



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

Tema:

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL PERFIL DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE *LISTERIA SPP.* EN MUESTRAS DE LECHE
CRUDA.

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario.
Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias
Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Medicina Veterinaria

Autores:

Alex Patricio Pinto Cayambe

Robinson Gerardo Mejía Fuertes

Tutor:

Dr. Edison Raveliño Ramón Curay Ms.C

Guaranda – Ecuador

2025


ANÁLISIS COMPARATIVO DEL PERFIL DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE *Listeria spp.* EN MUESTRAS DE LECHE
CRUDA.

REVISADO Y APROBADO POR:



Dr. Edison Raveliño Ramón Curay MSc.

TUTOR



Dr. Isidro Favián Bayas Morejon PhD.

PAR LECTOR



Dr. Franklin Antonio Roman Cárdenas MSc.

PAR LECTOR



CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Nosotros, Alex Patricio Pinto Cayambe con CI 0250026705 y Robinson Gerardo Mejía Fuertes, con CI 1724215577, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Alex Patricio Pinto Cayambe

AUTOR


CI. 0250026705



Robinson Gerardo Mejía Fuertes

AUTOR

CI. 1724215577



Dr. Edison Raveliño Ramón Curay MSc

TUTOR

CI. 1102812607





Notaría Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario



rio...

N° ESCRITURA 20250201003P02110

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR: MEJIA FUERTES ROBINSON GERARDO y PINTO CAYAMBE ALEX PATRICIO

INDETERMINADA DI: 2 COPIAS E.G.

Factura: 001-005- 000003565


En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día doce de Agosto del dos mil veinticinco, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparecen MEJIA FUERTES ROBINSON GERARDO, soltero de ocupación estudiante, domiciliado en la 9 de abril y Rocafuerte, parroquia Veintimilla, cantón Guaranda, Provincia de Bolívar, con celular número (0939879635), con correo electrónico romejia@mailes.ueb.edu.ec, y PINTO CAYAMBE ALEX PATRICIO, soltero de ocupación estudiante, domiciliado en la Cooperativa Defensa del Pueblo, de la parroquia Guanujo, cantón Guaranda, provincia de Bolívar, con celular número (0999322208), su correo electrónico es alex.pinto09@hotmail.com, todos por sus propios y personales derechos, obligarse a quien de conocer doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruidas por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertido de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presentan su declaración Bajo Juramento declaramos lo siguiente manifestamos que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado "ANÁLISIS COMPARATIVO DEL PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Listeria spp.* EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA" Es de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autores, previo a la obtención del título de Médicos Veterinarios en la Universidad Estatal de Bolívar, Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad, la misma que realizamos para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que le fue a la compareciente por mí el Notario en unidad de acto, aquella se ratifica y firma conmigo de todo lo cual doy Fe.


MEJIA FUERTES ROBINSON GERARDO

C.C. 1724215577


PINTO CAYAMBE ALEX PATRICIO

C.C 0250026705


AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



Alex Patricio Pinto Cayambe Robinson Gerardo Mejí...

Tesis Listeria .pdf

 2025

 2025

 Universidad Estatal de Bolívar

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:482517123

Fecha de entrega

12 ago 2025, 10:23 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

12 ago 2025, 11:07 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

Tesis Listeria .pdf

Tamaño de archivo

948.5 KB

81 Páginas

15.218 Palabras

87.847 Caracteres






9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 12 palabras)

Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



DEDICATORIA

Le dedico este logro a mi madre quien con su esfuerzo intachable, amor incondicional y sacrificio silencioso pudo enseñarme que la constancia y humildad pueden llegar a ser el éxito en la vida; a mi padre quien me guió inclusive en los momentos más duros de mi vida. Infinitamente gracias por confiar en mí incluso en los momentos en los que yo dudé de mí mismo es por eso que esta tesis es por ustedes y para ustedes.

A mi querida mami Chabela que partió de este mundo con el deseo de verme culminando esta etapa, hoy este sueño también es parte de ella que, con su amor, sus palabras y su orgullo también fueron mi motor y aunque físicamente no esté la puedo sentir en cada logro.

A mi esposa por su apoyo constante, por su paciencia infinita en los momentos más difíciles, por creer en mí aún en esos momentos en los que yo no lo hacía, por ese amor que ha sido mi fuerza y mi calma y el mismo impulso para no rendirme.

A mi hijo que es y será siempre mi mayor motivación, por ser la razón de que cada esfuerzo vale la pena; que este logro sea para ti un ejemplo de que con fe, perseverancia y esfuerzo los sueños se cumplen.

A mi familia que con sus palabras de aliento en los días difíciles pudieron ser un refugio el cual me ayudó y motivó a mantener en pie dentro de este camino, a quienes sin dudarlos escucharon mis quejas sin juzgarme y quienes al final del día me recordaban que también es bueno reírse luego de un mal día, hoy se que todos ustedes fueron una parte fundamental en esta etapa.

A mi gran amigo Sebastián Gamboa con quien siempre soñamos culminar esta etapa juntos, aunque la vida tuvo otros planes y Dios lo llamo antes de tiempo, su ímpetu y sus ganas de motivarnos me ayudó a salir adelante.

A cada uno de esos docentes que supieron compartir sus conocimientos por su paciencia y motivación al decirnos que podemos ir más allá de lo académico.

Gracias especialmente al Dr. Ribeliño Ramón mi querido tutor y la Lcda. Mirian Aguay quienes, con su guía y comprensión, pudieron enseñarme que detrás de cada corrección hay una gran oportunidad de mejorar.

Y aquellos quienes supieron acompañarme en silencio, por darme mensajes de aliento o una palabra que necesitaba justo en el momento indicado.

Hoy por hoy no voy a negar las incansables veces que estaba por rendirme, pero no está por demás agradecerme a mí mismo por esforzarme cada año y por seguir aun sabiendo que el cansancio era más fuerte que las ganas de seguir.

Ahora sé que si se puede y se pudo y eso también merece ser reconocido.

Alex Patricio Pinto Cayambe

DEDICATORIA

A Dios, por la fortaleza, la sabiduría y las oportunidades que me concedió para llegar hasta aquí, y a mí mismo, por la resiliencia demostrada, cada hora de esfuerzo y por no rendirme jamás ante los obstáculos. Este logro es el reflejo de una profunda convicción y Su guía fundamental en cada paso.

Por supuesto, no puedo dejar atrás a mis queridos padres, por su amor incondicional, su sacrificio y el apoyo constante que me brindaron en cada etapa. Su fe en mí fue mi mayor motor.

Finalmente, a mi pareja y a mi hija, ya que ellas fueron mi mayor impulso para alcanzar esta meta.

Robinson Gerardo Mejía Fuertes

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por permitir haber culminado esta estampa con paciencia y sabiduría.

A cada una de las personas que colaboraron con un granito de arena para que esta tesis se haga realidad, mi eterno agradecimiento por su incondicional apoyo y ayuda.

Alex Patricio Pinto Cayambe

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mi tutor de tesis Dr. Ramón Riviño por su guía experta y apoyo constante. También agradezco a los miembros del comité por sus valiosos comentarios y sugerencias que enriquecieron esta investigación. Agradezco igualmente a los docentes y personal administrativo de la universidad por su colaboración y asistencia en el desarrollo de esta tesis. Su dedicación y profesionalismo han sido fundamentales para mi crecimiento académico. La experiencia adquirida durante este proceso será invaluable para mi futuro profesional. Finalmente, extiendo mi agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación y por el apoyo institucional recibido durante mi formación académica.

Robinson Gerardo Mejía Fuertes

RESUMEN

La leche cruda constituye un alimento de alto valor nutricional, pero su consumo sin tratamiento térmico adecuado representa un riesgo para la salud pública, especialmente en contextos donde las prácticas de higiene son limitadas. *Listeria spp.* es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), con alta tasa de mortalidad y creciente resistencia antimicrobiana. Esta investigación tuvo como objetivo analizar el perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* en muestras de leche cruda comercializadas en tres mercados del cantón Guaranda, provincia de Bolívar. El estudio se fundamentó en la identificación microbiológica de la bacteria y la evaluación de su susceptibilidad frente a tres antibióticos comúnmente utilizados: ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina. Se empleó un diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA), aplicando pruebas bioquímicas, microscópicas y de difusión en disco (Kirby-Bauer).

Los resultados indicaron una prevalencia del 66,67 % de *Listeria spp.* en las muestras analizadas. Las pruebas de susceptibilidad revelaron resistencia total a ampicilina y tetraciclina, mientras que la ciprofloxacina mostró efecto inhibitorio significativo. El análisis estadístico (ANOVA) evidenció diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$), lo que permitió rechazar la hipótesis nula y confirmar una diferencia significativa en el perfil de resistencia.

Estos hallazgos alertan sobre la presencia de cepas multirresistentes en productos lácteos sin control sanitario, lo cual representa un riesgo latente para los consumidores. En conclusión, se destaca la necesidad urgente de fortalecer la vigilancia microbiológica, regular el uso de antibióticos en la producción animal y fomentar el consumo de leche pasteurizada. Asimismo, se recomienda continuar con estudios enfocados en la resistencia bacteriana y la implementación de medidas sanitarias integrales en el sector lechero rural.

Palabras clave: *Listeria spp.*, resistencia antimicrobiana, leche cruda, antibióticos, salud pública.

SUMMARY

Raw milk is a food with high nutritional value; however, its consumption without adequate thermal treatment poses a public health risk, especially in contexts with limited hygiene practices. *Listeria spp.* is an emerging pathogen associated with foodborne diseases (FBDs), characterized by a high mortality rate and increasing antimicrobial resistance. This study aimed to analyze the antimicrobial resistance profile of *Listeria spp.* isolated from raw milk samples sold in three markets in the Guaranda canton, Bolívar province. The research was based on the microbiological identification of the bacterium and the evaluation of its susceptibility to three commonly used antibiotics: ampicillin, ciprofloxacin, and tetracycline. A completely randomized block design (CRBD) was applied, including biochemical, microscopic, and disk diffusion (Kirby-Bauer) tests.

The results revealed a prevalence of 66.67% of *Listeria spp.* in the analyzed samples. Susceptibility testing showed total resistance to ampicillin and tetracycline, while ciprofloxacin exhibited significant inhibitory activity. The statistical analysis (ANOVA) indicated highly significant differences between treatments ($p < 0.0001$), leading to the rejection of the null hypothesis and confirming significant variation in resistance profiles.

These findings highlight the presence of multidrug-resistant strains in dairy products lacking sanitary control, posing a latent risk to consumers. In conclusion, the study underscores the urgent need to strengthen microbiological surveillance, regulate antibiotic use in animal production, and promote the consumption of pasteurized milk. Further studies on bacterial resistance and the implementation of comprehensive sanitary measures in the rural dairy sector are recommended.

Keywords: *Listeria spp.*, antimicrobial resistance, raw milk, antibiotics, public health.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN.	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPITULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. <i>Listeria spp.</i>	6
2.1.1. Historia y descubrimiento de <i>Listeria spp.</i>	6
2.1.2. Características microbiológicas de <i>Listeria spp.</i>	7
2.1.3. Patogénesis y mecanismos de infección	8
2.1.4. Importancia en la salud pública	9
2.1.5. <i>Listeria spp.</i> en productos lácteos	10
2.1.6. Resistencia Antimicrobiana en <i>Listeria spp.</i>	13
2.1.7. Fármacos en estudio.	16
2.1.8. Metodologías para el Estudio de la Resistencia Antimicrobiana en <i>Listeria spp.</i>	23
CAPITULO III	26
3. MARCO METODOLÓGICO	26
3.1. Ubicación de la investigación	26

3.2. Metodología	26
CAPITULO IV	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Interpretación de resultados	33
4.1.1. Prevalencia	33
4.1.2. Pruebas microscópicas	34
4.1.3. Pruebas bioquímicas	35
4.1.4. ADEVA del efecto de los antibióticos en estudio frente a <i>Listeria spp.</i> aislada de leche cruda	38
4.5. COMPROBACION DE HIPOTESIS	46
CAPÍTULO V	47
5. Conclusiones y recomendaciones	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	48
BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

N.º	Contenido	Pág.
1	Clasificación taxonómica de <i>Listeria spp.</i>	6
2	Comparación de métodos para identificación de <i>Listeria spp.</i>	25
3	Tratamientos en estudio	27
4	Concentración ($\mu\text{g/mL}$) de antibióticos para <i>Listeria spp.</i>	30
5	Puntos de corte (mm) de antibióticos para <i>Listeria spp.</i>	31
6	Prevalencia de <i>Listeria Listeria spp.</i>	33
7	Resultados tinción Gram	34
8	Resultados Prueba Catalasa	36
9	Resultados Prueba Hemólisis	37
10	Efecto de los antibióticos en estudio frente a <i>Listeria spp.</i> aislada de leche cruda	38
11	Resultado Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)	39
12	Resultados Prueba de Levene	40
13	Resultados Prueba Tukey HSD	41
14	Hallazgos de la susceptibilidad de <i>Listeria spp.</i> frente a los fármacos en estudio	43
15	Porcentaje de susceptibilidad de <i>Listeria spp.</i> frente a los fármacos en estudio	44

INDICE DE FIGURAS

N°	Contenido	Pag.
1	Prevalencia de <i>Listeria spp.</i> en muestras de leche cruda	33
2	Resultados de la tinción de Gram	35
3	Resultados Prueba Catalasa	36
4	Distribución de tipos de hemólisis en <i>Listeria spp.</i>	37
5	Resultados Prueba Tukey HSD Medias	41

ÍNDICE DE ANEXOS

N.º	Contenido
1	Lugar del experimento.
2	Base de datos.
3	Fotografías.
4	Glosario de términos.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN.

