

# *Listeria sp.* y *Listeria monocytogenes*

en pollo congelado: detección por NOM-143-SSA1-1995 y PCR de  
expendios comerciales de Matamoros y Reynosa, Tamaulipas, México

*Listeria sp. and Listeria monocytogenes in frozen poultry: Detection by NOM-143-SSA1-1995 and PCR from retail stores from Matamoros and Reynosa, Tamaulipas, Mexico*

Wendy Lizeth Cruz-Pulido<sup>1</sup>, Gildardo Rivera-Sánchez<sup>2</sup>, Selene Ávila-Aguilar<sup>3</sup>, Rubén Cantú-Ramírez<sup>3</sup>, Elvira Garza-González<sup>4</sup>,  
Graciela Sierra-Juárez<sup>3</sup>, Simón Téllez-Luis<sup>1</sup>, Virgilio Bocanegra-García<sup>5\*</sup>.

<sup>5,2</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica.

Laboratorio de Medicina de Conservación/Laboratorio de Biotecnología Ambiental.

<sup>3,1</sup>Universidad Autónoma de Tamaulipas. UAM-Reynosa Aztlán.

Departamento de Biología Molecular y Bioingeniería/Departamento de Tecnología de los Alimentos.

<sup>4</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Hospital Universitario, Servicio de Gastroenterología.

\*Autor para correspondencia: Instituto Politécnico Nacional. Centro de  
Biotecnología Genómica. Laboratorio de Medicina de Conservación. Blvd. Del Maestro  
esq. Elías Piña. Col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tamaulipas, México. C. P. 88710.

vbocanegg@yahoo.com.

## RESUMEN

La listeriosis humana había sido hasta hace pocos años una enfermedad poco común. A partir de la década de 1980 empezó a manifestarse como una enfermedad de transmisión alimentaria emergente. La listeriosis humana puede presentarse en casos aislados o en brotes asociados al consumo de alimentos contaminados, como vegetales crudos, leche, quesos frescos y productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de *Listeria sp.* y *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo crudo utilizando dos métodos de diagnóstico: la NOM-143-SSA1-1995 y la técnica de PCR basada en la detección molecu-

lar de la región rRNA 16S para *Listeria sp.* y el gen *hlyA* de la listeriolosina O para *L. monocytogenes*. Mediante la norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995 se detectó una prevalencia de 14.2 % de *Listeria sp.* y no se detectó *L. monocytogenes* en ninguna muestra. Mediante PCR se detectó 17.1 % de prevalencia para *Listeria sp.* y 1.4 % para *L. monocytogenes*. Estas prevalencias se encuentran dentro del rango reportado en trabajos anteriores, excepto la detectada para *L. monocytogenes*, que se encuentra por debajo de los rangos reportados.

