.

Objetivo. Determinar o perfil de sensibilidade da linhagem *Listeria* spp. isolada a partir de amostras de leite de vaca cru em fazendas do município de Tunja, Boyaca.

Metodologia. Foram analisadas 293 amostras de leite de vaca cru obtidas a partir dos barris de armazenamento de leite; para o isolamento e identificação bioquímica da *Listeria* spp., foi realizado um pré-enriquecimento em Fraser Broth (Oxoid), incubação a 4 °C, isolamento em meio Palcam (Oxoid) e identificação usando Microbact Listeria G-12 (Oxoid). O perfil de sensibilidade aos antibióticos foi determinada pelo método de difusão em disco.

Resultados. A prevalência total da *Listeria* spp. foi de 9,89% (n = 29). A linhagem com maior prevalencia foi da *L. seeligeri* (7,17%) e com menor prevalencia *L. grayi* (0,34%). *Listeria monocytogenes* mostrou uma prevalência de 2,7%. Todos os isolados de *Listeria* spp. foram sensíveis à penicilina e ampicilina. Um isolamento de *L. monocytogenes* foi resistente ao antibiótico ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol e tetraciclina, enquanto outros forma sensíveis a estes antibióticos.

Conclusões. Determinou-se a presença de várias espécies de *Listeria* spp., incluindo *L. monocytogenes*, considerada de importância na saúde pública. As linhagens foram sensíveis à maioria dos antibióticos testados excepto clindamicina; Além disso, um isolado foi resistente a tetraciclina na linhagem *L. monocytogenes* e foi determinada a resistência a trimetoprim-sulfametoxazol.

Palavras-chave Segurança alimentar, Laticínios, inspeção de alimentos, bacterias Gram positivas.

INTRODUCCIÓN

Listeria spp. es un microorganismo ubicuo que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza: suelos, aguas residuales, comida animal y vegetal, productos lácteos sin pasteurizar y desechos de mataderos, así como en el tubo digestivo de humanos y animales asintomáticos (1).

Hasta el momento, se han descrito 17 especies de Listeria spp., a saber: L. innocua, L. seeligeri, L. welshimeri, L. grayi, L. ivanovii, L. monocytogenes, L. marthii, L. rocourtiae, L. weihenstephanesis y L. fleischmannii (2) y, recientemente publicadas: L. floridensis, L. aquatica, L. cornellensis, L. riparia, L. grandensis, L. booriae y L. newyorkensis (3,4). Listeria monocytogenes causa enfermedad grave en humanos y en animales, mientras que L. ivanovii se ha visto más asociada a infecciones en animales (5,6).

La contaminación humana con cepas patógenas de *Listeria* spp. puede ocurrir por el consumo de leche cruda, sus derivados o por la ingestión de alimentos procesados contaminados después del proceso (1). *Listeria monocytogenes* produce una enfermedad denominada listeriosis que en el hombre se presenta de dos formas: la invasiva, que puede afectar el sistema nervioso central y conducir a la muerte, o dejar secuelas neurológicas,

y la forma no invasiva, que ocasiona un síndrome gastrointestinal (7).

Considerada una zoonosis, la listeriosis se adquiere principalmente por la ingestión de alimentos contaminados o verticalmente de madre a hijo; sin embargo, a pesar de presentarse con una baja frecuencia, en la actualidad es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más letales, que causa gran alarma a nivel mundial entre productores de alimentos, consumidores y autoridades sanitarias (8).

Debido a sus características, la listeriosis presenta una distribución a nivel mundial (9); se han reportado brotes epidemiológicos importantes desde finales del siglo XX en diferentes países, como Estados Unidos (9,10), y en la Unión Europea en donde se reportaron brotes en 23 países (11); más recientemente, entre los años 2015 y 2016, en Estados Unidos y Canadá se reportaron brotes de *L. monocytogenes* originados por el consumo de vegetales y alimentos frescos (12).

El factor más alarmante de la listeriosis no es la incidencia, sino la tasa de hospitalización (90 %) que supera a la mayoría de los agentes patógenos implicados en las enfermedades transmitidas por alimentos, y sobre todo la tasa de mortalidad en humanos (20 a 30 %); la situación para los animales

es muy similar, pese a que se han establecido tratamientos apropiados con antimicrobianos en ambos casos (1).

