

Identificación de *Listeria monocytogenes* y los genes *tet-A*, *tet-B*, *tet-C* y *erm-B* mediante PCR Multiplex en queso costeño artesanal en venta al por menor en el mercado público de Barranquilla en el periodo 2018 - 2019

Nombre de los estudiantes
Yoharis Esther Rodríguez Ospino

Trabajo de Investigación como requisito para optar el título de Magister en Genética

Tutores
MSc. Ludís Oliveros Ortiz
PhD. Antonio Acosta Hoyos

RESUMEN

Antecedentes: Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son causadas por diferentes microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos, los cuales se adquieren por la ingesta de alimentos contaminados donde se encuentran los productos lácteos, embutidos y productos cárnicos. En la actualidad, las ETA constituyen un importante problema para la salud pública, debido al surgimiento de múltiples formas de transmisión y los distintos factores de riesgo que son importantes para la inocuidad de los alimentos. La *Listeria monocytogenes*, es una especie que pertenece al género *Listeria* con una gran distribución en el medio ambiente; como suelos, aguas contaminadas, tracto digestivo de animales, plantas, desagües, entre otros. Es una de las bacterias patógenas causante de ETA y el principal agente causante de listeriosis. *Listeria monocytogenes* es un microorganismo emergente zoonótico con la capacidad de adherirse, colonizar, internalizarse, multiplicarse y diseminarse en células humana (epiteliales, endoteliales, hepáticas, fagocitos), provocando complicaciones clínicas. Se caracteriza por atravesar las barreras vitales como la intestinal, la hemato - encefálica y la placentaria. Esta infección afecta a población vulnerable como edades extremas, mujeres embarazadas, y pacientes inmunosuprimidos, provocando patologías que se caracterizan por ocasionar alteraciones gastrointestinales y complicaciones clínicas como bacteriemia, septicemia y meningitis, entre otras. La listeriosis es una enfermedad poco común, pero una de las más severas a nivel mundial, causante del 20 – 30 % de las muertes.

Objetivo: El Objetivo de este estudio fue identificar el género, especie y los genes

tet-A, tet-B, tet-C y *erm-B* en *Listeria monocytogenes*, mediante PCR Múltiplex en queso costeño en ventas al por menor en el mercado público de Barranquilla.

Materiales y Métodos: Se recolectaron 54 muestras de queso costeño artesanal en el mercado público de Barranquilla entre 2018 y 2019. Para los procesos y procedimientos se realizó de acuerdo a lo descrito en el Manual Analítico Bacteriológico (BAM). La extracción del ADN bacteriano se realizó utilizando el kit DNA DNeasy aplicando el protocolo descrito por la casa comercial y la PCR Multiplex se realizó con el Termociclador CFX96, utilizando cebadores específicos para el gen 16S rRNA para identificar género y el gen *hylA* para la especie de la *Listeria monocytogenes*. Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en gel de agarosa. **Resultados:** En esta investigación se identificó el género de *Listeria spp* en 12 de las 54 muestras de queso costeño donde 5 de estas resultaron positivas para *Listeria monocytogenes*. Además, se destaca que ninguna de las muestras identificadas con la especie de *Listeria monocytogenes* expresó los genes de resistencia a los antibióticos Tetraciclina y Eritromicina. Estos resultados fueron obtenidos tanto por métodos convencionales como por métodos moleculares, sin embargo, la identificación por métodos moleculares se obtuvo en 2 días, mientras que el método convencional fue 7 días. **Conclusiones:** de acuerdo a los resultados obtenidos se puede decir que el consumo de queso costeño artesanal en ventas al por menor en el mercado público de Barranquilla puede ser un factor de riesgo para desarrollar ETA y las complicaciones clínicas en la salud de la comunidad en general. Se sugiere realizar más investigación para identificar *Listeria monocytogenes*, en las distintas ventas al por menor en la región del Caribe colombiano.

Palabras clave: *ETA, Listeriosis, PCR, Zoonosis, Listeria monocytogenes.*

ABSTRACT

Background: Foodborne diseases are caused by different microorganisms such as bacteria, viruses, fungi and parasites, which are acquired by the intake of contaminated food, including: dairy products and processed and unprocessed meat products. At present, Foodborne diseases constitute a major problem for public health, due to the emergence of multiple forms of transmission and the various risk factors that are important for food safety. *Listeria monocytogenes*, is a species that belongs to the genus *Listeria* with a great distribution in the environment; as soils, contaminated water, digestive tract of animals, plants, drains, among others. *Listeria monocytogenes* is one of the pathogenic bacteria that causes foodborne diseases and the main causative agent of listeriosis. *Listeria monocytogenes* is an emerging zoonotic microorganism with the ability to adhere, colonize, internalize, multiply and spread in human cells (epithelial, endothelial, hepatic, phagocyte), causing clinical complications. It is characterized by crossing vital barriers such as intestinal, blood-brain and placental. Listeriosis affects the vulnerable population such as infants, children and the elderly, pregnant women, and immunosuppressed patients; this pathology is characterized by causing gastrointestinal disturbances and clinical complications such as bacteraemia,