**PALABRAS CLAVE:** listeriosis, epidemiología molecular, pollo crudo, *Listeria monocytogenes*.

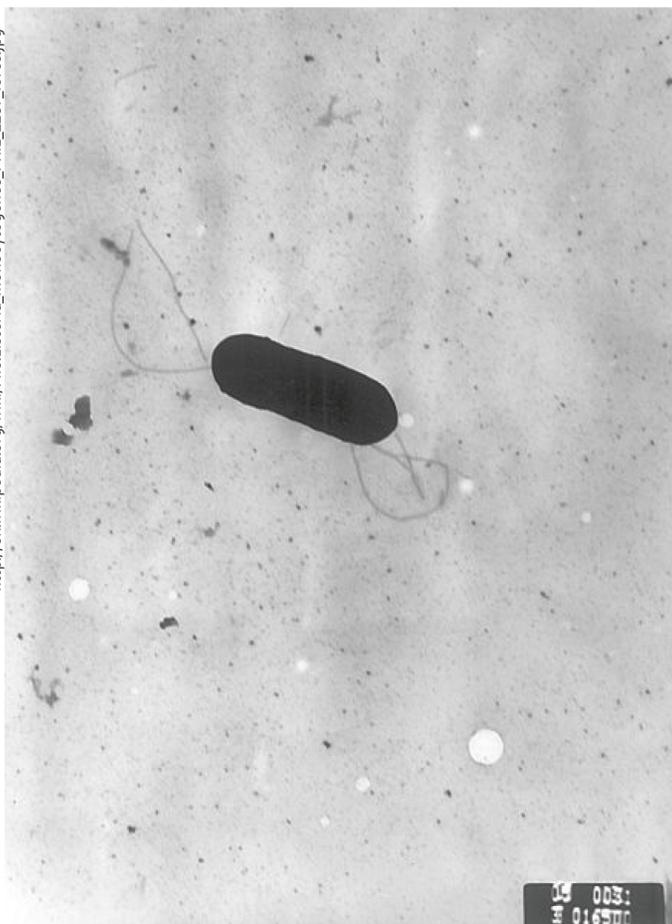
**ABSTRACT**

Human listeriosis was an uncommon disease until few years ago. In the 1980s it became an emerging food-borne disease. Human listeriosis could be found as isolated cases or in outbreaks related to contaminated foods like raw vegetables, milk, fresh cheese and raw or poorly cooked beef and poultry products. The aim of this work was to determinate the prevalence of *Listeria sp.* and *Listeria monocytogenes* in poultry samples using the Mexican standar method NOM-143-SSA1-1995 and PCR detection based on the detection of rRNA 16s for *Listeria sp.* and listeriolisin O gen *hlyA* for *L. monocytogenes*. Using NOM-143-SSA1-1995 standar methods we detected 14.2% of *Listeria sp.* and any *L. monocytogenes* was detected. With the molecular *Listeria sp.* was detected in 17.1% and *L. monocytogenes* was detected in 1.4% of poultry samples. These results are according with previous reports in scientific literature and in the case of *L. monocytogenes* our detected prevalence is below the range detected in other international reports.

**KEY WORDS:** human listeriosis, molecular epidemiology, poultry, *Listeria monocytogenes*.

**INTRODUCCIÓN**

El género *Listeria* comprende las especies *Listeria monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seligeri*, *L. welshimeri*, *L. innocua*, *L. grayi* y *L. dentrificans*, de las cuales solamente *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* se



**Micrografía de Listeria monocytogenes.**

**Micrography of Listeria monocytogenes.**

asocian a enfermedades en humanos (Seeliger y Jones, 1986). *L. monocytogenes* es un bacilo Gram positivo, responsable de la infección a través de alimentos en humanos y animales (Faber y Peterkin, 1991). Es un patógeno facultativo intracelular capaz de multiplicarse en los fagocitos como las células epiteliales, células endoteliales o hepatocitos (Wood y col., 1993). El ciclo incluye la fagocitosis inducida por el propio patógeno, la lisis de la vacuola fagocítica, el movimiento en el citoplasma y la diseminación a las células vecinas (Vázquez y col., 2001). Los genes que codifican los factores de virulencia de *L. monocytogenes* se agrupan en dos locus cromosomales: el locus de virulencia que comprende el gen *hlyA* que codifica la listeriolisina O (LLO) y el locus *inl* AB, ambos controlados

por PrfA (Milohanic y col., 2003). *L. monocytogenes* causa dos formas de listeriosis: listeriosis gastrointestinal no invasiva y listeriosis invasiva. En pacientes inmunosuprimidos, como ancianos y pacientes que reciben agentes inmunosupresores, la listeriosis puede manifestarse como septicemia o meningoencefalitis. La listeriosis invasiva puede ser adquirida por el feto a través de la placenta de la madre (Dison y col., 2008). La listeriosis también es una enfermedad de transmisión alimentaria producida por una toxina hemolítica llamada listeriolisina O, la cual se secreta a pH bajo y baja concentración de hierro y actúa como un importante factor de virulencia.

La listeriosis humana había sido hasta hace pocos años una enfermedad poco común. A partir

de la década de 1980 empezó a manifestarse como una enfermedad de transmisión alimentaria emergente. La listeriosis puede presentarse como casos aislados o en brotes asociados al consumo de alimentos contaminados, como vegetales crudos, leche, quesos frescos y productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos. La *L. monocytogenes* muestra resistencia a condiciones ambientales adversas tales como pH bajo, concentraciones elevadas de NaCl y temperaturas muy bajas, creciendo a 4-8 °C, lo que incrementa las posibilidades de infección, aun cuando los alimentos se conserven en refrigeración.