Hasta hace unos años, se consideraba que los aislamientos de *L. monocytogenes*, así como los de otras especies de *Listeria*., mostraban una sensibilidad a un amplio rango de antibióticos activos contra bacterias Gram positivas (1). Desde hace varios años, diversos grupos de investigación han enfocado sus estudios en la determinación de los perfiles de sensibilidad a antibióticos en *Listeria* spp., provenientes tanto de humanos como de alimentos y el ambiente (13-17), quizá debido al uso indiscriminado que se hace en la actualidad de los antimicrobianos.

Dado que se ha reportado la adquisición y la diseminación de la resistencia a los antibióticos por L. monocytogenes y otros miembros del género, se hace necesario determinar la sensibilidad a los mismos, no solamente en aislamientos clínicos sino a los provenientes de otros ambientes, en especial, a los de alimentos, considerando que constituyen los vehículos de transmisión primaria de la listeriosis (1).

De ahí, la importancia de evaluar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de aquellas cepas de *Listeria* spp. aisladas de leche cruda de vacas del municipio de Tunja, Boyacá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se planteó un estudio de tipo cuantitativo, descriptivo y de corte transversal. Se recolectaron muestras provenientes de cantinas que almacenaban leche cruda; se seleccionaron mediante un muestreo no probabilístico a conveniencia en fincas lecheras de Tunja.

El tamaño de la muestra se calculó acorde con una prevalencia de 25,9 % de *L. monocytogenes* registrada en estudios previos (18); para el tamaño de la población, se utilizó el número de cabezas de ganado existentes que, para la ciudad de Tunja en el 2011, era de 6.948 (19), contemplando un error absoluto del 5 % y con un nivel de confianza del 95 %, se estimó un tamaño de muestra de 293 (muestra calculada con el programa Epilnfo). Considerando la inexistencia de datos respecto al número de cantinas utilizadas en cada finca, la muestra se calculó con base en el número de cabezas de ganado.

Recolección de muestras

Las muestras se tomaron en condiciones asépticas y fueron transportadas en refrigeración hasta el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Boyacá, donde se almacenaron a 4 °C hasta el momento del procesamiento.

Los criterios tenidos en cuenta para la selección de las muestras fueron los siguientes: 1) todas las fincas debían pertenecer al cordón lechero de Tunja; 2) leche cruda sin ningún proceso inicial de pasteurización, y 3) participación voluntaria por parte del dueño de la finca, que almacene leche de vaca en cantinas.

Se analizaron 293 muestras de leche obtenidas de las cantinas de almacenamiento de 40 litros, provenientes de los hatos lecheros del municipio de Tunja.

Aislamiento microbiológico

Las muestras fueron clasificadas por lotes de acuerdo con los días en los que se recolectaron (tabla 1); se incluyeron un control negativo (muestra de leche pasteurizada) y un control positivo, correspondiente a *L. monocytogenes* ATCC 7744.

El procesamiento de las muestras se basó en tres técnicas:

- técnica de presencia o ausencia descrita por el Invima en su "Manual de métodos microbiológicos",
- técnica de presencia o ausencia basada en el método propuesto en el Bacterial Analytical Manual, y

 Norma ISO 11290, método horizontal para la detección y recuento de L. monocytogenes.

Dichas técnicas se fundamentan en un preenriquecimiento, un enriquecimiento y el posterior aislamiento en medios de cultivo selectivos diseñados para la recuperación del microorganismo (Agar Palcam, agar Ottaviani-Agosti-Agar ALOA-, agar Oxford, agar MOX). Para la caracterización bioquímica, se utilizó el kit Microbact Listeria L-12 Identification System® (Oxoid), el cual permite identificar el género y las especies de *Listeria* spp.

Perfil de sensibilidad

Las cepas aisladas e identificadas se recuperaron en placas con agar tripticasa de soya con 0,6 % de extracto de levadura, a 37 °C por 48 horas. Para los ensayos de sensibilidad, se empleó la técnica de difusión de Kirby-Bauer (20).

Después de la recuperación de las cepas y siguiendo el protocolo propuesto por Villalobos, et al., de tres a cinco colonias se transfirieron a solución fisiológica al 0,85 %, para la obtención de una suspensión bacteriana con un patrón de turbidez de McFarland de 0,5, el equivalente a 108 UFC/ml.