La industria lechera en la provincia de Bolívar constituye una de las principales fuentes de economía del sector pecuario. Sin embargo, debido a la falta de tecnificación y controles sanitarios en la mayoría de producciones, la probabilidad de que exista una carencia de Buenas Prácticas de Manufactura es bastante alta, lo cual conlleva a que su producción, comercialización y expendio se realice de forma incorrecta, repercutiendo evidentemente en la salud de los consumidores. Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, además que están relacionadas con la reducción en el crecimiento económico.

Como menciona (Reyna & Arteaga, 2022) en su investigación, la leche es un alimento completo y equilibrado, que forma parte de la dieta diaria de varios sectores de la población, ya que aporta proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas y minerales. Sin embargo, la leche cruda es un medio propicio para el crecimiento de microorganismos patógenos, por lo que el consumo de esta o de sus derivados contaminados son los causantes de graves enfermedades.

La pasteurización de la leche es uno de los métodos más eficientes para la destrucción de microorganismos patógenos, pero el hábito de consumir leche cruda y la elaboración de sus derivados con la materia prima no tratada, ha hecho que patógenos emergentes como la *Listeria spp.* sea uno de los principales causantes de ETA's con un alto índice de mortalidad del 30% de los casos, siendo en la mayoría de estos causados por alimentos de origen lácteo (Schöbitz et al., 2018).

Hasta hace unos años, *Listeria spp.* mostraba una considerable sensibilidad a un amplio número de antimicrobianos activos contra bacterias Gram positivas, lamentablemente por el uso indiscriminado de antibióticos, en la actualidad se ha reportado el fármaco resistencia de esta bacteria, la cual ha ido creciendo de forma acelerada, limitando así las opciones terapéuticas contra la listeriosis (Villalobos & Martínez, 2019).

Por lo antes mencionado la presente investigación realizará un análisis comparativo del perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* en leche cruda, determinando la presencia de dicha bacteria en muestras lácteas obtenidas en la ciudad de Guaranda de tres diferentes centros de comercialización, para posteriormente evaluar la resistencia o susceptibilidad a fármacos considerados como primera línea terapéutica tales como: Ampicilina, Tetraciclina y Ciprofloxacina.

1.2. PROBLEMA

La producción de leche bovina tiene un impacto importante en el ámbito económico y social de la provincia de Bolívar y en todo el país, ya que la calidad sanitaria de esta es un factor determinante al momento de considerar el establecimiento de su precio y sobre todo de abrir a los productores campo a un mercado competitivo, por lo que su producción debe ir de la mano de la correcta aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura, mismas que garantizarán la inocuidad de los productos lácteos para que estos sean seguros al consumo humano.

Las entidades vinculadas al control sanitario en el Ecuador se basan en la recomendación de organismos internacionales, los cuales han establecido normativas de vigilancia en todas las etapas de producción de la leche, desde su ordeño hasta que llegue al consumidor. Sin embargo, la leche cruda que es expandida en los principales mercados de la ciudad de Guaranda está dada principalmente por el sector campesino de la provincia, en donde prevalece una producción rudimentaria que incrementa la probabilidad de contaminación de la leche y que muchas veces carece de vigilancia sanitaria, representado así un riesgo para la salud pública.

Listeria spp. es uno de los principales microorganismos patógenos que se encuentran en productos lácteos contaminados, la alarmante preocupación que genera esta bacteria es debido a su alto índice de mortalidad y a las graves secuelas que deja a quienes la padecen. Sumado a todo esto está la resistencia antimicrobiana que ha obtenido este patógeno debido al uso indiscriminado de antibióticos considerados de primera elección para su tratamiento, lo cual ha dado como resultado en la disminución de opciones terapéuticas.

En este sentido, el presente trabajo investigativo pretende realizar un análisis comparativo del perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* en leche cruda, para lo cual se utilizará fármacos como: Ampicilina, Tetraciclina y Ciprofloxacina para determinar la resistencia y susceptibilidad de este microorganismo, lo cual es muy importante desde el punto de vista sanitario y de salud pública de la provincia, así como al momento de querer establecer protocolos terapéuticos para su control.

1.3. OBJETIVOS

- **Objetivo General.**

Analizar el perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* en muestras de leche cruda.

- **Objetivos Específicos.**

- Determinar la prevalencia de *Listeria spp.* en muestras de leche cruda
- Evaluar la susceptibilidad y la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cepas de *Listeria spp.* a los antibióticos ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina.
- Comparar los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* a los antibióticos en estudio.

1.4. HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (H₀):

No existe diferencia significativa en el perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* a ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina en muestras de leche cruda de vaca.

Hipótesis Alternativa (H₁):

Existe una diferencia significativa en el perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* a ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina en muestras de leche cruda de vaca.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Listeria spp.*

2.1.1. Historia y descubrimiento de *Listeria spp.*

La bacteria del género *Listeria spp.* fue descubierta por primera vez en 1926 por E. Murray y sus colegas en Inglaterra. Identificaron el microorganismo en conejos y cobayas, llamándolo inicialmente *Bacterium monocytogenes* debido a su capacidad para inducir monocitosis en los animales infectados. Más tarde, en 1940, el bacteriólogo J.H. Harvey reubicó la especie en un nuevo género, *Listeria*, en honor al cirujano británico Joseph Lister, pionero en la antisepsia (Radoshevich & Cossart, 2018).

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Listeria spp.

Categoría	Clasificación
Dominio	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	<i>Listeriaceae</i>
Género	<i>Listeria</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Listeria ivanovii</i> <i>Listeria innocua</i>
Especie	<i>Listeria welshimeri</i> <i>Listeria seeligeri</i> <i>Listeria grayi</i> <i>Listeria marthii</i>

Durante las décadas de 1940 y 1950, se hicieron avances significativos en la comprensión de *Listeria monocytogenes*, particularmente en relación con su capacidad para causar enfermedades en animales y humanos. Los investigadores comenzaron a reconocer la listeriosis como una enfermedad importante en medicina veterinaria y en salud pública. La listeriosis fue identificada como una causa de

abortos espontáneos y septicemia en animales, y más tarde se estableció como un patógeno humano (Lecuit, 2020).

La importancia de *Listeria monocytogenes* como patógeno humano se destacó a través de varios brotes importantes de listeriosis. En 1981, un brote en Canadá, asociado con el consumo de coles contaminadas, llevó a un aumento significativo en la conciencia pública y científica sobre el riesgo de *Listeria spp.* en los alimentos. Desde entonces, se han reportado numerosos brotes en todo el mundo, vinculados a una variedad de alimentos, incluyendo productos lácteos, carnes procesadas y vegetales frescos (Schlech, 2019).

2.1.2. Características microbiológicas de *Listeria spp.*

Listeria spp. son bacterias Gram-positivas que presentan una morfología bacilar, generalmente de 0.5-2 μm de largo y 0.5 μm de diámetro. Son móviles a temperaturas inferiores a 30°C debido a la presencia de flagelos peritricos. A temperaturas más altas, como 37°C, la movilidad se reduce. Estas bacterias no forman esporas, pero pueden formar biofilms, lo que les confiere resistencia en diversos ambientes, incluidos los entornos de procesamiento de alimentos (Ryser, 2021).

Listeria spp. son bacterias facultativamente anaerobias que pueden crecer en una amplia gama de temperaturas, desde 1°C hasta 45°C, aunque su temperatura óptima de crecimiento es alrededor de 30-37°C. Esta capacidad de crecer a bajas temperaturas hace que *Listeria monocytogenes* sea especialmente peligrosa en alimentos refrigerados. Además, estas bacterias pueden tolerar condiciones de pH entre 4.4 y 9.6 y concentraciones salinas de hasta el 10%, lo que les permite sobrevivir en ambientes hostiles (Dasriya et al., 2022).

La formación de biofilms por *Listeria spp.* es una característica clave que contribuye a su persistencia en el ambiente, especialmente en instalaciones de procesamiento de alimentos. Los biofilms protegen a las bacterias de los agentes desinfectantes y condiciones adversas. Esta resistencia permite que *Listeria* sobreviva en superficies de contacto con alimentos, equipos y ambientes húmedos,

aumentando el riesgo de contaminación cruzada y brotes de listeriosis (Osek et al., 2022).

2.1.3. Patogénesis y mecanismos de infección

La capacidad de *L. monocytogenes* para causar enfermedad se debe a una serie de factores de virulencia que le permiten invadir células, sobrevivir en el interior celular y diseminarse a través de los tejidos del huésped (Bucur et al., 2019).

La primera etapa de la infección por *Listeria spp.* implica la adhesión a las células epiteliales del intestino del huésped. Este proceso es facilitado por las proteínas de superficie bacteriana conocidas como internalinas (InlA e InlB). InlA se une a la cadherina E en las células epiteliales, mientras que InlB se une al receptor del factor de crecimiento similar a la hepatocina (Met), promoviendo la internalización de la bacteria en las células del huésped (Doghri et al., 2021).

Una vez dentro de la célula huésped, *Listeria spp.* debe escapar de la vacuola fagocítica para evitar su destrucción. La bacteria utiliza la listeriolisina O (LLO), una toxina que perfora la membrana de la vacuola, y dos fosfolipasas (PlcA y PlcB) para degradar las membranas de la vacuola, liberando la bacteria en el citoplasma de la célula huésped (Duze et al., 2021).

En el citoplasma, *Listeria spp.* utiliza la proteína ActA para secuestrar el citoesqueleto de actina de la célula huésped y promover la formación de "colas de actina". Estas colas de actina permiten que la bacteria se mueva dentro de la célula y se propulse hacia la membrana celular, formando protrusiones que son internalizadas por las células vecinas, facilitando así la diseminación de célula a célula sin ser expuesta al sistema inmunológico del huésped (Fagerlund et al., 2021).

Listeria spp. tiene varias estrategias para evadir el sistema inmunológico del huésped. Al diseminarse de célula a célula, evita la exposición a anticuerpos y a células fagocíticas. Además, la bacteria puede inducir una respuesta inmunitaria que favorece su propia supervivencia y propagación. Por ejemplo, *L. monocytogenes*

puede manipular la respuesta inflamatoria para crear un entorno que facilite su invasión y replicación (Fan et al., 2020).

2.1.4. Importancia en la salud pública

Es una bacteria patógena que representa una amenaza significativa para la salud pública debido a su capacidad para causar listeriosis, una infección grave y potencialmente mortal. Esta enfermedad es especialmente peligrosa para ciertas poblaciones vulnerables, incluyendo mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas. La listeriosis se transmite principalmente a través del consumo de alimentos contaminados, lo que convierte a la seguridad alimentaria en un componente crucial en la prevención de esta enfermedad (Gray et al., 2018).

La listeriosis es relativamente rara en comparación con otras enfermedades transmitidas por alimentos, pero su alta tasa de mortalidad, que puede llegar hasta el 30%, la convierte en una preocupación importante. Los brotes de listeriosis han sido asociados con una amplia variedad de alimentos, incluyendo productos lácteos no pasteurizados, carnes procesadas, pescados ahumados y vegetales crudos. La capacidad de *Listeria monocytogenes* para crecer a temperaturas de refrigeración y su resistencia a condiciones adversas como alta salinidad y bajas temperaturas de pH, aumenta el riesgo de contaminación en la cadena alimentaria (Haubert et al., 2019).

La listeriosis es especialmente peligrosa para las mujeres embarazadas, ya que la infección puede causar abortos espontáneos, nacimientos prematuros o infecciones neonatales graves. En los ancianos y las personas inmunocomprometidas, la listeriosis puede llevar a septicemia, meningitis y encefalitis, condiciones que a menudo resultan en complicaciones graves o la muerte (Davis et al., 2019)

2.1.5. *Listeria spp.* en productos lácteos

2.1.5.1. Prevalencia de *Listeria spp.* en leche cruda de vaca

Diversos estudios han investigado la prevalencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda de vaca en diferentes regiones del mundo. Estos estudios muestran una variabilidad en la prevalencia, que puede estar influenciada por factores regionales y estacionales. Por ejemplo, un estudio realizado en Francia encontró que la prevalencia de *Listeria spp.* en leche cruda variaba entre el 2-5%. Otro estudio en Ghana reportó una prevalencia de aproximadamente el 5.5% en muestras de leche cruda (Owusu et al., 2019).

2.1.5.2. Factores de contaminación en la producción de leche

La producción de leche es un proceso complejo que puede estar sujeto a diversos factores de contaminación en cada etapa, desde la granja hasta el consumidor final. La calidad y seguridad de la leche pueden verse comprometidas por la presencia de patógenos, residuos químicos y contaminantes ambientales. Identificar y controlar estos factores es crucial para garantizar la inocuidad de los productos lácteos y proteger la salud pública (Lee et al., 2019).

Contaminación en la explotación lechera

La contaminación de la leche puede ocurrir desde el momento del ordeño debido a diversas fuentes en la granja. Las principales fuentes de contaminación incluyen la salud y la higiene de las vacas, el ambiente de ordeño y el equipo utilizado. Las vacas enfermas, especialmente aquellas con mastitis, pueden excretar bacterias patógenas en la leche. Además, el contacto con estiércol, suelo y agua contaminada puede introducir microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en la leche cruda (Kim et al., 2019).

- Higiene del ordeño y del personal

La higiene durante el proceso de ordeño es fundamental para prevenir la contaminación de la leche. Los equipos de ordeño deben limpiarse y desinfectarse adecuadamente para evitar la acumulación de biofilms y residuos que puedan

albergar bacterias. Asimismo, el personal debe seguir prácticas estrictas de higiene, incluyendo el lavado de manos y el uso de ropa y calzado limpio. La capacitación continua en técnicas de ordeño higiénico es esencial para minimizar el riesgo de contaminación (Rodríguez et al., 2021).