Actualmente, la listeriosis es una enfermedad de baja incidencia a nivel poblacional (4-8 casos por millón de habitantes a nivel mundial), pero con tasas de letalidad importantes (25-30 %), principalmente en mujeres embarazadas, pacientes inmunosuprimidos (enfermos de SIDA, trasplantados o cursando con corticosteroides), ancianos, fetos y niños menores de un año (Campos y col., 2010). Al parecer, todas las cepas de *L. monocytogenes* son patógenas y existen pruebas de la variación de la virulencia entre diferentes cepas aisladas de *L. monocytogenes* en alimentos (SERM, 2004). Analizando la distribución de serotipos de *L. monocytogenes* en muestras clínicas y en los alimentos, se observan 13 serotipos en que se clasifica *L. monocytogenes*, y de estos tan solo tres (4b, 1/2a y 1/2b) representan el 89-96 % de



los casos de listeriosis en todo el mundo (López y col., 2006). Las cifras de incidencia anual de listeriosis varían entre las regiones, por ejemplo, de 0.3 a 7.5 casos por millón de personas en Europa a 4.4 casos por millón de personas en los Estados Unidos de América. En México no se han reportado casos de listeriosis humana a partir de consumo de alimentos. Se ha reportado una prevalencia de hasta 25 % de *L. monocytogenes* en vegetales (Ramírez y col., 2009) y en la industria cárnica se presenta en 20-30 % y representa un riesgo potencial para los consumidores (Pérez y col., 2008).

Estudios para la detección de *Listeria monocytogenes* en alimentos se han llevado a cabo en España (Cabedo y col., 2008), Finlandia (Aarnisalo y col., 2008), Etiopía (Mengesha y col., 2009), y la aplicación de métodos moleculares se ha reportado por López y col. (2007) en España, en Brasil (Chiarini y col., 2009) y en Jordania (Awaisheh, 2010), con el

fin de optimizar la especificidad y sensibilidad para la detección de *L. monocytogenes*, así como reducir el tiempo de diagnóstico. Para este fin también se han propuesto métodos adicionales para la detección de *L. monocytogenes* y el efecto de las matrices de alimentos sobre la PCR (Mayrl y col., 2009; Bilir y col., 2008).

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Listeria sp.* y *L. monocytogenes* en muestras de pollo crudo, en la ciudad de Matamoros y Reynosa, Tamaulipas, México mediante la NOM-143-SSA1-1995 y la técnica de PCR basada en la detección molecular de la región RNAr 16S para *Listeria sp.* y el gen *hlyA* de la listeriolisina O para *L. monocytogenes*.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Muestras.** Tomando como base el número de expendios de pollo crudo congelado se adquirieron 70 muestras en el periodo de mayo de 2007 a mayo de 2008. El muestreo se realizó al azar, a partir de un nú-

***Listeria monocytogenes* es uno de los pocos microorganismos que puede sobrevivir en pollo congelado.**

***Listeria monocytogenes* is one of the few microorganisms capable of survive in frozen poultry.**



***Listeria monocytogenes* en medio base sangre.**

***Listeria monocytogenes* in horse blood agar.**

MUESTRA	T. GRAM	CATALASA	MOTILIDAD	βETA HEMÓLISIS	CAMP	HIDRÓLISIS ESCULINA	SISTEMA VITEK
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19114	Bacilo G+	+	+	+	+	+	<i>L. monocytogenes</i>
1	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
14	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
15	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
18	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
21	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
26	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
35	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
36	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
37	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>
70	Bacilo G+	+	+	-	-	+	<i>Listeria sp.</i>

**TABLA 1**

Resultados de pruebas bioquímicas de la Norma Oficial Mexicana y del sistema Vitek.

Table 1. Mexican Official Methods biochemical test and Vitek systems results.

MUESTRA	PCR		NOM 143-SSA1-1995	
	<i>Listeria sp.</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria sp.</i>	<i>L. monocytogenes</i>
1	+	-	-	-
2	+	-	-	-
12	+	-	-	-
14	+	-	-	-
15	+	-	+	-
18	+	-	+	-
21	+	-	+	-
26	+	-	+	-
35	+	-	+	-
36	+	+	+	-
37	+	-	+	-
70	+	-	+	-

**TABLA 2**

Resultados comparativos entre el método molecular y NOM 143-SSA1-1995.