Una vez ajustada la turbidez, se inocularon superficies secas de placas con agar de Mueller-Hinton (Oxoid), con sangre de cordero, la cual se utilizó para evidenciar la presencia de hemólisis de las cepas encontradas de *Listeria* spp. Se colocaron cuatro discos de antibióticos por placa.

Los antibióticos utilizados fueron ampicilina (10 μ g), penicilina (10 μ g), tetraciclina (30 μ g), trimetoprim-sulfametoxazol (25 μ g), gentamicina (10 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), clindamicina (5 μ g), eritromicina (15 μ g) y vancomicina (30 μ g) (Oxoid) (1,21). Las concentraciones de los antibióticos utilizados fueron los usados comercialmente.

Las placas se incubaron por 48 horas a 37 °C (1). Después de la incubación, se midió e interpretó el diámetro (en milímetros) de la zona alrededor de cada disco según los lineamientos del National Committee for Clinical Laboratory Standards

(NCCLS) (21), para clasificar la sensibilidad del antibiótico en cada cepa, como sensible, moderadamente sensible, intermedio o resistente.

Como control de calidad, se empleó la cepa *L. monocytogenes* ATCC 7744.

RESULTADOS

Se procesaron seis lotes de muestras de leche cruda de vaca provenientes de cantinas, recolectadas en los meses comprendidos entre octubre de 2014 y junio de 2015, para un total de 293 muestras (tabla 1). Durante el procesamiento de cada uno de los lotes, se incluyó un control negativo (muestra de leche pasteurizada) y un control positivo (*L. monocytogenes* ATCC 7744).

Tabla 1. Número de muestras analizadas por lote

Lоте	n	Fecha de recolección
1	30	2 de octubre de 2014
2	50	28 de enero de 2015
3	11	13 de marzo de 2015
4	51	17 de abril de 2015
5	51	15 de mayo de 2015
6	100	22 de junio de 2015
Total	293	

De las 293 muestras analizadas, ocho fueron positivas para *L. monocytogenes*, es decir, 2,7 % (IC95% 0,84-4,55). Asimismo, se aislaron e identificaron 21 cepas de *L. seeligeri*, es decir, 7,17 %; tres cepas de *L. ivanovii* y *L. welshimeri*, cada una con 1,02 %, y una cepa de *L. grayi* con 0,34 %.

se probaron los antibióticos ampicilina (10 μ g), penicilina (10 μ g), tetraciclina (30 μ g), trimeto-prim-sulfametoxazol (25 μ g), gentamicina (10 μ g), ciprofloxacina (5 μ g), clindamicina (5 μ g), eritromicina (15 μ g) y vancomicina (30 μ g) (1, 21). Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2.

La prevalencia total de *Listeria* spp. fue de 9,89 % (n=29). Para los aislamientos de *Listeria* spp.,

Tabla 2. Perfil de sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. a los antibióticos probados por la técnica de difusión en discos

	(µg/ml)			CEPAS SENSIBLES (%)	
Антівіотісо	R	ı	S	L. MONOCYTOGENES	LISTERIA SPP.
Ampicilina			≤2	100	100
Ciprofloxacina	≥4	2	≤1	86	100
Clindamicina	≥4	1-2	≤0,5	0	0
Eritomicina	≥8	1-4	≤0,5	80	100
Gentamicina	≥4	2	≤1	90	97
Trimetoprim-sulfametoxazol	≥4	0,6-3,9	≤0,5	87	83
Penicilina			≤2	100	100
Tetraciclina	≥16	8	≤4	90	100
Vancomicina	≥4	2	≤1	100	100

R: resistencia; I: intermedio; S: sensibilidad

DISCUSIÓN

La presencia de *Listeria* spp. en leche cruda puede deberse a contaminación fecal o ambiental durante el ordeño, los procesos de almacenamiento (tanques o cantinas) y transporte, la presencia de vacas infectadas en las granjas lecheras, y la mala calidad del almacenamiento. Asimismo, la falta de prácticas de higiene durante el procesamiento y la producción de los derivados de la leche, también puede contribuir a aumentar los niveles de contaminación (22).

Los resultados obtenidos en el presente estudio reflejan la probable falta de prácticas higiénicas estrictas al momento de manipular la leche, o durante el proceso de su recolección y almacenamiento, lo que se pudo observar en algunos de los lugares donde se realizó el muestreo.