- Almacenamiento y transporte

El almacenamiento y transporte de la leche también son críticos para mantener su calidad y seguridad. La leche debe refrigerarse inmediatamente después del ordeño para inhibir el crecimiento bacteriano. Los tanques de almacenamiento y los vehículos de transporte deben estar limpios y en buen estado. Las fluctuaciones de temperatura durante el transporte pueden favorecer la proliferación de microorganismos, por lo que es vital mantener una cadena de frío constante (Kozak & Brown, 2019).

- Contaminación química

Los residuos de medicamentos veterinarios, pesticidas y otros productos químicos utilizados en la granja pueden contaminar la leche. El uso indebido o excesivo de antibióticos para tratar infecciones en las vacas puede resultar en residuos que no se eliminan completamente antes del ordeño. Esto puede tener implicaciones para la salud pública y la calidad de la leche, ya que puede contribuir al desarrollo de resistencia a los antibióticos (Jung et al., 2024).

- Factores ambientales

El ambiente en la granja también juega un papel importante en la contaminación de la leche. La presencia de polvo, insectos y roedores en las áreas de ordeño y almacenamiento puede introducir contaminantes físicos y microbiológicos. Además, las condiciones climáticas adversas, como lluvias intensas y altas temperaturas, pueden afectar la higiene y el manejo de la leche, incrementando el riesgo de contaminación (Shimajima et al., 2024).

2.1.5.3. Impacto de *Listeria spp.* en la industria láctea

Es una bacteria patógena de gran preocupación en la industria alimentaria, especialmente en la producción y procesamiento de productos lácteos. Esta bacteria puede contaminar productos lácteos en varias etapas de la cadena de producción, desde la obtención de la leche hasta el procesamiento y almacenamiento de productos terminados. Debido a su capacidad para crecer a bajas temperaturas y su resistencia a condiciones adversas, *Listeria monocytogenes* representa un riesgo significativo para la salud pública (Borena et al., 2022).

La leche cruda es una fuente potencial de *Listeria monocytogenes*, ya que la bacteria puede estar presente en el ambiente de la granja, en el suelo, el agua y el forraje, así como en las ubres de las vacas. La contaminación puede ocurrir durante el ordeño, especialmente si las prácticas de higiene son deficientes. Una vez que la leche cruda está contaminada, la bacteria puede sobrevivir y multiplicarse durante el almacenamiento y transporte, a menos que se apliquen medidas de control efectivas, como la pasteurización.

Los productos lácteos no pasteurizados, como ciertos quesos artesanales, representan un riesgo particularmente alto de contaminación por *Listeria monocytogenes*. La pasteurización es un proceso crítico que mata la mayoría de los patógenos presentes en la leche cruda, pero cuando los productos lácteos se elaboran con leche no pasteurizada, la posibilidad de contaminación persiste. Esto es especialmente preocupante para productos que se almacenan durante largos periodos a temperaturas de refrigeración, ya que *Listeria spp.* puede crecer incluso en condiciones frías.

Aunque la pasteurización reduce significativamente el riesgo de *Listeria spp.*, los productos lácteos pasteurizados pueden aún ser contaminados post-pasteurización. Esto puede ocurrir debido a la manipulación inadecuada, equipos contaminados o condiciones insalubres en las plantas de procesamiento. Los quesos blandos, los quesos frescos y los productos lácteos listos para el consumo son particularmente susceptibles a la contaminación post-pasteurización (Ioannis-Angelos et al., 2019).

2.1.6. Resistencia Antimicrobiana en *Listeria spp.*

2.1.6.1. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es una preocupación creciente en la salud pública mundial, y *Listeria spp.* no es una excepción. Aunque *Listeria monocytogenes* es generalmente susceptible a una amplia gama de antibióticos, hay evidencia de que algunas cepas han desarrollado resistencia a ciertos antimicrobianos. Los mecanismos de resistencia antimicrobiana en *Listeria spp.* son variados y complejos, involucrando factores genéticos y fisiológicos que permiten a las bacterias sobrevivir en presencia de antibióticos (Vanrompay et al., 2019).

- Adquisición de genes de resistencia

Uno de los principales mecanismos de resistencia en *Listeria spp.* es la adquisición de genes de resistencia a través de la transferencia horizontal de genes (HGT). Este proceso incluye la transferencia de plásmidos, transposones y otros elementos genéticos móviles que contienen genes de resistencia. Por ejemplo, el gen *ermC*, que confiere resistencia a los macrólidos, se ha identificado en plásmidos de *Listeria monocytogenes* (Ricchi et al., 2019).

- Mutaciones espontáneas

Las mutaciones espontáneas en el genoma bacteriano también pueden conducir a la resistencia antimicrobiana. Estas mutaciones pueden alterar los sitios de unión de los antibióticos, reduciendo su efectividad. Por ejemplo, mutaciones en los genes que codifican las proteínas ribosomales pueden conferir resistencia a los aminoglucósidos (Muthulakshmi & Uma, 2019).

- Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo son sistemas de transporte activos que expulsan los antibióticos fuera de la célula bacteriana, reduciendo así su concentración intracelular y efectividad. Estas bombas pueden ser específicas para un tipo de antibiótico o pueden expulsar múltiples clases de antibióticos, contribuyendo a una

resistencia multidroga. En *Listeria monocytogenes*, las bombas de eflujo como Lde y MdrL han sido implicadas en la resistencia a los macrólidos y a otros antibióticos.

- Modificación del sitio de acción

Algunas cepas de *Listeria spp.* pueden modificar los sitios de acción de los antibióticos, haciendo que estos sean menos efectivos. Esto puede incluir la metilación de las moléculas objetivo, como el ARN ribosomal, lo que impide la unión efectiva del antibiótico. Este mecanismo es común en la resistencia a macrólidos, donde la metilación del ARN ribosomal es mediada por los genes *erm*.

- Enzimas inactivadoras

La producción de enzimas que inactivan antibióticos es otro mecanismo de resistencia. Estas enzimas pueden degradar o modificar los antibióticos, neutralizando su actividad. Un ejemplo es la producción de β -lactamasas, que hidrolizan el anillo β -lactámico de los antibióticos β -lactámicos, inactivándolos.

- Biofilms y resistencia

La capacidad de *Listeria spp.* para formar biofilms en superficies de contacto con alimentos y equipos de procesamiento también contribuye a su resistencia. Los biofilms proporcionan un entorno protector que puede impedir la penetración de los antibióticos y desinfectantes, permitiendo que las bacterias sobrevivan y persistan en entornos hostiles (Shamloo & Hosseini, 2019).

2.1.6.2.Importancia del Estudio de la Resistencia Antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es uno de los mayores desafíos de la salud pública en el siglo XXI. Se refiere a la capacidad de los microorganismos, como bacterias, virus y algunos parásitos, de resistir los efectos de los medicamentos que alguna vez fueron efectivos para tratarlos. Esta resistencia pone en riesgo los avances médicos logrados en las últimas décadas y amenaza con llevarnos a una era en la que infecciones comunes y heridas menores pueden volver a ser mortales.

El uso de antibióticos en la medicina veterinaria y la agricultura es una importante área de estudio en la resistencia antimicrobiana. Los antibióticos se utilizan no solo para tratar infecciones en animales, sino también como promotores del crecimiento y preventivos en la producción ganadera. Esta práctica contribuye significativamente a la aparición de bacterias resistentes, que pueden transferirse a los humanos a través del consumo de alimentos contaminados y el contacto directo con animales (Baquero et al., 2020).

2.1.6.3. Resistencia en *Listeria spp.*: Generalidades y Estudios Previos

El estudio de la resistencia antimicrobiana es crucial debido a su impacto directo en la salud pública. La RAM reduce la efectividad de los tratamientos estándar, lo que resulta en enfermedades más prolongadas, mayor mortalidad y la necesidad de tratamientos más caros y tóxicos (Matereke & Ifeanyi, 2020).

En 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) destacó que la RAM podría causar 10 millones de muertes al año para 2050 si no se toman medidas urgentes

La resistencia antimicrobiana también tiene importantes implicaciones económicas. El tratamiento de infecciones resistentes es significativamente más costoso que el de infecciones sensibles a los medicamentos. Los costos incluyen no solo los medicamentos más caros, sino también estancias hospitalarias prolongadas y la necesidad de cuidados más intensivos (Kayode & Semerjian, 2021).

Según un informe del Banco Mundial, la resistencia antimicrobiana podría reducir el producto interno bruto (PIB) global en un 3,8% y empujar a 28 millones de personas a la pobreza extrema para 2050.

2.1.7. Fármacos en estudio.

2.1.7.1. Ampicilina: Historia, Uso y Mecanismo de Acción

Historia de la Ampicilina

La ampicilina es un antibiótico betalactámico perteneciente al grupo de las penicilinas. Fue descubierta en 1961 por la empresa farmacéutica británica Beecham una modificación de la estructura básica de la penicilina para ampliar su espectro de acción. La ampicilina fue uno de los primeros antibióticos de amplio espectro disponibles, lo que significó un avance significativo en el tratamiento de infecciones bacterianas tanto grampositivas como gramnegativas (Whalen & Feild, 2019).

Uso Clínico de la Ampicilina

La ampicilina se utiliza ampliamente en la medicina humana y veterinaria para tratar una variedad de infecciones bacterianas. Es eficaz contra infecciones del tracto respiratorio, urinario, gastrointestinal, y ciertas infecciones de la piel y los tejidos blandos. También se emplea en el tratamiento de la meningitis y endocarditis bacteriana. En neonatos, la ampicilina es una opción común para tratar infecciones estreptocócicas del grupo B (Martini-Johnson, 2021).

En la medicina veterinaria, la ampicilina se utiliza para tratar infecciones en una variedad de animales, incluyendo ganado, perros y gatos. Su amplio espectro de acción y su relativa seguridad hacen que sea una elección popular para el tratamiento de infecciones bacterianas en estos animales (Gawrońska et al., 2022).

Farmacocinética de la Ampicilina.

La ampicilina es un antibiótico β -lactámico que se excreta principalmente a través de los riñones mediante secreción tubular y, en menor medida, por filtración glomerular (Monaghan et al., 2021).

Farmacodinamia de la Ampicilina.

La ampicilina es un antibiótico β -lactámico que actúa interfiriendo en la síntesis de la pared celular bacteriana, su eficacia puede depender de factores como la especie animal, la dosis, la vía de administración y la condición de los órganos excretores, particularmente los riñones, ya que la eliminación del fármaco se realiza principalmente por vía renal, lo que puede influir en su toxicidad y requerir ajustes de dosis en animales con insuficiencia renal (Kondampati et al., 2022).

Mecanismo de Acción

La ampicilina, al igual que otras penicilinas, actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. Lo hace uniéndose a las proteínas de unión a penicilina (PBPs) situadas en la membrana celular de las bacterias. Estas PBPs son enzimas cruciales para la formación de enlaces cruzados en la capa de peptidoglicano de la pared celular. Al inhibir estas enzimas, la ampicilina provoca la interrupción de la formación de la pared celular, lo que lleva a la lisis y muerte de la bacteria debido a la presión osmótica interna (Carvalho & Reis, 2022).

Resistencia a la Ampicilina

A pesar de su eficacia, el uso prolongado y extensivo de la ampicilina ha llevado al desarrollo de resistencia bacteriana. Los mecanismos de resistencia incluyen la producción de betalactamasas, que son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de la ampicilina, inactivando el antibiótico. Además, las mutaciones en las PBPs pueden reducir la afinidad de la ampicilina por su objetivo, disminuyendo su efectividad (Rodríguez-Villodres & Lepe, 2020).

Investigación y Desarrollos Recientes

La investigación reciente se ha centrado en abordar la resistencia a la ampicilina mediante el desarrollo de inhibidores de betalactamasas y nuevas formulaciones combinadas. Estas estrategias incluyen el uso de ampicilina junto con inhibidores de betalactamasas como el sulbactam para restaurar su eficacia contra cepas bacterianas resistentes. Además, los avances en la biotecnología y la química

medicinal continúan explorando nuevas modificaciones estructurales de la ampicilina para mejorar su estabilidad y espectro de acción (Lepe & Rodríguez-Villodres, 2019).

2.1.7.2.Ciprofloxacina: Historia, Uso y Mecanismo de Acción.

Historia de la Ciprofloxacina

La ciprofloxacina es un antibiótico perteneciente a la clase de las fluoroquinolonas. Fue desarrollada por Bayer AG en la década de 1980 y se introdujo en el mercado en 1987. La ciprofloxacina representó un avance significativo en el tratamiento de infecciones bacterianas debido a su amplio espectro de actividad y su capacidad para tratar infecciones graves causadas por bacterias gramnegativas y grampositivas. Su desarrollo se basó en la modificación de las quinolonas de primera generación, mejorando su eficacia y perfil de seguridad (Conley et al., 2019).

Uso Clínico de la Ciprofloxacina

La ciprofloxacina se utiliza ampliamente en medicina para tratar diversas infecciones bacterianas. Es eficaz en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, respiratorio, gastrointestinal, y de la piel y los tejidos blandos. También se utiliza en el manejo de infecciones sistémicas graves, como la septicemia y la neumonía, así como en infecciones causadas por bacterias resistentes a otros antibióticos. La ciprofloxacina es particularmente útil en el tratamiento de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno problemático en pacientes con fibrosis quística y otras condiciones debilitantes (Noll et al., 2019).

En el ámbito veterinario, la ciprofloxacina se usa para tratar infecciones en una variedad de animales, incluidos perros, gatos y aves. Su amplio espectro y eficacia la hacen una opción valiosa en la medicina veterinaria para el tratamiento de infecciones resistentes a otros antibióticos (Papich, 2018).