Table 2. Comparative results from molecular detection and NOM-143-SSA1-1995 methods.

mero igual de expendios fijos y semifijos. Las muestras de pollo crudo se colocaron en una bolsa estéril, sellada y transportada en una hielera refrigerada al laboratorio. Las muestras fueron congeladas hasta su procesamiento microbiológico.

**Detección microbiológica.** El método microbiológico se basó en crecimiento en un medio selectivo para el aislamiento y la detección de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria* a partir de alimentos, mediante la fermentación

de carbohidratos y la actividad hemolítica de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995 (NOM, 1995).

**Enriquecimiento, aislamiento e identificación.** Para el procesamiento se tomó una muestra homogénea de 25 g de pollo, se realizó un pre-enriquecimiento de las muestras utilizando caldo de soya tripticasa con extracto de levadura, incubando por 48 horas a 30 °C. Después de 24 y 48 h de incubación se sembraron en medios selectivos de cloruro de litio feniletanol-moxolactam (LMP) incubando a 30 °C por 24 a 48 h y medio Oxford (OXA) a 35 °C por el mismo periodo. En medio LMP con la iluminación de Henry se observaron colonias de color gris a azul con una base de apariencia cristalina. En medio OXA se observaron colonias de *Listeria* de color negras, con halo negro. Se seleccionaron cinco colonias típicas de los medios LMP y OXA y se pasaron a placa con medio Astel incubando a 35 °C por 24 h.

**Identificación de *Listeria sp.*** Para la identificación de *Listeria sp.* y *L. monocytogenes* se utilizaron las pruebas bioquímicas de movilidad

en fresco (*Listeria sp.*), catalasa, tinción de Gram, prueba de la hemolisis, reducción de nitratos, movilidad en agar en medio SIM o MRM y utilización de carbohidratos. Para confirmación de las pruebas bioquímicas se utilizó el Vitek Auto-microbic System (BioMerieux Vitek, MO, EE. UU.). Cada tarjeta de identificación utilizada por este sistema para las bacterias Gram-positivas (GPI) y de las Gram-negativas (GNI+) contiene 30 pruebas bioquímicas. Los cambios se analizan mediante el ordenador, que asigna al microorganismo problema un género o especie (AOAC, 2000).