Jamali, et al., reportaron una prevalencia de Listeria spp. de 22,5 %, de las cuales el 57,8 % correspondieron a L. innocua, el 21,7 % a L. monocytogenes, el 12 % a L. welshimeri y el 8,4 % a L. seeligeri, datos obtenidos del análisis de 446 muestras tomadas en Malasia de tanques de almacenamiento de leche sin refrigeración (23). En el presente estudio, también se encontraron esas especies, pero a diferencia del anterior, se reportaron L. grayi (0,34 %) y L. ivanovii (1,02 %).

El presente estudio pone en evidencia la circulación de especies de *Listeria* spp. en la cadena productiva láctea del departamento de Boyacá. La población del departamento puede estar expuesto a presentar casos de listeriosis causada por *L. monocytogenes*, lo cual puede generar una alta tasa de hospitalización y resultar en altos costos económicos e, incluso, en pérdidas humanas. Los programas de muestreo o vigilancia deben hacerse por proceso, eligiendo puntos críticos para evitar posteriores contaminaciones en los alimentos; este tipo de actividades debe ser progresivo.

Dentro de los criterios microbiológicos establecidos para alimentos listos para el consumo, según la norma ISO 11290, se menciona que no puede crecer *L. monocytogenes* al momento de hacer dichos análisis al alimento (24), tal es el caso de productos como quesos y yogur, cuya materia prima es la leche cruda, sin previo proceso de pasterización. Por otra parte, la norma ISO 28329-1 reglamenta la ausencia de este microorganismo en el alimento (25), criterio que no se cumple en todas las muestras analizadas en este estudio debido a la presencia de agentes patógenos en el 2,7 %.

En Polonia, se aislaron 127 cepas de *Listeria* spp. provenientes de alimentos y ambientes de procesamiento alimentario (75, *L. innocua*; 49, *L. welshimeri*; 2, *L. seeligeri*, y 1, *L. grayi*), a las cuales

se les determinó la sensibilidad frente a ocho antimicrobianos: ampicilina (CIM rango: 0,125-2 μ g/ml), ciprofloxacina (0,063-8 μ g/ml), eritromicina $(0,032-2 \mu g/ml)$, gentamicina $(0,032-2 \mu g/ml)$, rifampicina (0,016-2 μg/ml), trimetoprim-sulfametoxasol (0,032-2 μ g/ml), vancomicina (0,125-8 μ g/ml) y tetraciclina (0,063-64 μ g/ml) mediante el método de microdilución y de acuerdo con la guía CLSI para L. monocytogenes. Todas las cepas fueron sensibles a ampicilina, ciprofloxacina, eritromicina, rifampicina, trimetoprim-sulfametoxasol y vancomicina. Solo dos aislamientos de L. innocua presentaron resistencia a la tetraciclina y la minociclina (15). Hallazgos similares se obtuvieron en el presente estudio, dado que se determinó que el total de las cepas de Listeria spp. eran sensibles a ampicilina (10 μ g), penicilina (10 μ g) y vancomicina (30 μ g). No se encontró ningún caso de multirresistencia.

En esta investigación se determinó que todos los aislamientos eran sensibles a la penicilina y la ampicilina, lo cual es comparable con estudios previos, como el de Ruiz, et al. (26), quienes reportaron que el 100 % de las cepas eran sensibles a la ampicilina y, el 84 %, a la penicilina; datos similares a los hallados por Harakeh, et al., quienes reportaron una sensibilidad a la ampicilina de 60 % (27). Asimismo, Santos, et al., encontraron resistencia a la ampicilina (100 %), a la penicilina (66,7 %), a la ciprofloxacina (83,4 %) y al cloranfenicol (66,7 %). El trimetoprim-sul-

fatometoxazol fue el antibiótico al que el 100% de los aislamientos fueron sensibles (28). Estos resultados demuestran que la resistencia de los aislamientos de *L. monocytogenes* a los antibióticos utilizados comúnmente para tratar la listeriosis es alarmante y se convierte en un problema serio para la salud pública (13); de ahí, la importancia de determinar el perfil de sensibilidad de las cepas aisladas.