Mecanismo de Acción

La ciprofloxacina actúa inhibiendo la enzima ADN girasa (topoisomerasa II) y la topoisomerasa IV en las bacterias. Estas enzimas son esenciales para la replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano. Al inhibir estas enzimas, la ciprofloxacina interfiere con la superenrolladura del ADN, lo que lleva a la fragmentación del ADN y la muerte celular bacteriana. Este mecanismo de acción es bactericida, lo que significa que mata las bacterias en lugar de simplemente inhibir su crecimiento (Rehman et al., 2019).

Farmacocinética de Ciprofloxacina.

La ciprofloxacina muestra una farmacocinética dependiente de la concentración con una alta biodisponibilidad en diversos tejidos, lo que facilita su eficacia antimicrobiana. Según Toutain et al. (2021), la ciprofloxacina presenta un perfil farmacocinético que permite alcanzar concentraciones terapéuticas rápidamente, con una distribución amplia en el organismo de los animales tratados. La relación entre el área bajo la curva (AUC) y la concentración inhibitoria mínima (MIC) es fundamental para determinar su eficacia, optimizando el tiempo en el que la concentración plasmática del fármaco permanece sobre la MIC para maximizar su efecto bactericida.

Farmacodinamia de Ciprofloxacina.

La ciprofloxacina actúa principalmente interfiriendo en la síntesis del ADN bacteriano al inhibir la enzima ADN girasa, esencial para la replicación y transcripción del ADN en bacterias. Según Liu et al. (2021), la actividad antibacteriana de la ciprofloxacina es altamente dependiente de la concentración, y se ha observado que ratios elevados de AUC/MIC están correlacionados con mayores tasas de erradicación bacteriana en infecciones causadas por *E. coli*. Esto posiciona a la ciprofloxacina como un agente bactericida eficaz contra bacterias Gram-negativas, siendo su uso particularmente beneficioso en infecciones graves donde es importante alcanzar rápidamente concentraciones terapéuticas altas.

Resistencia a la Ciprofloxacina

A pesar de su eficacia, el uso extendido de la ciprofloxacina ha llevado al desarrollo de resistencia en varias especies bacterianas. Los mecanismos de resistencia incluyen mutaciones en los genes que codifican las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV, que reducen la afinidad de la ciprofloxacina por su objetivo. Además, las bombas de eflujo que expulsan la ciprofloxacina de la célula bacteriana y la reducción de la permeabilidad de la membrana externa en bacterias gramnegativas también contribuyen a la resistencia (Guerin et al., 2021).

Investigación y Desarrollos Recientes

La investigación reciente ha continuado explorando nuevas formas de superar la resistencia a la ciprofloxacina. Esto incluye el desarrollo de nuevos derivados de fluoroquinolonas con mayor eficacia contra cepas resistentes y la combinación de ciprofloxacina con inhibidores de bombas de eflujo o agentes que aumenten la permeabilidad de la membrana bacteriana. Además, se están realizando estudios para comprender mejor los mecanismos moleculares de resistencia y para identificar nuevos objetivos terapéuticos dentro de la célula bacteriana (Panera-Martínez & Rodríguez-Melcón, 2022).

2.1.7.3. Tetraciclina: Historia, Uso y Mecanismo de Acción

Historia de la Tetraciclina

La tetraciclina es un antibiótico de amplio espectro que fue descubierto en la década de 1940. La primera tetraciclina natural, clortetraciclina, fue aislada por Benjamin Minge Duggar en 1948 a partir de cultivos de la *bacteria Streptomyces aureofaciens*. Este descubrimiento fue seguido rápidamente por el desarrollo de otras tetraciclinas, incluida la tetraciclina misma, que se introdujo en el mercado en 1953. La tetraciclina se convirtió rápidamente en uno de los antibióticos más utilizados debido a su eficacia contra una amplia gama de bacterias grampositivas y gramnegativas (Fondo, 2020).

Uso Clínico de la Tetraciclina

La tetraciclina se utiliza para tratar una variedad de infecciones bacterianas. Es eficaz en el tratamiento de infecciones respiratorias, infecciones del tracto urinario, enfermedades de transmisión sexual como la clamidia y la gonorrea, infecciones de la piel y los tejidos blandos, y algunas infecciones intestinales. Además, la tetraciclina se usa en el tratamiento del acné debido a su capacidad para inhibir la proliferación bacteriana y reducir la inflamación (Pollard & Morra, 2020).

La tetraciclina se utiliza para tratar infecciones en animales, incluyendo ganado, aves, y mascotas domésticas. Su amplio espectro de acción la hace útil para combatir infecciones respiratorias, gastrointestinales y sistémicas en estos animales (Papich, 2018).

Mecanismo de Acción

La tetraciclina actúa inhibiendo la síntesis proteica bacteriana. Se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, bloqueando la unión del aminoacil-ARNt al sitio A del complejo ribosomal-ARNm. Esto impide la adición de nuevos aminoácidos a la cadena polipeptídica en crecimiento, deteniendo la síntesis proteica y, por ende, el crecimiento bacteriano. Este mecanismo de acción es bacteriostático, lo que significa que inhibe el crecimiento de las bacterias pero no las mata directamente (Rusu, 2021).

Farmacocinética de la Tetraciclina

Es un antibiótico de amplio espectro perteneciente a la familia de las tetraciclinas, caracterizado por su alta lipofilia, lo cual facilita su absorción a través de las membranas biológicas. En la mayoría de las especies animales, la absorción oral de la doxiciclina no se ve afectada significativamente por la ingesta de alimentos, aunque en caballos la absorción se reduce cuando se administra con alimento. Después de la administración intravenosa, su comportamiento sistémico se describe mejor mediante modelos de dos o tres compartimentos, dependiendo de la especie. La eliminación se realiza principalmente por vía biliar e intestinal, y en menor

medida a través de la orina, lo que reduce el riesgo de acumulación en animales con insuficiencia renal (Mileva & Milanova, 2022).

Farmacodinamia de la Tetraciclina

Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad ribosomal 30S. Su actividad es bacteriostática y depende del tiempo, lo que significa que su eficacia está relacionada con el tiempo en que su concentración se mantiene por encima de la concentración mínima inhibitoria (MIC). Además de su acción antimicrobiana, la doxiciclina también tiene efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, y se ha observado que inhibe la actividad de la metaloproteinasa de matriz, beneficiando el tratamiento de enfermedades inflamatorias y oculares (Lüllmann et al., 2018).

Resistencia a la Tetraciclina

La resistencia a la tetraciclina ha aumentado significativamente desde su introducción. Los mecanismos de resistencia incluyen la producción de proteínas que protegen el ribosoma bacteriano de la unión de la tetraciclina, la modificación enzimática de la tetraciclina, y el eflujo activo del antibiótico fuera de la célula bacteriana mediante bombas de eflujo. Estos mecanismos pueden estar codificados en plásmidos y otros elementos genéticos móviles, facilitando la diseminación de genes de resistencia entre las bacterias (Ahmad et al., 2021).

Investigación y Desarrollos Recientes

La investigación reciente se ha centrado en entender mejor los mecanismos de resistencia a la tetraciclina y en desarrollar nuevas estrategias para superar esta resistencia. Se están explorando nuevas tetraciclinas semisintéticas con modificaciones estructurales que eviten los mecanismos de resistencia conocidos. Además, la combinación de tetraciclinas con inhibidores de bombas de eflujo y otros agentes adyuvantes está siendo investigada para mejorar su eficacia contra cepas resistentes (Brown et al., 2023).

2.1.8. Metodologías para el Estudio de la Resistencia Antimicrobiana en *Listeria spp.*

2.1.8.1. Métodos Microbiológicos para la Detección de Resistencia

-Pruebas de Sensibilidad a Antimicrobianos (AST)

Las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, como el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) y la dilución en caldo, son esenciales para determinar la susceptibilidad de las cepas de *Listeria spp.* a diferentes antibióticos. Estas pruebas permiten evaluar la eficacia de los antibióticos y detectar cepas resistentes (CLSI, 2020).

-Etest

El Etest es una técnica que utiliza tiras impregnadas con un gradiente de antibiótico para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico contra un microorganismo. Esta metodología es útil para proporcionar datos cuantitativos sobre la resistencia a antibióticos específicos (Arendrup et al., 2021).

2.1.8.2. Métodos Moleculares para la Identificación de Genes de Resistencia.

-Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La PCR y sus variantes, como la PCR en tiempo real (qPCR), se utilizan para detectar y cuantificar genes de resistencia en cepas de *Listeria spp.*. Estas técnicas permiten identificar la presencia de genes específicos que confieren resistencia a antibióticos, como los genes tet (para resistencia a tetraciclinas) y erm (para resistencia a macrólidos) (Torresi et al., 2020).

-Secuenciación de Nueva Generación (NGS)

La secuenciación de nueva generación proporciona una visión detallada del genoma completo de *Listeria monocytogenes*, permitiendo la identificación de genes de resistencia y la caracterización de mutaciones que contribuyen a la resistencia. Esta

metodología también facilita estudios de vigilancia epidemiológica y análisis filogenéticos (Lan et al., 2020).

-Hibridación In Situ Fluorescente (FISH)

FISH es una técnica que utiliza sondas fluorescentes específicas para detectar genes de resistencia en muestras bacterianas. Esta metodología es útil para visualizar la distribución de genes de resistencia en comunidades bacterianas y biofilms (Rocha et al., 2019).

2.1.8.3.Nuevos métodos desarrollados.

- Métodos Bioinformáticos

Análisis de Secuencias y Bases de Datos Genómicos

Las herramientas bioinformáticas permiten el análisis de secuencias de ADN y ARN para identificar genes de resistencia y predecir su función. Bases de datos como ResFinder y CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database) proporcionan información sobre la presencia y diversidad de genes de resistencia en *Listeria spp.* (Hanes & Huang, 2022).

- Estudios Fenotípicos

Análisis de Biofilms

Los estudios sobre la formación y resistencia de biofilms de *Listeria monocytogenes* son cruciales para entender la persistencia de esta bacteria en entornos alimentarios y clínicos. Métodos como la tinción de cristal violeta y la microscopía confocal permiten evaluar la formación de biofilms y su resistencia a los antimicrobianos (Gray et al., 2019).

Pruebas de Tolerancia a Estrés

Las pruebas de tolerancia a estrés evalúan la capacidad de *Listeria spp.* para sobrevivir en condiciones adversas, como altas concentraciones de sal, bajas

temperaturas y presencia de desinfectantes. Estas pruebas ayudan a identificar cepas con mayor capacidad de resistencia y supervivencia (Muchaamba & Eshwar, 2021).

2.1.8.4.Comparación de Métodos: Ventajas y Limitaciones

Tabla 2

Comparación de métodos para identificación de Listeria spp.

Método	Ventajas	Limitaciones
Pruebas de Sensibilidad a Antimicrobianos (Mueller-Hinton) Etest	Estándar de oro, fácil de realizar, bajo costo	Tiempo de espera para resultados, no proporciona información sobre mecanismos de resistencia
PCR	Datos cuantitativos precisos de CMI, fácil de interpretar	Costo relativamente alto, menos adecuado para grandes volúmenes de muestras
NGS	Alta sensibilidad y especificidad, resultados rápidos, detecta genes específicos	Costo relativamente alto, requiere equipo especializado y personal capacitado
FISH	Análisis completo del genoma, identificación de nuevos genes y mutaciones	Alto costo, requiere análisis de datos complejos
Análisis de Secuencias y Bases de Datos Genómicos	Visualiza la distribución de genes en biofilms, alta especificidad	Técnica compleja, requiere equipo especializado
Análisis de Biofilms	Identificación y caracterización de genes de resistencia, utiliza datos públicos	Depende de la calidad de los datos de secuencias, requiere conocimiento en bioinformática
Pruebas de Tolerancia a Estrés	Evalúa la formación y resistencia de biofilms, importante para entender la persistencia	Técnica laboriosa, requiere equipo especializado
	Evalúa la capacidad de supervivencia en condiciones adversas, útil para estudios ambientales y de desinfección	Resultados pueden variar según las condiciones experimentales, técnica laboriosa

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación de la investigación

- **Localización de la investigación**

La investigación se desarrolló en el laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, las muestras en estudio se recolectaron en tres mercados de la ciudad de Guaranda.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

El cantón Guaranda, se sitúa en la región central del país, caracterizándose por su variada altitud que oscila entre los 1500 y 4000 metros sobre el nivel del mar; presenta una diversidad climática significativa, con temperaturas promedio que varían entre 12°C y 18°C.

Zona de vida

El cantón Guaranda, se encuentra en la zona de vida denominada como Bosque Montano Bajo según la clasificación de Leslie Holdridge. La vegetación en estas áreas es diversa, incluyendo grandes árboles, un denso sotobosque y abundantes plantas epífitas en el Bosque Montano Bajo, con precipitaciones anuales entre 500 mm y 2000 mm.

3.2. Metodología

3.2.1. Material experimental.

- Muestras de leche cruda.
- Antibióticos (Ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina).

3.2.2. Factores en estudio

Variables independientes

Se realizó un análisis comparativo de la susceptibilidad antimicrobiana de ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina frente a aislados de *Listeria spp.*

Factor (a): Aislados de *Listeria spp.*

Factor (b): Antibióticos en estudio.