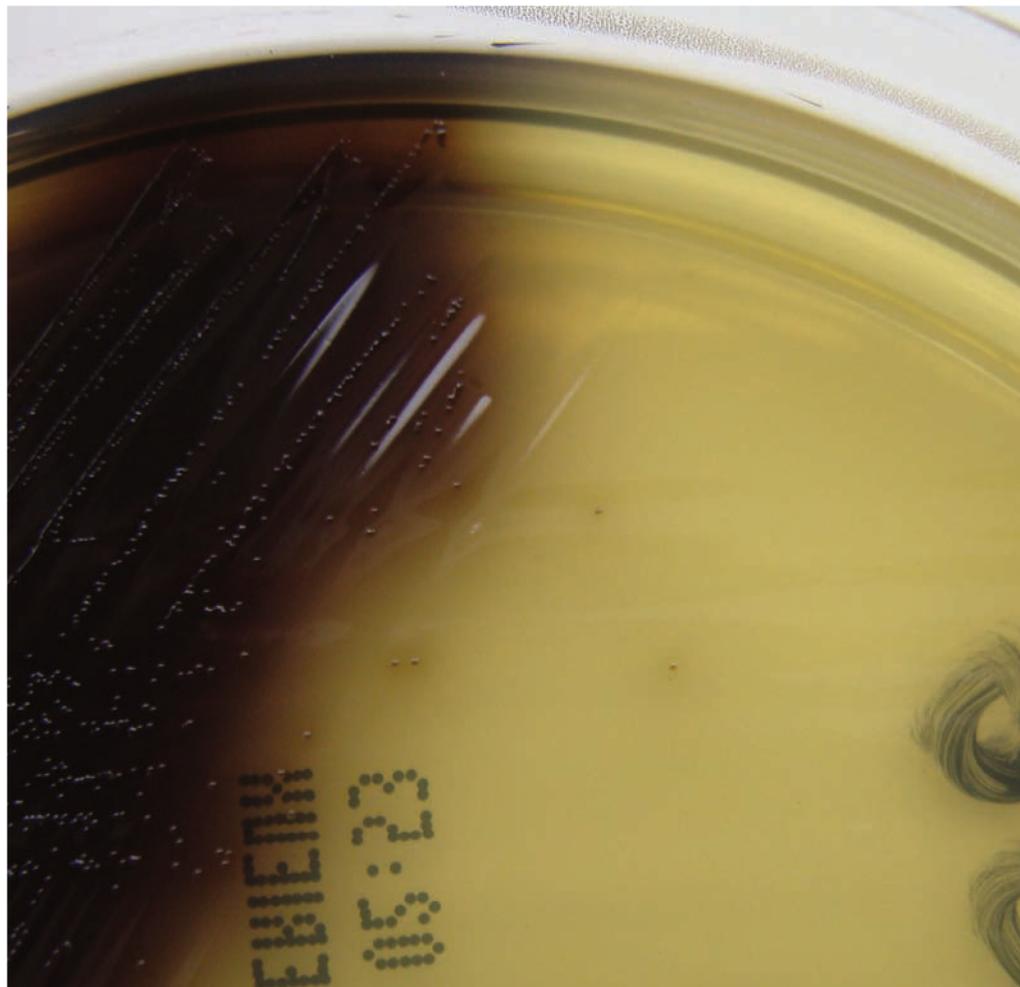
**Obtención del ADN.** A partir del cultivo pre-enriquecido en caldo de soya tripticasa de cada una de las 70 muestras de pollo se tomó una alícuota de 500 µl, a la cual se le realizó un lavado celular para posteriormente realizar lisis celular por calor para obtener el ADN total de cada una de las muestras. Cada tubo se centrifugó a 3000 rpm por 5 min y se utilizaron 5 µl del sobrenadante para las pruebas de PCR.

**Identificación molecular de *Listeria sp.* y *L. monocytogenes.*** Para la identificación molecular se utilizó

la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa, en donde se utilizan oligonucleótidos específicos para la detección del gen de la listeriolisina O (gen *hlyA*) (Agersborg y col., 1996; Wang y col., 1997) de *L. monocytogenes*, y la secuencia específica de la región codificante del RNAr 16S para *Listeria sp.* (Lawrence y Gilmour, 1994).

Las condiciones de reacción utilizadas fueron 2.5 µl de *buffer* 10X, 2.5 µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 0.5 µl de DNTP (10mM), 0.5 µl de cada iniciador al 5 µM, 5 UI de Tap polimerasa, 5 µl del lisado bacteriano y suficiente agua destilada para 25 µl. Las condiciones de amplificación fueron un paso de desnaturalización de 5 min a 94 °C, seguido por 30 ciclos de un paso de desnaturalización por 30 s a 94 °C, un paso de 30 s de alineamiento a 58 °C, un paso de extensión por 30 s a 72 °C, y un paso final de extensión a 72 °C por 5 min al final de los 30 ciclos.

*Determinación de la sensibilidad y especificidad del método molecular.* La sensibilidad del método molecular se determinó utilizando la cepa ATCC *L. monocytogenes*. Para determinar la cantidad mínima de ADN detectable se diluyeron alícuotas de 1000, 500, 250, 100, 50, 10 y 2 µl de cultivo puro en volúmenes de solución salina teniendo al final un volumen de 5 ml por tubo, siendo un total de 7 diluciones. Para determinar la especificidad, a una mezcla de las bacterias *Escherichia coli* ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 65380 P y *L. monocytogenes* ATCC se les realizó un lavado celular y la lisis celular por calor y se aplicó la técnica de PCR para la detección de *L. monocytogenes* utilizando los oligonucleótidos de la listeriolisina O (gen *hlyA*).



*Listeria monocytogenes* en medio Oxford.

#### *Listeria monocytogenes* in Oxford Media.

*Cepas control.* Para el estudio se utilizaron cepas control de *L. monocytogenes* ATCC 19114, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* ATCC 65380 P.