Por otra parte, se presentaron aislamientos de *L. monocytogenes* sensibles a ciprofloxacina, a trimetoprim-sulfametoxazol y a tetraciclina, resultado comparable a los de estudios previos en los que se confirma la presencia de, al menos, una cepa sensible de muestras procedentes de alimentos e infecciones clínicas (29).

En esta investigación se evidenció la presencia de *Listeria* spp. con una prevalencia de 9,78 %, resaltando la presencia de *L. monocytogenes* en 2,7 %, el cual es un microorganismo de impacto en salud pública debido a su poder patógeno en el humano.

En cuanto al perfil de sensibilidad a los antibióticos, se concluye que los aislamientos de las especies de *Listeria* encontradas fueron sensibles a los antibióticos más comúnmente utilizados para tratar la listeriosis humana (ampicilina, penicilina y trimetoprim-sulfametoxazol).

La evaluación de la presencia de *Listeria* spp. en muestras de leche cruda, constituye una necesidad de primer orden que debe ser resuelta para evaluar el grado y el origen de la contaminación relacionada con las condiciones higiénico-sanitarias en la manipulación de la leche durante el proceso del ordeño y, en especial, en el almacenamiento de la leche en las cantinas, tal como se evidenció en el presente estudio.

Así, se concluye que esta evaluación se convierte en un aporte notable en la industria de alimentos y a nivel de salud pública, al conocimiento de la dinámica de esta bacteria en la industria láctea, que permite generar planes estratégicos de control y, de esta manera, garantizar la inocuidad de la leche cruda y sus derivados.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Boyacá, ente responsable de la financiación del estudio en su totalidad; al docente Martín Orlando Pulido, por la recolección de las muestras.

FINANCIACIÓN

Centro de Investigación para el Desarrollo CIPADE. Universidad de Boyacá.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses

REFERENCIAS

- Villalobos de Bastardo LB, Nazaret M, Elena R. Susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria* spp. aisladas de alimentos durante el período 2003-2004 Cumaná Venezuela. Rev Soc Venez Microbiol. 2006;26:31-4.
- Hellberg RS, Martin KG, Keys AL, Haney CJ, Shen Y, Smiley RD. 16S rRNA partial gene sequencing for the differentiation and molecular subtyping of *Listeria* species. Food Microbiol. 2013;36:231-40. doi: http://dx.doi. org/10.1016/j.fm.2013.06.001
- Den Bakker HC, Warchocki S, Wright EM, Allred AF, Ahlstrom C, Manuel CS, et al. Listeria floridensis sp. nov., Listeria aquatica sp. nov., Listeria cornellensis sp. nov., Listeria riparia sp. nov., and Listeria grandensis sp. nov., from agricultural and natural environments. Int J Syst Evol Microbiol. 2014;64:1882-9. doi: http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.052720-0
- 4. Weller D, Andrus A, Wiedmann M, den Bakker HC. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria*

- sing environments in the USA. Int J Syst Evol Microbiol. 2015;65:286-92. doi: http://dx.doi. org/10.1099/ijs.0.070839-0
- 5. Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of Listeria spp. and Listeria monocytogenes: a review. FEMS Microbiol Rev. 2005;29: 851-75. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j. femsre.2004.12.002
- 6. Torres K, Sierra S, Poutou R, Vera H, Carrascal A, Mercado M. Incidencia y diagnóstico de Listeria monocytogenes: microorganismo zoonótico emergente en la industria de alimentos. Rev UDCA. 2004;7:27-57.
- 7. Lukinmaa S, Miettinen M, Nakari UM, Korkeala H, Siitonen A. *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections: Variation of sero- and genotypes during an 11-year period in Finland. J Clin Microbiol. 2003;41:1694-700. :http://dx.doi.org/10.1128/ Doi JCM.41.4.1694-1700.2003
- 8. Schobitz R, Ciampi L, Nahuelquin Y. Listeria monocytogenes un peligro latente para la industria alimentaria. Agro Sur. 2009;37:1-8. doi: http://dx.doi.org/10.4206/agrosur.2009. v37n1-01