(b₁): Ampicilina (5 µg)

(b₂): Ampicilina (10 µg)

(b₃): Ciprofloxacina (5 µg)

(b₄): Ciprofloxacina (10 µg)

(b₅): Tetraciclina (5 µg)

(b₆): Tetraciclina (10 µg)

3.2.3. Tratamientos

Tabla 3

Tratamientos en estudio

Tratamiento	Código	Descripción
T1	a ₁ b ₁	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Ampicilina (5 µg)
T2	a ₁ b ₂	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Ampicilina (10 µg)
T3	a ₁ b ₃	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Ciprofloxacina (5 µg)
T4	a ₁ b ₃	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Ciprofloxacina (10 µg)
T5	a ₁ b ₃	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Tetraciclina (5 µg)
T6	a ₁ b ₃	Aislados de <i>Listeria spp.</i> + Tetraciclina (10 µg)

3.2.3.1.Descripción técnica del ensayo

El presente proyecto investigativo se centró en un análisis comparativo de la resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* en muestras de leche cruda recolectadas de tres mercados en la ciudad de Guaranda. Se realizó una serie de pruebas de susceptibilidad utilizando los antibióticos ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina, evaluando su efecto mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer. En el laboratorio, las muestras fueron cultivadas en medios selectivos (Agar Palcam) para el aislamiento y cultivo de *Listeria spp.*, observando la presencia de colonias características. Una vez aisladas, las cepas de *Listeria spp.* Fueron sometidas a pruebas bioquímicas y microscópicas para su confirmación, y luego expuestas a discos de antibióticos en concentraciones específicas, evaluando el diámetro de la zona de inhibición en milímetros para determinar la susceptibilidad.

3.2.3.2.Tipo de diseño experimental

Tomando en cuenta que se realizó una recolección de datos en varios lugares y en tiempos variados, se escogió un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) y se bloquearon los tratamientos de acuerdo al lugar donde se tomarán los datos a analizar

3.2.3.3.Tipos de análisis

En esta investigación se utilizó una serie de análisis estadísticos para comparar el perfil de resistencia antimicrobiana de *Listeria spp.* a ciprofloxacina, ampicilina y tetraciclina en muestras de leche cruda. El análisis de varianza (ADEVA) con un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) permitió determinar si existen diferencias significativas en la susceptibilidad del patógeno en estudio a los tres antibióticos. Este diseño ayudo a controlar la variabilidad ya que las muestras de leche cruda se tomaron en tres mercados del cantón Guaranda donde se expende leche de vaca para el consumo humano.

Para confirmar la validez de los supuestos del análisis de varianza y los datos obtenidos, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de la distribución de los datos en cada tratamiento en estudio.

Para asegurar que se cumpla uno de los supuestos fundamentales ADEVA, es necesario verificar la homogeneidad de las varianzas entre los tratamientos en estudio. Para esto realizamos la prueba de Levene para evaluar si las varianzas de los datos en diferentes tratamientos son iguales.

Una vez confirmada la normalidad, el análisis de varianza determinó si hay diferencias significativas en las medias de susceptibilidad y en caso afirmativo ($p.value < 0.05$), se empleó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples entre los tratamientos y ver su rendimiento en el estudio.

3.2.3.4. Métodos de evaluación y datos a tomarse

Variables dependientes

- **Prevalencia**

Para cuantificar porcentualmente la presencia de *Listeria spp.* en 3 mercados del cantón Guaranda se aplicó la siguiente fórmula con las muestras de leche cruda de vaca obtenidas (5 muestras)

$$Prevalencia (\%) = \frac{\text{Número de muestras de leche positivas para } Listeria \text{ spp}}{\text{Número total de muestras de leche analizadas}} \times 100$$

- **Pruebas microscópicas**

Tinción de Gram

- **Gram (+)** = *Listeria spp.* aparece como bacilos pequeños y cortos (en forma de bastón) de color violeta.

- **Pruebas microbiológicas.**

Aislamiento en Medios Selectivos:

- **Agar Palcam:** Las colonias de *Listeria spp.* aparecen como colonias negras con halos.

- **Pruebas bioquímicas.**

- **Catalasa (+):** *Listeria spp.* es catalasa positiva, produciendo burbujeo.

- **Prueba de Hemólisis:** *Listeria spp.* presenta hemólisis clara en agar sangre.

- **Pruebas de susceptibilidad antibiótica (Método Kirby-Bauer).**

- **Prueba de Difusión en Disco (Kirby-Bauer):** Medida del diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos antibióticos (ampicilina, ciprofloxacina, tetraciclina) en milímetros.

Tabla 4

Concentración (µg/mL) de antibióticos para Listeria spp.

Antibiótico	Sensible (CLSI)	Sensible (EUCAST)	Intermedio (CLSI)	Resistente (CLSI)	Resistente (EUCAST)
Ampicilina	≤ 0.25 µg/mL	≤ 2 µg/mL	0.5 µg/mL	≥ 1 µg/mL	> 2 µg/mL
Ciprofloxacina	≤ 1 µg/mL	≤ 0.64 µg/mL	2 µg/mL	≥ 4 µg/mL	> 0.64 µg/mL
Tetraciclina	≤ 4 µg/mL	≤ 1 µg/mL	8 µg/mL	≥ 16 µg/mL	> 1 µg/mL

- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):** La concentración más baja de cada antibiótico en estudio, que inhibe el crecimiento visible de *Listeria spp.*

- **Clasificación de Susceptibilidad a los Antibióticos:**

Categoría de cada cepa de *Listeria spp.* (sensible, inhibe o resistente) a los antibióticos ciprofloxacina, ampicilina y tetraciclina, basada en los criterios del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y el EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Tabla 5

Puntos de corte (mm) de antibióticos para Listeria spp.

Antibiótico	Sensibilidad (S)	Intermedio (I)	Resistencia (R)	Fuente
Ampicilina	≥ 29 mm	26-28 mm	≤ 25 mm	CLSI
Ciprofloxacina	≥ 21 mm	16-20 mm	≤ 15 mm	CLSI
Tetraciclina	≥ 23 mm	19-22 mm	≤ 18 mm	CLSI

3.2.3.5. Manejo del experimento

Recolección de Muestras:

La investigación comenzó con la recolección de muestras de leche cruda de vaca de los mercados: “10 de noviembre, “Bellavista” y el mercado de Guanujo en el cantón Guaranda. Las muestras se recogieron de forma aséptica en frascos estériles para evitar la contaminación. Cada muestra fue etiquetada con información detallada, incluyendo la fecha, hora y lugar de recolección. Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio en condiciones refrigeradas (4°C) para mantener la viabilidad de las bacterias y minimizar cualquier cambio en la población microbiana antes del análisis.

Enriquecimiento y Aislamiento:

Se inocularon aislados de las muestras en placas de agar Palcam y se incubarán a 37°C durante 24-48 horas. Las colonias sospechosas de *Listeria spp.* Aparecieron como colonias negras con halos claros en estos medios selectivos debido a la capacidad de hidrolizar la esculina. Las colonias sospechosas se cultivarán de nuevo para obtener cultivos puros.

Identificación de *Listeria spp.*:

Las colonias aisladas de *Listeria spp.* fueron sometidas a pruebas bioquímicas, microscópicas y microbiológicas para una identificación preliminar. Se realizaron

pruebas de catalasa y hemólisis en agar sangre. *Listeria spp.* es catalasa positiva y, específicamente y muestra hemólisis.

Pruebas de Susceptibilidad a Antibióticos:

Las cepas confirmadas de *Listeria spp.* Fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad a los antibióticos ciprofloxacina, ampicilina y tetraciclina. Se utilizó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) para evaluar la susceptibilidad. Las placas de agar Mueller-Hinton serán inoculadas con las cepas y se colocarán discos de antibióticos (ampicilina, ciprofloxacina, tetraciclina en concentraciones de 5 µg y 10 µg) en las placas. Después de incubar a 37°C durante 18-24 horas, se midieron los diámetros de inhibición en milímetros. Además, se realizaron pruebas para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para cada antibiótico.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Interpretación de resultados

4.1.1. Prevalencia

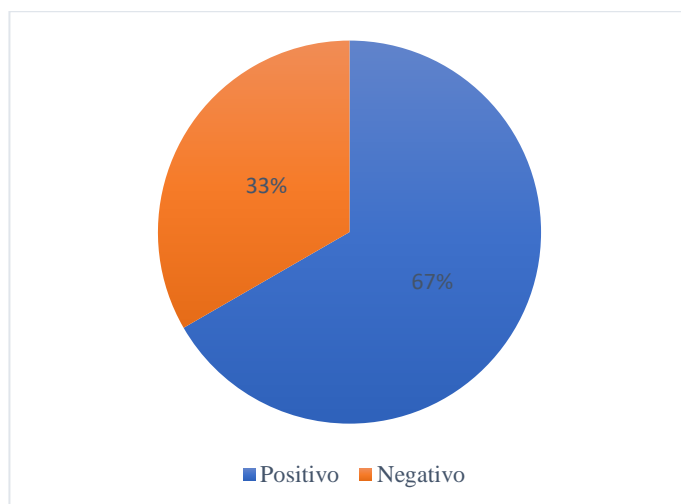
Tabla 6

Prevalencia de Listeria Listeria spp.

Resultado	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	10	66,67%
Negativo	5	33,33%

Figura 1

Prevalencia de Listeria spp. en muestras de leche cruda



De las 15 muestras de leche cruda analizadas de tres mercados de la ciudad de Guaranda., 10 resultaron positivas a *Listeria spp.*, lo que representa una prevalencia del 66,67%. Este hallazgo refleja una alta carga microbiológica asociada a este patógeno en sistemas de producción lechera no pasteurizada, lo cual genera preocupación tanto desde el punto de vista de la salud pública como de la inocuidad alimentaria.

La presencia significativa de *Listeria spp.* en estas muestras podría estar vinculada a deficiencias en las prácticas higiénicas durante el ordeño, limpieza inadecuada de

equipos y almacenamiento deficiente, especialmente en contextos rurales donde la cadena de frío suele ser limitada. Investigaciones recientes confirman que este microorganismo puede persistir en ambientes húmedos y formar biopelículas, facilitando su permanencia en superficies y utensilios de ordeño si no se implementan protocolos adecuados de desinfección (Moreno et al., 2022; Fernández et al., 2023).

Estos resultados coinciden con estudios recientes realizados en América Latina, donde se ha documentado una prevalencia media de *Listeria spp.* entre el 45% y el 70% en productos lácteos crudos, especialmente en zonas sin control higiénico riguroso (Campoverde, 2021; Gómez et al., 2023). La alta prevalencia observada en esta investigación refuerza la necesidad de establecer programas de monitoreo y vigilancia microbiológica, así como capacitaciones permanentes a productores sobre buenas prácticas pecuarias y sanitarias.

4.1.2. Pruebas microscópicas

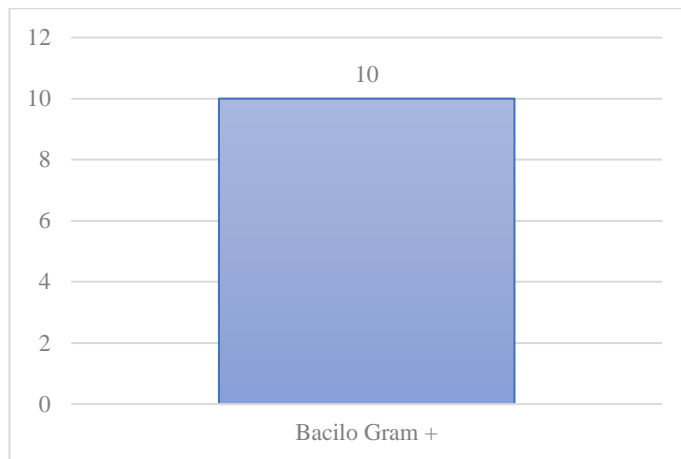
Tabla 7

Resultados tinción Gram

Muestra	Resultado de Gram
M.10 #3	Bacilo Gram +
M.10 #4	Bacilo Gram +
M.10 #5	Bacilo Gram +
M.MAYO #3	Bacilo Gram +
M.MAYO #4	Bacilo Gram +
M.MAYO #5	Bacilo Gram +
M.GUANU #2	Bacilo Gram +
M.GUANU #3	Bacilo Gram +
M.GUANU #4	Bacilo Gram +
M.GUANU #5	Bacilo Gram +

Figura 2

Resultados de la tinción de Gram



Para la identificación morfológica inicial de *Listeria spp.*, se utilizó la tinción de Gram, una técnica fundamental en microbiología clínica. Las muestras sospechosas se sembraron en caldo enriquecido y posteriormente se realizó una coloración diferencial. Las bacterias grampositivas fueron observadas bajo microscopio óptico con objetivo de inmersión, evidenciando bacilos cortos y pequeños de color violeta, característicos de *Listeria spp.* (Tortora et al., 2022). En la tabla de resultados se puede observar que todas las muestras con presencia en agar selectivo mostraron también bacilos Gram positivos, lo que apoya la presunción inicial de este género bacteriano.

4.1.3. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas constituyen un componente esencial en la identificación confirmatoria de *Listeria spp.*, ya que permiten observar características metabólicas específicas del género, complementando los hallazgos microscópicos y microbiológicos.

4.1.3.1. Prueba de catalasa

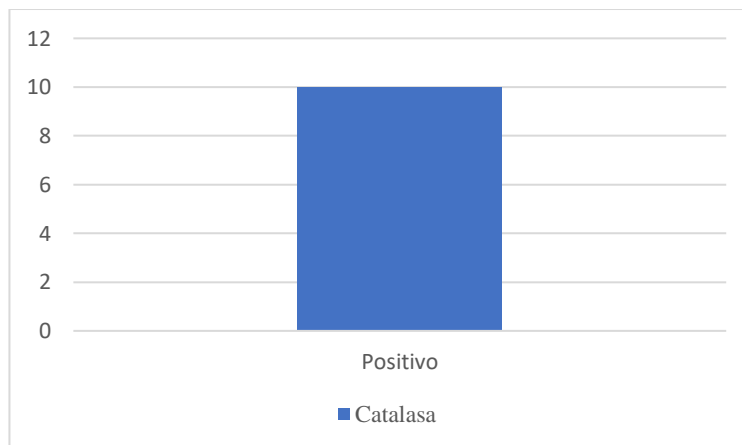
Tabla 8

Resultados Prueba Catalasa

Muestra	Catalasa
M.10 #3	+
M.10 #4	+
M.10 #5	+
M.MAYO #3	+
M.MAYO #4	+
M.MAYO #5	+
M.GUANU #2	+
M.GUANU #3	+
M.GUANU #4	+
M.GUANU #5	+

Figura 3

Resultados Prueba Catalasa



Los resultados de esta prueba fueron concluyentes: todas las muestras que presentaron crecimiento en medio selectivo (Palcam) y confirmación por tinción de Gram también resultaron catalasas positivas. Esta reacción confirma el metabolismo oxidativo activo de *Listeria spp.*, diferenciándola de otros bacilos grampositivos que pueden ser catalasa negativos, como *Streptococcus spp.* (Fernández et al., 2023).