#### RESULTADOS

NOM-143-SSA1-1995. De las 70 muestras de pollo crudo analizadas se detectaron 10 muestras positivas para *Listeria sp.* mediante pruebas bioquímicas de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995 y esas mismas resultaron también positivas al confirmar las pruebas bioquímicas mediante el sistema Vitek. En la tabla 1 se muestran los resultados microbiológicos.

*Detección molecular.* Mediante el método molecular se iden-

tificaron 12 muestras positivas de las cuales dos muestras (muestras 2 y 12) no fueron detectadas mediante el método microbiológico para *Listeria sp.* y solo una muestra positiva (muestra 36) para *L. monocytogenes*. En la tabla 2 se muestra una comparación entre los resultados obtenidos mediante métodos microbiológicos y el método molecular determinando la especificidad de cada uno de los métodos de acuerdo con la cantidad de muestras identificadas para *Listeria sp.* y *L. monocytogenes*. En la tabla 3 se muestran los porcentajes de las muestras identificadas por los métodos microbiológicos (el combinado de la norma oficial mexicana y el sistema Vitek) y el método molecular de PCR.

#### DISCUSIÓN

Mediante el método de la norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995 combinado con el sistema Vitek se lograron identificar las mismas muestras contaminadas con *Listeria sp.*, lo cual indica que los dos métodos presentan la misma sensibilidad y especificidad, por lo que la ventaja del uso del sistema Vitek solo consiste en menor tiempo requerido para la caracterización por pruebas bioquímicas de las colonias presuntivas. La norma oficial mexicana requiere de personal altamente capacitado, medios de cultivo especiales para el crecimiento de la bacteria y pruebas bioquímicas con lo que se logra la diferenciación de *Listeria sp.*, y *L. monocytogenes* requiriendo un mínimo de 5-7 días

para determinar que un alimento está libre de *Listeria sp.* y 10 días para reconocer a la especie de *monocytogenes* (Ramírez-Mérida y col., 2009). Por otro lado, el sistema Vitek, una vez teniendo las colonias presuntivas aisladas de los medios específicos señalados en la norma oficial, permite la identificación, aproximadamente, en el mismo tiempo que la técnica anterior, solo que éste utiliza tarjetas programables por un ordenador al cual se le indica el tipo de bacteria que se busca y determina las pruebas necesarias para la detección de la bacteria. Estos métodos no permiten un resultado en un tiempo menor a una semana para determinar la contaminación por *Listeria* en los alimentos.

Mediante el método basado en PCR se lograron detectar más muestras contaminadas con *Listeria sp.* y *L. monocytogenes* que los métodos microbiológicos, demostrando que es un método más sensible y específico. La rapidez del método molecular permite tener una técnica eficaz para estudios de vigilancia epidemiológica de este patógeno. Se han realizado esfuerzos de validación y estandarización de métodos moleculares, por ejemplo, el

caso de laboratorios europeos que han desarrollado un proyecto denominado Food-PCR el cual pretende la validación y estandarización de las metodologías de PCR para la detección y control de los patógenos *Campylobacter sp.*, *Escherichia coli* O157, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp.* en alimentos (González y Rojas, 2005). Estos estudios tienen la finalidad de ser pruebas simples y específicas para la detección de patógenos y que los resultados faciliten la comparación e intercambio internacional de datos epidemiológicos y la implementación de estos métodos en otros laboratorios.

La situación internacional en relación con estudios similares al que se presenta en este trabajo muestra que en España se analizaron 569 muestras de productos cárnicos y se identificaron el 11.1 % de carne de cerdo y 6.2 % de croquetas de pollo congelado con *L. monocytogenes* (Cabedo y col., 2008). En otro estudio se determinó la prevalencia de *L. monocytogenes* en piernas de pollo marinado (186 muestras) recolectadas en un año de una planta productora y se detectó un 34 % de *L. mono-*

*cytogenes* (0-14 UFC/g) (Aarnisalo y col., 2008). En otro estudio se analizaron 711 muestras de comida listas para consumo, entre ellas carne de pollo, y el 16 % resultó positivo para *Listeria* y entre el 3.7 y 5.1 % para *L. monocytogenes* (Mengesha y col., 2009). Estos estudios se realizaron por métodos microbiológicos establecidos por las normas de seguridad e higiene de cada país, determinando una prevalencia de *L. monocytogenes* en carne de pollo relativamente baja, pero consistentemente mayor a la que se detectó en las muestras de pollo crudo, ya que solo pudimos detectar un 14.2 % de *Listeria sp.* mediante la norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995 y el sistema Vitek, y ninguna muestra con *L. monocytogenes*.