septicemia and meningitis, among others. Listeriosis is a rare disease, but one of the most severe worldwide, causing 20-30% of deaths. **Objective:** The aim of this study was to identify the genus, species and the antibiotic resistance genes *tet-A*, *tet-B*, *tet-C* and *erm-B* in *Listeria monocytogenes* by PCR Multiplex in unpasteurized cheese from retail sales in the public market of Barranquilla. **Materials and Methods:** Fifty-four samples of handcrafted cheese were collected in the public market of Barranquilla between 2018 and 2019. For the collection and processing of the samples, it was done according to the Bacteriological Analytical Manual (BAM). The DNA was extracted with the DNAeasy kit (Qiagen, Copenhagen, Denmark) according to the manufacturing protocol. Multiplex PCR was performed with the CFX96 Thermocycler using primers specific to the 16S rRNA gene for genus and the *hlyA* gene for the *Listeria monocytogenes* species. The PCR product was analyzed by agarose gel electrophoresis. **Results:** In this investigation, the genus of *Listeria spp* was identified in 12 of the 54 samples of cheese and 5 of these samples were positive for *Listeria monocytogenes*. In addition, it is noted that none of the samples identified as *Listeria monocytogenes* expressed resistance genes to the antibiotics Tetracycline and Erythromycin. These results were obtained both by conventional methods and by molecular methods, however, identification by molecular methods was obtained in 2 days, while the conventional method was 7 days. **Conclusions:** According to our results, it can be said that the consumption of handcrafted cheese in retail sales from the public market of Barranquilla can be a risk factor for developing foodborne diseases and clinical complications in the community in general. Further research is suggested to identify *Listeria monocytogenes* in the various retail sales in the Colombian Caribbean region.

KeyWords: *Foodborne diseases, Listeriosis, PCR, Zoonosis, Listeria monocytogenes.*

REFERENCIAS

1. Rodriguez Torrens H, Barreto Argilagos G, Sedrés Cabrera M, Bertot Valdés J, Martínez Sáez S, Guevara Viera G. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. REDVET. Revista Electrónica. 2015 Aug; 16(8): p. 1-27. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63641401002.pdf>
2. Ruiz-Pérez R, Meneo-Morales N, Chams-Chams L. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. Rev. Salud Pública. 2017 febrero; 19(3): p. 311-317. <https://www.scielosp.org/article/rsap/2017.v19n3/311-317/>
3. Castañeda-Ruelas G, Eslava-Campos C, Castro-del Campo N, León-Félix J, Chaidez-Quiroz C. Listeriosis en México: importancia clínica y epidemiológica. Salud pública de México. 2014 noviembre; 56(6): p. 654-659. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342014000600016

4. Arteaga Márquez MR, Espitia Petro R, Ramírez Coronado EP, Hernández Bedoya CC, Chams Chams L, Espitia Petro DL, et al. Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2015 Junio; 6(1): p. 36-56. <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495586371.pdf>
5. Soto Varela Z, Pérez Lavalle L, Estrada Alvarado D. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. Salud Uninorte. Barranquilla. 2016; 32(1): p. 105-122. <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
6. 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 Investigación en Salud Universidad de Boyacá. 2017 Junio; 4(1): p. 38-52. <http://dx.doi.org/10.24267/23897325.195>
7. Villanueva D, Salazar M. Formación de biopelículas por *Listeria monocytogenes* aisladas de queso fresco de mercados del Cercado de Lima. Anales de la Facultad de Medicina. 2017 Mayo; 78(3): p. 322-325. <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i3.13768>
8. Rodríguez-Auad JP. Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. Rev Chilena Infecto. 2018 noviembre; 35(6): p. 649-657. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182018000600649>
9. Zamora A, Ossa H, Carrascal AK, Poutou RA, Jimenez DP. IDENTIFICACIÓN PRELIMINAR DE *LISTERIA monocytogenes* POR PCR. Laboratorio Actual. 2000 Noviembre; 17(33): p. 38-41. http://abj.org.co/images/revistas/33/33_Pag_38_41_IDENTIFICACI%C3%9C3%93N_PR.pdf
10. Oromi Durich J. Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. Medicina Integral. 2000 Dec; 36(10): p. 367-370. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-pdf-10022180>
11. Urbano-Cáceres E, Aguilera-Becerra A, Jaimes-Bernal C, Pulido-Medellín M. *Listeria spp.*, in churn storage of raw cow's milk in Tunja - Boyacá. REVISTA MVZ CÓRDOBA. 2018 Sep; 23(3): p. 6871-6877. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1375>
12. Martínez Galán P, Martín Gallardo E, Velamazán Martínez D. Listeriosis y gestación. Revisión de la evidencia científica actual. Matrona Hospital Virgen de la Salud, Toledo. 2016 Septiembre; 4(2): p. 36-46. <https://www.enfermeria21.com/revistas/matronas/articulo/89/listeriosis-y-gestacion-revision-de-la-evidencia-cientifica-actual/>
13. Vera A, González G, Domínguez M, Bello H. Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. Rev Chilena Infectol. 2013 Junio; 30(4): p. 407-416. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182013000400010>
14. Palomino-Camargo C, González-Muñoz Y, Pérez-Sira E, Hugo Aguila V. METODOLOGÍA DELPHI EN LA GESTIÓN DE LA INOCUIDAD ALIMENTARIA Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS

- POR ALIMENTOS. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018 Junio; 35(3): p. 483-490. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3086>
15. Mercado-Martínez P, Moreno-Córdova YL. Sensibilidad antibacteriana de cultivos de Listeria proveniente de lugares de expendio de pescado de mercados de la ciudad de Trujillo (Perú). Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas. 2015 junio; 35(1): p. 70-76. <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/878/807>
16. Palomino-Camargo C, González-Muñoz Y. TÉCNICAS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS EN ALIMENTOS: VENTAJAS Y LIMITACIONES. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014 julio; 31(3): p. 535-546. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020
17. Instituto Nacional de Salud de Colombia. SIVIGILA. [Online].; 1975 [cited 2019 Noviembre 02. Available from: <https://www.ins.gov.co/Direcciones/Vigilancia/Paginas/SIVIGILA.aspx>.
18. Gutiérrez Castañeda C, Quintero Peñaranda R, Burbano Caicedo I, Simancas Trujillo R. Modelo de quesería artesanal bajo un signo distintivo en el Caribe colombiano: caso Atlántico. Revista Lasallista de Investigación. 2017 May; 14(1): p. 72-82. <https://doi.org/10.22507/rli.v14n1a6>
19. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Las enfermedades transmitidas por Alimentos-ETA. [Online].; 2018 [cited 2019 Junio 10. Available from: <https://www.ins.gov.co/busquedas/eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%83gico%20semana%2052.pdf>.
20. Merchán Castellanos NA, Pineda Gómez LM, Cárdenas Parra AK, González Neiza NC, Otálora Rodríguez MC, Sánchez Neira Y. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 2018; 56(1): p. 1-24. <http://www.revedemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171>
21. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Reporte técnico de Listeria monocytogenes para queso en Colombia. [Online].; 2019 [cited 2019 OCTUBRE 26. Available from: https://www.ins.gov.co/busquedas/eventos/BoletinEpidemiologico/2019_Boletin_epidemiologico_semana_43.pdf.
22. Garcia JP, Gil JE, Botero S, Valencia FE. Control de crecimiento de Listeria monocytogenes en co-cultivo con Lactobacillus plantarum. Rev. Colomb. Bioteclol. 2018 Diciembre; 20(2): p. 68-77. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.77064>
23. Consumer- Fundacion EROSKI. Carga mundial de listeriosis en el mundo. [Online].; 2014 [cited 2019 Julio 13. Available from: <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/carga-mundial-de-listeriosis-en-el-mundo.html>.
24. MacDonald P, Whitwam R, Boggs J, MacCormack J, Anderson K, Reardon J, et al. Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of

- consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clin Infect Dis.* 2005; 40(5): p. 677-682. DOI: 10.1086/427803
25. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos. [Online].; 2019 [cited 2019 Julio 07. Available from: <https://www.who.int/ES/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY>.
26. Instituto Nacional de Salud de Colombia. EVALUACIÓN DE RIESGOS DE Listeria monocytogenes EN QUESO FRESCO EN COLOMBIA. [Online].; 2011 [cited 2019 Julio 12. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Erlisteria-en-lpc.pdf>.
27. Soto-Varela ZE, Gilma Gutiérrez C, de Moya Y, Mattos R, Bolívar-Anillo HJ, Villarreal JL. Detección molecular de *Salmonella* spp., *Listeria* spp. y *Brucella* spp. en queso artesanal fresco comercializado en Barranquilla: un estudio piloto. *Biomedica.* 2018; 38(1): p. 30-36. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3677>
28. Medline Plus. Listeriosis. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 07. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001380.htm>.
29. De Jaimen Loren JM. LISTERIOSIS (GÉNERO LISTERIA). [Online].; 2001 [cited 2019 Mayo 07. Available from: <https://blog.uchceu.es/eponimos-cientificos/listeriosis-genero-listeria/>.
30. Orsi R, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016 junio; 100(12): p. 5273–5287. doi:10.1007/s00253-016-7552-2.
31. Sanchez Hernandez FJ. LISTERIA MONOCYTOGENES: UN RETO PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA. *FarmaJournal.* 2016; 1(2): p. 157-161. <http://hdl.handle.net/10366/130555>
32. Vila Brugalla M. Listeria monocytogenes en comidas preparadas. seguridad alimentaria. 2014 octubre;(230): p. 69-79. http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/monografico_xii_workshop_mrama.pdf
33. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Codex Alimentarius. [Online].; 1945 [cited 2019 Julio 13. Available from: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/codex-alimentarius/es/>.
34. Ministerio de Salud de Colombia. RESOLUCION NUMERO 02310 DE 1986. [Online].; 1986 [cited 2019 Julio 10. Available from: http://biblioteca.saludcapital.gov.co/img_upload/03d591f205ab80e521292987c313699c/resolucion_2310_1986.pdf.
35. Red de Científicos para la Inocuidad Alimentaria. Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria. [Online].; 2017 [cited 2019 Mayo 25. Available from: <http://redcientifica.achipia.cl/achipia>.
36. Asociación de Microbiología y Salud. Listeriosis en Sudáfrica. Aumento inusual de casos. [Online].; 2018 [cited 2019 Julio 15. Available from: <http://www.microbiologiasalud.org/noticias/listeriosis-brote-en-sudafrica/>.

37. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Brote de listeriosis por consumo de productos fabricados por la empresa Magrudis S.L. [Online].; 2019 [cited 2019 09 21]. Available from: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/listeriosis/docs/20190906_Brote_de_listeriosis_asociado_al_consumo_de_carne_mechada.pdf.
38. Tecnológico de Costa Rica. Científicos del TEC descubren nueva bacteria. [Online].; 2018 [cited 2019 Octubre 30]. Available from: <https://www.tec.ac.cr/hoyeneltec/2018/02/19/cientificos-tec-descubren-nueva-bacteria>.
39. América Economía: Cluster Salud. Ácidos grasos omega-3 inactivan virulencia de la listeria. [Online].; 1986 [cited 2019 10 13]. Available from: <https://clustersalud.americaeconomia.com/tiinnovacion/descubrimiento-acidos-grasos-omega-3-inactivan-virulencia-de-la-listeria>.
40. Olivares R. Listeria monocytogenes: bacteria antigua, desafío permanente. Medwave. 2009 Junio; 9(6): p. 1-6. doi: 10.5867/medwave.2009.06.3994
41. Hernández-Porras EE, Rosero-Torres LE, Parra-Barrera EL, Guerrero-Montilla JA, Gómez-Rubio AL, Moreno J. Brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos estudiados mediante técnicas moleculares. Revista de Salud Pública. 2017 octubre; 19(5): p. 671-678. <http://dx.doi.org/10.15446/rsap.v19n5.52317>.
42. Matto C, Varela G, Braga V, Vico V, Giannechini RE, Rivero R. Detection of Listeria spp. in cattle and environment of pasture-based dairy farms. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2018; 38(9): p. 1736-1741. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5663>
43. Reniere ML, Whiteley AT, Portnoy DA. An In Vivo Selection Identifies Listeria monocytogenes Genes Required to Sense the Intracellular Environment and Activate Virulence Factor Expression. PLOS Pathogens. 2016 julio; 12(7): p. 1-27. doi: 10.1371/journal.ppat.1005741
44. Núñez-Montero K, Kühbacher A, Johnny P, Pascale C, Pizarro-Cerdá J. Rol de la Tropomiosina y del Adaptador NEDD9 durante la invasión celular de Listeria monocytogenes. Tecnología en Marcha. 2014 marzo; 2(1), p. 41-48. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5109193>
45. Phelps CC, Vadia S, Arnett E, Tan Y, Zhang X, Pathak-Sharma S, et al. Relative Roles of Listeriolysin O, InLA, and InLB in Listeria monocytogenes Uptake by Host Cells. Infection and immunity. 2018 octubre; 86(10): p. 1-16. doi: 10.1128/IAI.00555-18
46. Bierne H, Milohanic E, Kortebi M. To Be Cytosolic or vacuolar: The Double life of listeria monocytogenes. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2018 mayo; 8: p. 64-72. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00136>
47. Vicente M. La bacteria rebelde. [Online].; 2010 [cited 2019 07 11]. Available from: <http://www.madrimasd.org/blogs/microbiologia/2010/01/25/130395>.
48. Puga CH, Dahdouh E, SanJose C, Orgaz B. Listeria monocytogenes Colonizes Pseudomonas fluorescens Biofilms and Induces Matrix Over-