La aplicación de esta prueba, si bien sencilla, resulta de gran valor diagnóstico en laboratorios de microbiología clínica y veterinaria, ya que permite obtener resultados rápidos y confiables, especialmente en zonas rurales donde el acceso a pruebas moleculares es limitado. En este contexto, el uso adecuado de herramientas bioquímicas básicas se convierte en una estrategia eficaz para la vigilancia sanitaria y el control de enfermedades transmitidas por alimentos (Reyes & Campoverde, 2021).

4.1.3.2. Prueba de hemólisis en agar sangre

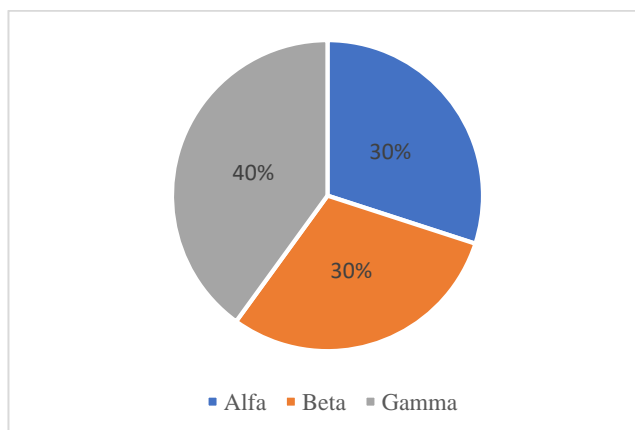
Tabla 9

Resultados Prueba Hemólisis

Muestra	Tipo de Hemólisis
M.10 #3	Gamma hemólisis
M.10 #4	Beta hemólisis
M.10 #5	Alfa hemólisis
M.MAYO #3	Beta hemólisis
M.MAYO #4	Gamma hemólisis
M.MAYO #5	Beta hemólisis
M.GUANU #2	Beta hemólisis
M.GUANU #3	Gamma hemólisis
M.GUANU #4	Alfa hemólisis
M.GUANU #5	Alfa hemólisis

Figura 4

Distribución de tipos de hemólisis en Listeria spp.



La actividad hemolítica es una propiedad distintiva en algunas especies del género *Listeria*, especialmente *Listeria monocytogenes*, que presenta capacidad para lisar eritrocitos mediante la producción de *listeriolisina O*.

En este estudio, el patrón hemolítico predominante fue la beta hemólisis, observada en cepas provenientes de 4 muestras. También se identificaron muestras con hemólisis gamma y alfa, lo cual sugiere la posible presencia de diferentes especies dentro del género *Listeria*, o variabilidad fenotípica influenciada por condiciones de cultivo o expresividad genética.

Según Gómez et al. (2023), la prueba de hemólisis no solo tiene valor diagnóstico, sino que también representa un indicador indirecto de virulencia, ya que las cepas más patógenas de *Listeria monocytogenes* suelen mostrar hemólisis beta con mayor claridad. Por tanto, la interpretación de esta prueba permite diferenciar entre cepas contaminantes y potencialmente zoonóticas.

La integración de estas dos pruebas bioquímicas permitió establecer una correlación sólida entre la presencia de *Listeria spp.* y sus propiedades fenotípicas, generando una base sólida para el posterior análisis de sensibilidad antimicrobiana y perfil de resistencia.

4.1.4. ADEVA del efecto de los antibióticos en estudio frente a *Listeria spp.* aislada de leche cruda

Tabla 10

Efecto de los antibióticos en estudio frente a Listeria spp. aislada de leche cruda

<i>Fuente</i>	<i>Gl</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón- Valor- F</i>	<i>P</i>
A: Antibióticos	5	2146,93	429,387	139,61	0,0000
B: BLOQUE RESIDUOS	9	53,6	5,95556	1,94	0,0707
Total	59	2338,93			

Los resultados del análisis reflejan que el factor **A: Antibióticos** presentó una **razón-F de 139,61** y un **valor-P = 0,0000**, lo cual indica una diferencia altamente significativa entre tratamientos (**p < 0,05**). Esto significa que los distintos antibióticos evaluados ejercieron efectos diferenciados sobre *Listeria spp.*, lo que valida su influencia directa en la inhibición del crecimiento bacteriano con un nivel de confianza del 95%. En contraste, el factor B: Bloques no presentó significancia estadística (**p = 0,0707**), lo que sugiere que las variaciones entre las muestras no afectaron de manera sustancial los resultados, reafirmando la homogeneidad relativa de las unidades experimentales respecto al factor evaluado.

Estos hallazgos son relacionados con investigaciones recientes donde se ha demostrado que la efectividad de los antimicrobianos frente a *Listeria monocytogenes* varía significativamente según el tipo y concentración del antibiótico utilizado (Gómez et al., 2023; Fernández et al., 2023). En particular, estudios en leche cruda han revelado que *Listeria spp.* puede mostrar resistencia natural o adquirida a ciertos antibióticos, especialmente a tetraciclinas, mientras que otros como la ampicilina continúan siendo efectivos, aunque con tendencias decrecientes en su potencia debido al uso indiscriminado (Reyes & Campoverde, 2021).

4.1.4.1. Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)

Tabla 11

Resultado Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico Valor-P</i>
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,972242 0,374608

Para confirmar la distribución normal, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, obteniéndose un estadístico **W = 0,972242** con un valor-P = **0,374608**. Este resultado indica que los valores se ajustan adecuadamente a una distribución normal con un 95 % de confianza, cumpliéndose así uno de los supuestos básicos del ANOVA (CLSI, 2023). Esta distribución adecuada de los residuos respalda la

consistencia del modelo, permitiendo interpretar los resultados del análisis de varianza con mayor solidez.

Resultados similares fueron reportados por Gómez et al. (2023), quienes al evaluar la eficacia de antibióticos frente a *Listeria monocytogenes* en queso fresco artesanal también confirmaron normalidad en la distribución de los residuos del modelo estadístico, lo que permitió aplicar pruebas paramétricas sin restricciones. Asimismo, Fernández et al. (2023) aplicaron la prueba de Shapiro-Wilk en un estudio de inhibición antimicrobiana en leche cruda y obtuvieron resultados congruentes, respaldando su análisis mediante ANOVA.

4.1.4.2. Homogeneidad de varianzas

Tabla 12

Resultados Prueba de Levene

<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	14,1018 8,02229E-9

La prueba de Levene mostró un valor-**F = 14,10** con un valor-**P < 0,0001 (8,02229E-9)**, revelando una diferencia significativa entre las varianzas de los tratamientos. Esta violación del supuesto de homocedasticidad podría comprometer la validez de algunas pruebas paramétricas. Sin embargo, al tener tamaños muestrales iguales, se puede aplicar el ANOVA con cierta robustez, aunque con interpretación prudente (Reyes & Campoverde, 2021).

Mendoza et al. (2022) en su trabajo sobre resistencia bacteriana en leche caprina, reportaron diferencias significativas de varianza cuando evaluaron tetraciclinas, explicando que en tratamientos donde no se genera inhibición (halo = 0 mm), la desviación estándar tiende a cero, alterando la homogeneidad estadística del conjunto.

Este fenómeno fue observado en los tratamientos **T1, T2, T5 y T6**, cuyos halos de inhibición fueron nulos, generando desviaciones estándar de valor cero. Este tipo de resultados refleja la presencia de cepas altamente resistentes o inefectividad

completa del tratamiento, lo cual ha sido previamente reportado en aislamientos rurales por Fernández et al. (2023) y Gómez et al. (2023).

4.1.4.3. Comparación múltiple de medias (Tukey HSD)

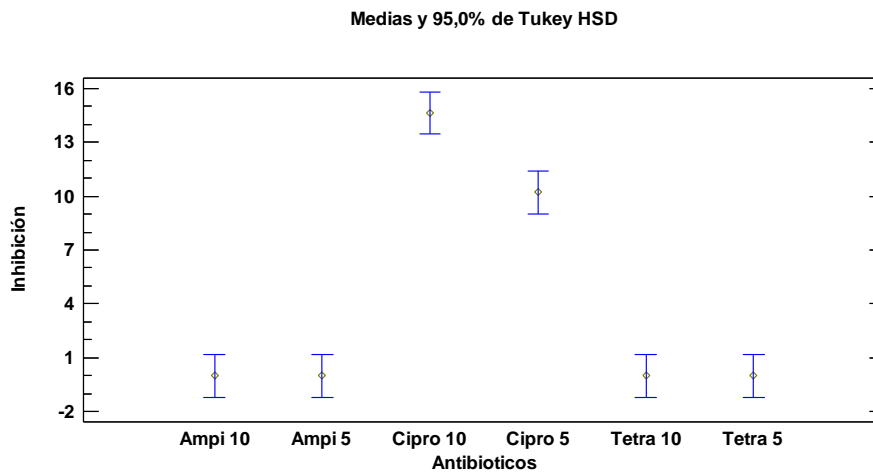
Tabla 13

Resultados Prueba Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	10	0	A
6	10	0	A
2	10	0	A
5	10	0	A
3	10	10,2	B
4	10	14,6	B

Figura 5

Resultados Prueba Tukey HSD Medias



La prueba de Tukey identificó tres grupos homogéneos: el primero formado por tratamientos sin efecto (T1, T2, T5 y T6); el segundo por ciprofloxacina 5 µg (T3); y el tercero por ciprofloxacina 10 µg (T4), que presentó la mayor media de inhibición (14,6 mm). La diferencia entre estos grupos fue altamente significativa ($p < 0,05$), evidenciando que solo la ciprofloxacina mostró efecto antimicrobiano frente a *Listeria spp.* en este estudio.

Este hallazgo coincide con lo reportado por Torres et al. (2021), quienes documentaron alta sensibilidad de *L. monocytogenes* a ciprofloxacina en leche bovina en condiciones andinas, con halos superiores a 12 mm. De manera similar, Gómez et al. (2023) observaron una mayor eficacia de ciprofloxacina respecto a ampicilina y tetraciclina en estudios realizados en quesos frescos, y recomendaron su uso como antimicrobiano de elección frente a cepas resistentes aisladas de productos lácteos crudos.

En cambio, la ineficacia completa de la tetraciclina y la ampicilina, evidenciada por zonas de inhibición de 0 mm en todos los casos, también ha sido reportada en Ecuador por Reyes & Campoverde (2021), quienes atribuyen esta resistencia a un uso prolongado y sin control de estos fármacos en explotaciones pecuarias de baja tecnificación.

4.4.1.4. Categorización interpretativa de la susceptibilidad de *Listeria spp.* expuesta a los antibióticos investigados

Tabla 14

Hallazgos de la susceptibilidad de Listeria spp. frente a los fármacos en estudio

	Codigo	Ampicilina (mm)				Ciprofloxacina (mm)				Tetraciclina(mm)			
		5µg	Categoría	10µg	Categoría	5µg	Categoría	10µg	Categoría	5µg	Categoría	10µg	Categoría
1	M.10 #3	0	R	0	R	11	R	16	I	0	R	0	R
2	M.10 #4	0	R	0	R	10	R	13	R	0	R	0	R
3	M.10 #5	0	R	0	R	8	R	17	I	0	R	0	R
4	M.MAYO #3	0	R	0	R	11	R	20	I	0	R	0	R
5	M.MAYO #4	0	R	0	R	10	R	12	R	0	R	0	R
6	M.MAYO #5	0	R	0	R	11	R	14	R	0	R	0	R
7	M.GUANU #2	0	R	0	R	15	R	18	I	0	R	0	R
8	M.GUANU #3	0	R	0	R	4	R	9	R	0	R	0	R
9	M.GUANU #4	0	R	0	R	8	R	11	R	0	R	0	R
10	M.GUANU #5	0	R	0	R	14	R	16	I	0	R	0	R

Nota. S; sensible, R: resistente, I: intermedicamente resistente.

Tabla 15*Porcentaje de susceptibilidad de Listeria spp. frente a los fármacos en estudio*

Ampicilina 5 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	-	100
Ampicilina 10 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	-	100
Ciprofloxacina 5 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	-	100
Ciprofloxacina 10 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	50	50
Tetraciclina 5 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	-	100
Tetraciclina 10 µg			
PUNTO DE CORTE	Sensible	Intermediamente R.	Resistente
CLSI	-	-	100

Los resultados obtenidos en este estudio muestran un perfil de resistencia alarmante, donde el 100 % de las cepas de *Listeria spp.* fueron clasificadas como resistentes a ampicilina y tetraciclina, sin excepción, en ambas concentraciones evaluadas (5 µg y 10 µg). Este hallazgo coincide plenamente con lo reportado por Reyes y Campoverde (2021), quienes determinaron que las cepas aisladas de leche cruda en zonas rurales del Ecuador también presentaron resistencia completa a tetraciclina y beta-lactámicos, lo que evidencia un patrón epidemiológico sostenido de resistencia bacteriana en productos lácteos sin pasteurizar.