Las muestras también fueron analizadas con la técnica de PCR, encontrándose prevalencia de 17.1 % para *Listeria sp.* y 1.4 % para *L. monocytogenes*. En estudios similares, donde se aplicaron herramientas moleculares, se tiene, por ejemplo, que en España, en una planta de procesamiento de aves, se analizaron 77 aislamientos por PCR, detectando una prevalencia de 12 aislados (15.6 %) con *L. mono-*

*nocytogenes* serotipo 4b (López y col., 2007). En un análisis de 120 muestras de aves se confirmaron 3 especies de *Listeria* (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*) en 18 muestras por PCR (Awaishah y col., 2010). En 180 muestras de pavo se detectaron 23 muestras positivas para *L. monocytogenes* con base en la amplificación mediante PCR del gen *hlyA* de la listeriolisina O (Bilir y col., 2008) que es específico para esta bacteria. En otro estudio se contaminaron artificialmente muestras de carne de salmón, pollo, huevo, helado y queso con diferentes patógenos alimentarios, entre ellos *L. monocytogenes*, utilizando como método de detección la PCR en tiempo real, para así determinar el efecto de las matrices de los alimentos y el número mínimo detectable de cada microorganismo y se lograron identificar hasta 7.3 UFC/ml para todos los alimentos examinados (Mayrl y col., 2009).

## CONCLUSIONES

Con todo lo anterior podemos observar que la prevalencia detectada en los resultados de este estudio está dentro del rango reportado en estudios internacionales o, incluso, por debajo de dicho rango en el caso de *L. monocytogenes* en muestras de pollo crudo de la zona norte de Tamaulipas. A pesar de ser una prevalencia baja, el impacto en la salud de los consumidores debe evaluarse en un trabajo posterior, debido a que, dependiendo de las condiciones de preparación de los alimentos con carne de pollo, pueden quedar bacterias viables con capacidad de infectar al consumidor. ■

Método	Nº. muestras identificadas	<i>Listeria sp.</i>	<i>L. monocytogenes</i>
NOM	10 muestras <i>Listeria sp.</i>	14.2%	0%
Vitek	10 muestras <i>Listeria sp.</i>	14.2%	0%
PCR	12 muestras <i>Listeria sp.</i> 1 muestra <i>L. monocytogenes</i>	17.1%	1.4%

**TABLA 3**

Porcentaje de detección para *Listeria sp.* y *L. monocytogenes* por la Norma Oficial Mexicana y el método de PCR.

Table 3. Detection percentages of *Listeria sp.* and *L. monocytogenes* in Mexican Official Method and Molecular detection.