- Production. *Frontiers in Microbiology*. 2018 Julio 31; 9: p. 1-12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6080071/>
49. King Tiong H, Muriana PM. RT-qPCR Analysis of 15 Genes Encoding Putative Surface Proteins Involved in Adherence of *Listeria monocytogenes*. *Pathogens*. 2016 Octubre; 5(60): p. 1-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5198160/pdf/pathogens-05-00060.pdf>
 50. Higiene Ambiental. *Listeria monocytogenes: maestra en persistencia y contaminación cruzada*. [Online].; 2017 [cited 2019 07 21]. Available from: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/listeria-monocytogenes-maestra-en-persistencia-y-contaminacion-cruzada>.
 51. Infogen. Listeriosis, Infecciones Adquiridas por Los Alimentos. [Online].; 2014 [cited 2019 07 22]. Available from: <https://infogen.org.mx/listeriosis-infecciones-adquiridas-por-los-alimentos/>.
 52. Rolhion, Cossart P. How the study of *Listeria monocytogenes* has led to new concepts in biology. *Future Microbiology*. 2017 Jun; 12: p. 621-638. doi: 10.2217/fmb-2016-0221
 53. Krawczyk-Balska A, Lipiak. Critical Role of a Ferritin-Like Protein in the Control of *Listeria monocytogenes* Cell Envelope Structure and Stability under B-lactam Pressure. *PLoS ONE*. 2013 Octubre; 8(10): p. 1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077808>
 54. Suarez, Gudiol. Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009 Febrero; 27(2): p. 116-129. <https://medes.com/publication/49183>
 55. Collins, Curtis, Cotter PD, Hill, Ross RP. The ABC Transporter AnrAB Contributes to the Innate Resistance of *Listeria monocytogenes* to Nisin, Bacitracin, and Various β-Lactam Antibiotics. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*. 2010 Oct; 54(10): p. 4416 – 4423. DOI: 10.1128/AAC.00503-10
 56. Jara MA. Tetraciclinas: Un modelo de resistencia antimicrobiana. *Avances en ciencias veterinarias*. 2007 Jan; 22(1): p. 49-55. DOI: 10.5354/0719-5273.2010.915
 57. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Manual para el control de calidad de los alimentos. [Online].; 1992 [cited 2019 10 23]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-t0451s.pdf>.
 58. OXOID. Manual Identification Systems. [Online].; 2001 [cited 2019 10 1]. Available from: http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/MB1128A%20Mic%20robact%20Listeria%20OXOID.pdf.
 59. Baquero Acuña DM, Bernal González AM, Campuzano SE. Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza de mercado de Cáqueza, Cundinamarca. *Nova - Publicación Científica*. 2006 Diciembre; 4(6): p. 80-83. <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/72>
 60. Kozak GK, Boerlin P, Janecko N, Reid-Smith RJ, Jardine C. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Swine and Wild Small Mammals

in the Proximity of Swine Farms and in Natural Environments in Ontario, Canada. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. 2009 Feb; 75(3): p. 559–566. doi: 10.1128/AEM.01821-08

61. Chen, Yu , Michel, Jr. FC, Wittum , Morrison. Development and Application of Real-Time PCR Assays for Quantification of erm Genes Conferring Resistance to Macrolides-Lincosamides-Streptogramin B in Livestock Manure and Manure Management Systems. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Jul; 73(14): p. 4407–4416.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1932836/>
62. Ocampo Ibáñez ID, González C, Moreno SL, Calderón C, Flórez Elvira LJ, Olaya MB, et al. Presencia de Listeria monocytogenes en quesos frescos artesanales comercializados en Cali-Colombia. *Acta Agronómica*. 2019 Jul; 68(2): p. 108-114. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n2.77185>
63. Red de Científicos para la Inocuidad Alimentaria. Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria. [Online].; 2017 [cited 2019 MAYO 25]. Available from: <http://redcientifica.achipia.cl/achipia>.