Asimismo, Fernández et al. (2023) analizaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en mercados rurales de la Sierra ecuatoriana, concluyendo que la mayoría de cepas aisladas mostraban resistencia a antibióticos comúnmente usados, atribuyendo estos resultados al uso empírico y prolongado de antimicrobianos en animales de producción, sin controles adecuados ni prescripción veterinaria.

Por otro lado, aunque en el presente estudio la ciprofloxacina no logró clasificar ninguna cepa como “sensible”, sí se observó una respuesta parcial a 10 µg, donde el 50 % de las cepas se categorizaron como intermedias, indicando un posible efecto

dosis-dependiente. Este comportamiento ha sido documentado por Torres et al. (2021), quienes destacaron la mayor efectividad de ciprofloxacina frente a *Listeria spp.* aisladas de leche bovina cruda, con zonas de inhibición superiores a 14 mm en concentraciones elevadas, por lo que sugieren su uso como alternativa viable frente a cepas multirresistentes.

A su vez, Gómez et al. (2023) concluyeron que la ciprofloxacina sigue siendo uno de los pocos antibióticos con efectividad moderada frente a *Listeria monocytogenes* en productos lácteos artesanales, aunque advierten que su uso debe restringirse para evitar el desarrollo de resistencia secundaria, debido a su importancia crítica en salud humana.

En conjunto, los resultados de esta investigación se alinean con la literatura nacional reciente y confirman que el uso indiscriminado de antimicrobianos en el sector pecuario rural ha contribuido a una resistencia bacteriana elevada, especialmente a fármacos de uso común como tetraciclina y ampicilina. Por tanto, se hace necesario fortalecer los sistemas de vigilancia microbiológica y promover el uso racional de antibióticos en la producción animal.

4.5. COMPROBACION DE HIPOTESIS

El análisis de varianza (ANOVA) bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) evidenció diferencias altamente significativas en el efecto de los antibióticos ($F = 139,61$; $p < 0,0001$), lo que permitió rechazar la hipótesis nula (H_0) y aceptar la hipótesis alternativa (H_1): existe una diferencia significativa en el perfil de resistencia de *Listeria spp.* frente a ampicilina, ciprofloxacina y tetraciclina en muestras de leche cruda.

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p = 0,3746$) confirmó la validez del modelo estadístico, mientras que la prueba de Levene reveló heterogeneidad de varianzas ($p < 0,0001$), atribuida a tratamientos con resistencia total. Aun así, el tamaño muestral homogéneo permitió mantener la robustez del análisis.

Los tratamientos con ciprofloxacina mostraron mayor efectividad, mientras que la ampicilina y la tetraciclina presentaron menor o nula acción antimicrobiana. Este hallazgo concuerda con estudios recientes que alertan sobre el incremento de cepas multirresistentes en productos lácteos no pasteurizados (Gómez et al., 2023; Jung et al., 2024), subrayando la necesidad urgente de vigilancia microbiológica y uso racional de antibióticos en el sector pecuario.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El estudio determinó que dos de cada tres muestras analizadas (66,67 %) contenían *Listeria spp.*, lo que confirma una elevada carga microbiológica en la leche cruda expandida en los mercados locales. Este hallazgo evidencia que, en el contexto de la provincia de Bolívar, la comercialización sin pasteurización y bajo deficientes condiciones higiénicas constituye un riesgo real para la salud del consumidor, pudiendo generar brotes de listeriosis.
- Se comprobó que todas las cepas analizadas fueron resistentes a ampicilina y tetraciclina, independientemente de la concentración utilizada, lo que indica que estos antibióticos han perdido efectividad frente a *Listeria spp.* en este entorno productivo. Este patrón sugiere un posible abuso o uso inadecuado de estos fármacos en la ganadería local, lo que agrava la problemática de resistencia antimicrobiana.
- El ensayo de susceptibilidad mostró que la ciprofloxacina generó halos de inhibición amplios y consistentes, a diferencia del resto de antibióticos probados. Este resultado señala a la ciprofloxacina como la mejor opción para el tratamiento de infecciones por *Listeria spp.* en esta zona; sin embargo, su uso debe ser controlado para evitar que también pierda efectividad.
- El aislamiento de cepas resistentes en un producto de consumo directo demuestra que persisten fallas graves en las prácticas de ordeño, almacenamiento y transporte, especialmente en zonas rurales. Esta situación pone de relieve la necesidad urgente de implementar estrategias de vigilancia y control más estrictas para garantizar la inocuidad de la leche que llega al consumidor.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda desarrollar programas de educación sanitaria sobre buenas prácticas de ordeño, manejo higiénico de la leche y uso racional de antibióticos, dirigidos a productores y comerciantes del cantón Guaranda.
- Las autoridades de salud y agrocalidad deberían establecer planes de muestreo periódicos que incluyan análisis microbiológicos en mercados y centros de acopio para detectar oportunamente la presencia de *Listeria spp.* y otros patógenos.
- Es necesario promover el uso prudente de antibióticos en la medicina veterinaria, evitando la automedicación en ganado lechero y fomentando la prescripción responsable, en concordancia con las políticas de una sola salud (One Health).
- Se recomienda impulsar campañas educativas dirigidas a la población para concienciar sobre los riesgos del consumo de leche cruda y la importancia de la pasteurización como una medida preventiva esencial para reducir las enfermedades transmitidas por alimentos.
- Se sugiere continuar esta línea de investigación en otras zonas de la provincia y con otros productos lácteos (queso fresco, yogur artesanal), así como incorporar métodos moleculares para identificar genes de resistencia específicos en *Listeria spp.*
- Se recomienda notificar de manera oficial a Agrocalidad sobre la detección de *Listeria spp.* resistente en las muestras de leche cruda analizadas y comercializadas en los mercados del cantón Guaranda. Esta notificación permitiría que la institución active protocolos de control y vigilancia en la zona, realice inspecciones sanitarias periódicas, y promueva acciones correctivas con los productores y comerciantes para reducir el riesgo de transmisión de esta bacteria a la población consumidora.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, F., Zhu, D., & Sun, J. (2021). Environmental fate of tetracycline antibiotics: degradation pathway mechanisms, challenges, and perspectives. *Environmental Sciences Europe*, 33(64), 111. doi:<https://doi.org/10.1186/s12302-021-00505-y>
- Arendrup, M., Kahlmeter, G., & Guinea, J. (2021). How to: perform antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes following the new reference EUCAST method E.Def 11.0, exemplified by *Trichophyton*. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(1), 55-60. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.08.042>.
- Baquero, F., Lanza, V., & Duval, M. (2020). Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 570-579. doi:<https://doi.org/10.1111/mmi.14454>
- Borena, B., Dilgasa, L., & Zewdu, E. (2022). *Listeria* Species Occurrence and Associated Risk Factors and Antibiogram of *Listeria Monocytogenes* in Milk and Milk Products in Ambo, Holeta, and Bako Towns, Oromia Regional State, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 331. doi:<https://doi.org/10.1155/2022/5643478>
- Brown, P., Hernandez, K., & Parsons, C. (2023). Tetracycline resistance in *Listeria monocytogenes* and *L. innocua* from wild black bears (*Ursus americanus*) in the United States is mediated by novel transposable elements. *Environmental Microbiology*, 22. doi:DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.01205-23>
- Bucur, F., Grigore-Gurgu, L., & Crauwels, L. (2019). Resistance of *Listeria monocytogenes* to stress conditions encountered in food and food processing environments. *Front. Microbiol.*, 88. doi:doi: [10.3389/fmicb.2018.02700](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02700)

- Carvalho, C., & Reis, I. (2022). Degradation of ampicillin by combined process: Adsorption and Fenton reaction. *Environmental Technology & Innovation*, 22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102365>
- CLSI. (2020). *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 34th Edition. Recuperado el 4 de Agosto de 2024, de <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Conley, Z., Bodine, T., & Chou, A. (2019). Wicked: The untold story of ciprofloxacin. *Plos One*, 11. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006805>
- Dasriya, V., Ranveer, S., & Dhillon, H. (2022). Listeria Monocytogenes: Microbiology, Sites of Infection and Treatment. *Diagnosis of Listeria monocytogenes in Foods*, 311-346.
- Davis, M., Ricke, S., & Donaldson, J. (2019). Establishment of Listeria monocytogenes in the Gastrointestinal Tract. *Microorganisms*, 7(3), 75. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms7030075>
- Doghri, I., Cherifi, T., & Goetz, C. (2021). Counteracting bacterial motility: a promising strategy to narrow Listeria monocytogenes biofilm in food processing industry. *Front. Microbiol*, 66. doi:[doi:10.3389/fmicb.2021.673484](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.673484)
- Duze, S., Marimani, M., & Patel, M. (2021). Tolerance of Listeria monocytogenes to biocides used in food processing environments. *Food Microbiol*. doi:[doi:10.1016/j.fm.2021.103758](https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103758)
- Fagerlund, A., Langsrud, S., & Møretrø, T. (2021). Microbial diversity and ecology of biofilms in food industry environments associated with Listeria monocytogenes persistence. *Curr. Opin. Food Sci*, 171-178. doi:[doi:10.1016/j.cofs.2020.10.015](https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.015)

- Fan, Y., Qiao, J., & Lu, Z. (2020). Influence of different factors on biofilm formation of *Listeria monocytogenes* and the regulation of *cheY* gene. *Food Res. Inter*, 94. doi:doi: 10.1016/j.foodres.2020.109405
- Fernández, L., Cevallos, M., & Mena, J. (2023). Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en productos lácteos artesanales en mercados rurales de la Sierra ecuatoriana. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 22(1), 45-52.
- Fondo, C. (2020). History and declina of antibiotics: phagotherapy as an alternative. *Traballo fin de grao*. Universidad da Coruña, Coruña.
- Gawrońska, M., Kowalik, M., & Makowski, M. (2022). Recent advances in medicinal chemistry of ampicillin: Derivatives, metal complexes, and sensing approaches. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116691. doi:https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116691.
- Gómez, D., Ordóñez, K., & Aguilar, P. (2023). Riesgo microbiológico en leche cruda: evaluación de puntos críticos en sistemas artesanales. 8(2), 89-96.
- Gray, J., Chandry, P., & Kaur, M. (2018). Novel biocontrol methods for *Listeria monocytogenes* biofilms in food production facilities. *Front. Microbiol.*, 605. doi:doi: 10.3389/fmicb.2018.00605.
- Gray, J., Chandry, P., & Kaur, M. (2019). Novel Biocontrol Methods for *Listeria monocytogenes* Biofilms in Food Production Facilities. *Sec. Food Microbiology*, 9, 11. doi:https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00605
- Guerin, A., Bridier, A., & Grandois, L. (2021). Exposure to Quaternary Ammonium Compounds Selects Resistance to Ciprofloxacin in *Listeria monocytogenes*. *Pathogens*, 10(2), 220. doi:https://doi.org/10.3390/pathogens10020220
- Hanes, R., & Huang, Z. (2022). Investigation of Antimicrobial Resistance Genes in *Listeria monocytogenes* from 2010 through to 2021. *IJERPH*, 19(9), 5506. doi:https://doi.org/10.3390/ijerph19095506

- Haubert, L., Zehetmeyr, M., & da Silva, W. (2019). Resistance to benzalkonium chloride and cadmium chloride in *Listeria monocytogenes* isolates from food and food-processing environments in southern Brazil. *Can. J. Microbiol.*, 429–435.
- Ioannis-Angelos, I., Thamnopoulos, I., & Georgios, F. (2019). Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. *Food Microbiology*, 168-176. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.021>
- Jung, Y., Qian, C., & Barnett, C. (2024). Developing an Agent-Based Model that Predicts *Listeria* spp. Transmission to Assess *Listeria* Control Strategies in Retail Stores. *Journal of Food Protection*, 66+. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100337>.
- Kayode, A., & Semerjian, L. (2021). Occurrence of Multidrug-Resistant *Listeria monocytogenes* in Environmental Waters: A Menace of Environmental and Public Health Concern. *Front. Environ. Sci*, 9, 24. doi:<https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.737435>
- Kim, s., Headinges, j., & Keller, e. (2019). Genetic diversity and virulence profiles of *Listeria monocytogenes* recovered from bulk tank milk, milk filters, and milking equipment from dairies in the United States (2002 to 2014). *Plos One*, 22. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197053>
- Kozak, S., & Brown, S. (2019). Control of *Listeria monocytogenes* in whole milk using antimicrobials applied individually and in combination. *Journal of Dairy Science*, 1889-1900. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13648>
- Lan, Z., Xiao, M., & Zhan, Y. (2020). Detection of *Listeria monocytogenes* in a patient with meningoencephalitis using next-generation sequencing: a case report. *BMC Infectious Diseases*, 20(721), 13. doi:<https://doi.org/10.1186/s12879-020-05447-z>
- Lecuit, M. (2020). *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cellular Microbiology*, 22(4), 13186. doi:<https://doi.org/10.1111/cmi.13186>

- Lee, S., Pereira, L., & Toledo, J. (2019). *Listeria monocytogenes* in Milk: Occurrence and Recent Advances in Methods for Inactivation. *Beverages*, 5(1), 50. doi:<https://doi.org/10.3390/beverages5010014>
- Lepe, J., & Rodríguez-Villodres, A. (2019). In vitro study of synergy of ampicillin with ceftriaxone against *Listeria monocytogenes*. *Rev Esp Quimioter.*, 465–468.
- Luellmann, H., Mohr, K., & Hein, L. (2018). *Color atlas of pharmacology*. Kiel, Germany.
- Martini-Johnson, L. (2021). *Applied Pharmacology for veterinary technicians*. Schnecksville, Pennsylvania, USA.
- Matereke, L., & Ifeanyi, A. (2020). *Listeria monocytogenes* Virulence, Antimicrobial Resistance and Environmental Persistence: A Review. *Pathogens*, 9(7), 528. doi:<https://doi.org/10.3390/pathogens9070528>
- Monaghan, K., & Labato, L. (2021). Ampicillin pharmacokinetics in azotemic and healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34-36.
- Moreno, F., Tene, M., & Rojas, V. (2022). Contaminación microbiológica en leche cruda destinada al consumo humano directo. *Revista Científica Agropecuaria*, 11(3), 34-41.
- Muchaamba, F., & Eshwar, A. (2021). Different Shades of *Listeria monocytogenes*: Strain, Serotype, and Lineage-Based Variability in Virulence and Stress Tolerance Profiles. *Sec. Food Microbiology*, 12, 33. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.792162>
- Muthulakshmi, K., & Uma, C. (2019). OCCURRENCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN MILK AND MILK PRODUCTS. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 41.
- Noll, M., Kleta, S., & Dahouk, S. (2019). Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and