## REFERENCIAS

- Aarnisalo, K., Vihavainen, E., Rantala, L., Maijala, R., Suihko, M. L., Hielm, S., Tuominen, P., Rnata, J. y Raaska, L. (2008). "Use of results of microbiological analyses for risk-based control of *Listeria monocytogenes* in marinated broiler legs". *International Journal Food Microbiology*. 121(3): 275-284.
- Agersborg, A., Dahl, R. y Martínez, I. (1996). "Sample preparation and DNA extraction procedures for polymerase chain reaction identification of *Listeria monocytogenes* in seafoods". *International Journal Food Microbiology*. 35(2): 275-280.
- AOAC Official Method 992.19. (2000). *Listeria* species. Biochemical Identification Method (Vitek GPI and GNI+). Official Methods of Analysis of AOAC International. En: Official Methods of Analysis of AOAC International, volume I, Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Horwitz W., ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, EE. UU., 144-147.
- Awaishah, S. S. (2010). "Incidence and contamination level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* In ready-to-eat meat products in Jordan". *Journal Food Protection*. 7(3): 535-540.
- Bilir, O. F. S., Erol, I., Ayaz, N. D., Iseri, O. y Sariguzel, D. (2008). "Immunomagnetic separation and PCR detection of *Listeria monocytogenes* in turkey meat and antibiotic resistance of the isolates". *British Poultry Science*. 49(5): 560-565.
- Cabedo, L., Picart, I., Barrot, L., Teixido, I. y Canelles, A. (2008). "Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain". *Journal Food Protection*. 71(9): 855-859.
- Campos, E., Bolaños, H. M., Chanto, G., Jiménez, A., Acuna, M. T. y Duarte, F. (2010). CNRB-Inciensa. Guía para la vigilancia de laboratorio de enfermedades bacterianas y otros eventos de importancia en salud pública.
- Chiarini, E., Tyler, K., Faber, J. M., Paggoto, F. y Destro, M. T. (2009). "*Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration". *Poultry Science*. 88(4): 791-797.
- Dison, O., Grayo, S. y Huillet, E. (2008). "Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis". *Nature*, 455(7216): 1114-1118.
- Faber, J. M. y Peterkin, P. I. (1991). "*Listeria monocytogenes*, as food-borne pathogen". *Microbiological Reviews*, 55(4): 476-511.
- González-Flores, T. y Rojas-Herrera, R. A. (2005). "Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico". *Salud Pública de México*. 47(5): 388-390.
- Lawrence, L. M. y Gilmour, A. (1994). "Incidence of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing environment and in poultry products and their rapid confirmation by Multiplex PCR". *Applied and Environmental Microbiology*. 58(5): 1564-1568.13.
- López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navajas, J. y Martínez-Suárez J. V. (2006). "*Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislados igual de virulentos?". *Revista Argentina de Microbiología*. 38(4): 224-234.
- López, V., Ortiz, S., Corujo, A., López, P., Navajas, J., Moreno, R. y Martínez-Suárez, J. V. (2007). "Traceback identification of ingredient (pork dewlap) as the possible source of *Listeria monocytogenes* serotype 4b contamination in raw chicken products". *Journal Food Protection*. 70(6): 1513-7.
- Mayrl, E., Roeder, B., Mester, P., Wagner, M. y Rossmanith, P. (2009). "Broad range evaluation of the matrix solubilization (matrix lysis) strategy for direct enumeration of foodborne pathogens by nucleic acids technologies". *Journal Food Protection*. 72(6): 1225-33.
- Mengesha, D., Zewde, B. M., Toquin, M. T., Kleer, J., Hildebrandt, G. y Gebreves, W. A. (2009). "Occurrence and distribution of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in ready-to-eat and raw meat products". *Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 122 (1-2): 20-4.
- Milohanic, E., Glaser, P., Coppe, J. Y., Frangeul, L., Vega, Y., Vazquez-Boland, J. A., Kunst, F., Cossart, P. y Buchrieser, C. (2003). "Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* identifies three groups of genes differently regulated by PrfA". *Molecular Microbiology*. 47(6): 1613-1625.
- NOM. (1995). Norma oficial mexicana NOM-143-SSA1-1995, bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. *Determinación de Listeria monocytogenes*.
- Pérez-Rubiano, C., Mercado-Reyes, M. y Carrascal-Camacho, A. K. (2008). "Incidencia de *Listeria spp.* en carcasas de pollo congelado en un supermercado del noriente de Bogotá". *Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 6(10): 101-236.
- Ramírez-Mérida, L. G., Moron-Salim, A. M., Alfieri-Gaterol, A. Y. y Gamboa O. (2009). "Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicon esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia, Venezuela". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 59(3): 318-324.
- Seeliger, H. P. R. y Jones, D. (1986). "Genus *Listeria* Pire 1940, 383", en Sneath, Ph., Mair, N. S., Sharpe, Me. y col. (eds.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, Pp. 1235-1245. Baltimore: Williams & Wikins.
- SERM, Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos. (2004). Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. *Resumen interpretativo*, FAO/OMS.
- Vazquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G. y Goebel, W. (2001). "*Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants". *Clinical Microbiology Reviews*. 14(3): 584-640.
- Wang, R. F., Cao, W. W. y Cerniglia, C. E. (1997). "A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods". *Journal of Applied Microbiology*. 83(6): 727-736.
- Wood, S., Maroushek, N. y Czuprynski, C. (1993). "Multiplication of *Listeria monocytogenes* in a murine hepatocytocell line". *Infection and Immunity*. 61(7): 3068-3072.