- newyorkensis sp. nov., from food proces- 9. Gilmour MW, Graham M, van Domselaar G, Tyler S, Kent H, Trout-Yakel KM, et al. High-throughput genome sequencing of two Listeria monocytogenes clinical isolates during a large foodborne outbreak. BMC genomics. 2010;11:1-15. doi: http://dx.doi. org/10.1186/1471-2164-11-120
 - 10. Graves LM, Hunter SB, Ong AR, Schoonmaker-Bopp D, Hise K, Kornstein L, et al. Microbiological aspects of the investigation that traced the 1998 outbreak of listeriosis in the United States to contaminated hot dogs and establishment of molecular subtyping-based surveillance for Listeria monocytogenes in the PulseNet network. J Clin Microbiol. 2005;43:2350-5. doi: http://dx. doi.org/10.1128/JCM.43.5.2350-2355.2005
 - 11. Denny J, McLauchlin J. Human *Listeria* monocytogenes infections in Europe--an opportunity for improved European surveillance. Euro Surveill. 2008;13;1854-861.
 - 12. Self JL, Conrad A, Stroika S, Jackson A, Burnworth L, Beal J, et al. Notes from the field: Outbreak of listeriosis associated with consumption of packaged salad - United States and Canada, 2015-2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65:879-81. doi: http:// dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6533a6.

- Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Hosseini H, Ghaemi EA, Irajian G, Naghizadeh Heidarlo M. Antimicrobial resistance of *Listeria* monocytogenes isolated from seafood and humans in Iran. Microb Pathog. 2016; 00:70-4. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j. micpath.2016.09.012
- 14. Aras Z, Ardic M. Occurrence and antibiotic susceptibility of *Listeria* species in turkey meats. Korean J Food Sci Anim Resour. 2015;35:669-73. doi: http://dx.doi. org/10.5851/kosfa.2015.35.5.669
- Korsak D, Szuplewska M. Characterization of nonpathogenic *Listeria* species isolated from food and food processing environment. Int J Food Microbiol. 2016;238:274-80. doi: http:// dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.032
- Morvan A, Moubareck C, Leclercq A, Hervé-Bazin M, Bremont S, Lecuit M, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria mono-cytogenes* strains isolated from humans in France. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:2728-31. doi: http://dx.doi.org/10. 1128/AAC.01557-09
- Troxler R, von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi, L.*

- innocua, L. ivanovii, L. monocytogenes, L. seeligeri and L. welshimeri strains. Clin Microbiol Infect. 2000;6:525-35. doi: http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00168.x
- 18. Vanegas MC, Vásquez E, Martínez AJ, Rueda AM. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw whole milk for human consumption in Colombia by real-time PCR. Food Control. 2009;20:430-2. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.07.007
- Federación Colombiana de Ganaderos (FEDEGAN). Estadísticas. Inventario ganadero. Inventario bovino por municipios, 2011. Fecha de consulta: 14 febrero de 2014. Disponible en: www.fedegan.org.co
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966;45:493-6.
- 21. Wayne P. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI Document M100-S24. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

- 22. Zamora JM, Chaves C, Arias ML. Comparación del perfil de sensibilidad a antibióticos de cepas de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico. Arch Latinoam Nutr. 2006;56:171-4.
- 23. Jamali H, Radmehr B, Thong KL. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. Food Control. 2013;34:121-5. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.023
- 24. ISO 11290-2. Fecha de consulta: 6 de junio de 2016. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/10/PRT-712.02-093%20V0%20 Rto%20placa%20L.%20monocytogenes%20 ISO%2011290-2%20V0.pdf.
- 25. ISO 28329-1. Fecha de consulta: 6 de junio de 2016. Disponible en: http://biblioteca. universia.net/html_bura/ficha/params/title/determinacion-listeria-monocytogenes-quesos-frescos-produccion-artesanal-expenden-mercados-distrito/id/65391162.html.

- 26. Ruiz-Bolivar Z, Neuque-Rico MC, Poutou-Pinales RA, Carrascal-Camacho AK, Mattar S. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* food isolates from different cities in Colombia. Foodborne Pathog Dis. 2011;8:913-9. doi: http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2010.0813
- 27. Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun E, Barbour E, Alwan N. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products. Sci Total Environ. 2009;407:4022-7. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.04.010
- 28. Santos I, Vergel CB. Determinación de los mecanismos genéticos de resistencia a desinfectantes en *Listeria monocytogenes*. [Tesis] Microbiología. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2002. p. 81.
- 29. Walsh D, Duffy G, Sheridan J, Blair I, McDowell D. Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. J Appl Microbiol. 2001;90:517-22.