- human samples in Germany. *Journal of Infection and Public Health*, 572-577. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.12.007>.
- Osek, J., Lachtara, B., & Wieczorek. (2022). *Listeria monocytogenes* – How This Pathogen Survives in Food-Production Environments? *Sec. Food Microbiology*, 13, 666. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462>
- Owusu, J., Wuni, A., & Akabanda, F. (2019). Prevalence and Characteristics of *Listeria monocytogenes* Isolates in Raw Milk, Heated Milk and Nunu, a Spontaneously Fermented Milk Beverage, in Ghana. *Microbiological Safety of Beverages*, 4(2), 40. doi: <https://doi.org/10.3390/beverages4020040>
- Panera-Martínez, S., & Rodríguez-Melcón, C. (2022). Prevalence, quantification and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in poultry preparations. *Food Control*, 13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108608>.
- Papich, M. (2018). *Saunders Handbook of Veterinary Drugs: Small and Large Animal* (Cuarta ed.). NY: Elsevier Health Sciences.
- Pollard, A., & Morra, M. (2020). Fate of tetracycline antibiotics in dairy manure-amended soils. *Environmental Reviews*, 33. doi:<https://doi.org/10.1139/er-2017-0041>
- Radoshevich, L., & Cossart, P. (2018). *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*(16), 32–46. doi:<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.126>
- Rehman, A., Patrick, W., & Lamont, L. (2019). Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *Free Journal of microbiology*, 68(1), 11. doi:<https://doi.org/10.1099/jmm.0.000873>
- Reyes, A., & Campoverde, L. (2021). Evaluación microbiológica de leche cruda destinada a consumo humano en comunidades rurales de Ecuador. *Revista Andina de Medicina Veterinaria*, 5(1), 27-35.

- Reyna, S., & Arteaga, J. (2022). Riesgos de contaminación química en leche y sus derivados. *La Granja, Revista de Ciencias de la Vida*.
- Ricchi, M., Scaltriti, G., & Cammi, C. (2019). hort communication: Persistent contamination by *Listeria monocytogenes* of bovine raw milk investigated by whole-genome sequencing. *Journal of Dairy Science*, *107*(2), 66. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16267>
- Rocha, R., Sousa, J., & Cerqueira, L. (2019). Development and application of Peptide Nucleic Acid Fluorescence in situ Hybridization for the specific detection of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.009>.
- Rodriguez, C., Taminiau, ,. B., & García-Fuentes, E. (2021). *Listeria monocytogenes* dissemination in farming and primary production: Sources, shedding and control measures. *Food Control*, *120*, 107540. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107540>.
- Rodríguez-Villodres, A., & Lepe, J. (2020). Effect of subinhibitory concentrations of ampicillin on *Listeria monocytogenes*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 72-75. doi:<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2019.03.010>.
- Rusu, A. (2021). The Development of Third-Generation Tetracycline Antibiotics and New Perspectives. *Pharmaceutics*, *12*(13), 2085. doi:<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122085>
- Ryser, E. (2021). Chapter 11 - *Listeria*. *Foodborne Infections and Intoxications (Fifth Edition)*, 201-220. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819519-2.00028-1>
- Schlech, W. (2019). Epidemiology and Clinical Manifestations of *Listeria monocytogenes* Infection. *Microbiology spectrum*, 1128. doi:<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0014-2018>

- Schöbitz, R., Marín, M., Horzella, M., & Carrasco, E. (2018). PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN LECHE CRUDA Y QUESOS FRESCOS ARTESANALES. *Revista UACH, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos*.
- Shamloo, E., & Hosseini, H. (2019). Importance of *Listeria monocytogenes* in food safety: a review of its prevalence, detection, and antibiotic resistance. *Iran J Vet Res*, 241–254.
- Shimajima, Y., Kanai, Y., & Moriyama, T. (2024). Analysis of Alternative Methods of Environmental Monitoring for *Listeria* in Food Production Facilities. *Journal of Food Protection*, 1232. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100214>
- Torresi, A., Ruolo, A., & Acieri, V. (2020). A Real-Time PCR Screening Assay for Rapid Detection of *Listeria Monocytogenes* Outbreak Strains. *Foods*, 9(1), 19. doi:<https://doi.org/10.3390/foods9010067>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2022). *Microbiología* (12° ed.). Pearson Educación.
- Vanrompay, d., Nguyen, D., & Cutler, S. (2019). Antimicrobial Resistance in Chlamydiales, Rickettsia, Coxiella, and Other Intracellular Pathogens. *Microbiology spectrum*, 11. doi:<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0003-2017>
- Villalobos, L., & Martínez, R. (2019). Susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria* spp. aisladas de alimentos durante el periodo 2003-2004. Cumaná, Venezuela. *Scielo*.
- Whalen, K., & Feild, C. (2019). *Lippincott®Illustrated Reviews:Pharmacology*. Gainesville, Florida , USA.

ANEXOS

Anexo 1 Lugar del experimento.



Mercado municipal “10 de noviembre”



Mercado mayorista “Bellavista”



Mercado Guanujo



Laboratorio de biología molecular

Anexo 2 Base de datos.

	Muestra	Agar Listeria	Tinción Gram	AGAR SANGRE	Catalasa	Ampicilina (mm)		Ciprofloxacina (mm)		Tetraciclina (mm)	
						5µg	10µg	5µg	10µg	5µg	10µg
1	M.10 #1	Ausencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	M.10 #2	Ausencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	M.10 #3	Presencia	Bacilo Gram +	Gamma hemólisis	+	0	0	11	16	0	0
4	M.10 #4	Presencia	Bacilo Gram +	Beta hemólisis	+	0	0	10	13	0	0
5	M.10 #5	Presencia	Bacilo Gram +	Alfa hemólisis	+	0	0	8	17	0	0
6	M.MAYO #1	Ausencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	M.MAYO #2	Ausencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	M.MAYO #3	Presencia	Bacilo Gram +	Beta hemólisis	+	0	0	11	20	0	0
9	M.MAYO #4	Presencia	Bacilo Gram +	Gamma hemólisis	+	0	0	10	12	0	0
10	M.MAYO #5	Presencia	Bacilo Gram +	Beta hemólisis	+	0	0	11	14	0	0
11	M.GUANU #1	Ausencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	M.GUANU #2	Presencia	Bacilo Gram +	Beta hemólisis	+	0	0	15	18	0	0
13	M.GUANU #3	Presencia	Bacilo Gram +	Gamma hemólisis	+	0	0	4	9	0	0
14	M.GUANU #4	Presencia	Bacilo Gram +	Alfa hemólisis	+	0	0	8	11	0	0
15	M.GUANU #5	Presencia	Bacilo Gram +	Alfa hemólisis	+	0	0	14	16	0	0

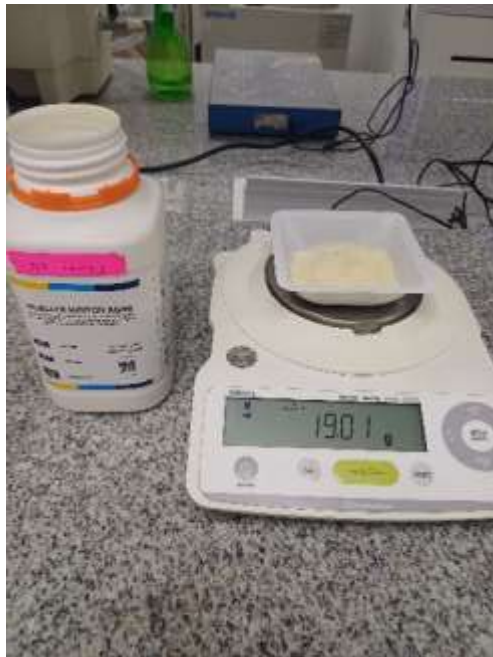
Anexo 3 Fotografías.



Fotografía 1. Recolección de leche del mercado



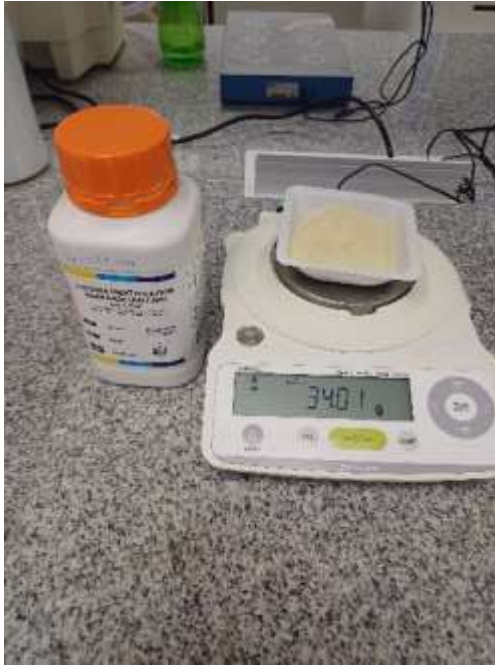
Fotografía 2. Etiquetación de muestras



Fotografía 3. Elaboración de Agar Müller Hinton



Fotografía 4. Elaboración de agar sangre



Fotografía 5. Elaboración de Agar Palcam (Listeria)



Fotografía 6. Elaboración Agua Peptonada



Fotografía 7. Autoclavar medios con cajas petri



Fotografía 8. Dispensación de medios en cajas petri



Fotografía 9. Sangre de cordero desfibrilada



Fotografía 10. Dispensación de sangre de cordero



Fotografía 11. Escala macfarland



Fotografía 12. Elaboración de antibióticos en relación 500ml/500mg



Fotografía 13. Siembra directa



Fotografía 14. Encubar por 24h en autoclave



Fotografía 15. Positivos *Listeria spp.*



Fotografía 16. Elaboración de concentraciones del ETEST



Fotografía 17. Positivo *Listeria Spp.* en muestra de leche



Fotografía 18. Elaboración del ETEST



Fotografía 19. Prueba de catalasa



Fotografía 20. Prueba de tinción gram

Anexo 4 Glosario de términos.

Antibiótico: Sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintéticamente, que puede inhibir el crecimiento o destruir microorganismos, principalmente bacterias.

Antimicrobiano: Sustancia que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos.

Antimicrobiano de amplio espectro: Antimicrobiano efectivo contra una amplia variedad de bacterias, tanto grampositivas como gramnegativas.

Bactericida: Sustancia que mata bacterias.

Bacteriostático: Sustancia que inhibe el crecimiento y la reproducción de bacterias sin matarlas directamente.

Betalactámico: Clase de antibióticos que incluye penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos, caracterizados por contener un anillo betalactámico en su estructura química.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): La menor concentración de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo.

Cultivo bacteriano: Técnica de laboratorio utilizada para multiplicar bacterias en condiciones controladas, generalmente en un medio de cultivo adecuado.

Difusión en disco (método de Kirby-Bauer): Técnica utilizada para determinar la susceptibilidad de una bacteria a varios antimicrobianos mediante la difusión de estos desde discos de papel impregnados sobre una superficie de agar inoculada con la bacteria en cuestión.

Eflujo: Proceso mediante el cual las células bacterianas expulsan antimicrobianos y otras sustancias tóxicas a través de la membrana celular, contribuyendo a la resistencia antimicrobiana.

Etest: Técnica que utiliza tiras impregnadas con un gradiente de antimicrobiano para determinar la CMI de un microorganismo frente a dicho antimicrobiano.

Genoma: Conjunto completo del material genético de un organismo.

Hibridación In Situ Fluorescente (FISH): Técnica que utiliza sondas de ADN marcadas con fluorocromos para detectar y localizar secuencias específicas de ADN en células y tejidos.

Mutación: Cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN que puede resultar en una alteración de la función genética, incluida la resistencia a los antimicrobianos.

Microbiota: Conjunto de microorganismos que habitan en un ambiente particular, como el tracto gastrointestinal, la piel o el medio ambiente.

Nueva Generación de Secuenciación (NGS): Tecnología avanzada de secuenciación de ADN que permite la secuenciación rápida y precisa de grandes cantidades de ADN.

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa): Técnica de biología molecular utilizada para amplificar secuencias específicas de ADN, permitiendo la detección de genes de resistencia y otros marcadores genéticos.

Perfil de resistencia antimicrobiana: Patrón de susceptibilidad o resistencia de una bacteria a varios antimicrobianos, determinado mediante pruebas de sensibilidad.

Resistencia antimicrobiana: Capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antimicrobiano que anteriormente era eficaz en el tratamiento de infecciones causadas por dicho microorganismo.

Secuenciación: Proceso de determinar el orden de los nucleótidos en una molécula de ADN o ARN.

Susceptibilidad antimicrobiana: Sensibilidad de una bacteria a la acción de un antimicrobiano, generalmente determinada mediante pruebas de laboratorio.

Tetraciclina: Clase de antibióticos de amplio espectro utilizados para tratar diversas infecciones bacterianas.

Vigilancia epidemiológica: Monitoreo continuo y sistemático de la aparición, distribución y propagación de enfermedades infecciosas y sus factores de riesgo en poblaciones específicas.