



**Revisión documental: Aplicación de Bacteriófagos como alternativa para el control de *Listeria monocytogenes* causante de cuadros de mastitis subclínica en Bovinos de Colombia**

**Michelle Nataly Pérez Vergara  
Kelly Alejandra Ramírez Ladino**

**Asesor**

**MSc Johanna Marcela Moscoso G.  
Docente Facultad de Ciencias de la Salud**

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca**

**Facultad de Ciencias de la Salud**

**Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico**

**Bogotá, Junio 2019**

## Tabla de contenido

	<b>Pág</b>
Resumen	9
Abstract	10
Introducción	11
Objetivos	13
Objetivo general	13
Objetivos específicos	13
1. Antecedentes	14
2. Marco teórico	21
2.1 Generalidades sobre mastitis	21
2.1.1 Fisiopatología	25
2.1.1.1 Invasión	26
2.1.1.2 Infección	27
2.1.1.3 Inflamación de las glándulas mamarias	27
2.1.2 Mecanismos de transmisión	28
2.1.2.1 Contacto directo	28
2.1.2.2 Ambiental	29
2.1.3 Manifestaciones clínicas	29
2.1.4 Presentación	30
2.1.4.1 Mastitis aguda	30
2.1.4.2 Mastitis crónica	30
2.2 Generalidades sobre <i>Listeria monocytogenes</i>	32
2.2.1 Temperatura	32

2.2.2 pH	33
2.2.3 Concentración de NaCl	33
2.2.4 Identificación	34
2.2.5 Serovariedades	34
2.2.6 Factores de virulencia	34
2.2.7 Adhesión e invasión	35
2.2.8 Vacuolas	35
2.2.9 Desarrollo intracelular	35
2.2.10 Liberación	35
2.2.11 Transferencia de célula a célula	35
2.2.12 Antimicrobianos	35
2.2.13 Infección en bovinos	36
2.2.14 Infección en humanos	38
2.2.15 Transmisión de <i>Listeria monocytogenes</i>	39
2.3 Generalidades sobre Bacteriófagos	40
2.3.1 Clasificación	44
2.3.2 Aplicación	49
2.3.3 Aplicación contra <i>Listeria monocytogenes</i>	50
2.4 Situación en Colombia	56
2.4.1 Salud pública	56
3. Diseño metodológico	58
3.1 Tipo de investigación	58
3.2 Universo	58
3.3 Población	59
3.4 Muestra	59

3.5 Criterios de inclusión	60
3.6 Criterios de exclusión	60
4. Resultados	61
5. Discusión	77
6. Conclusiones	81
7. Recomendaciones	83
Referencias bibliográficas	84

## Índice de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Principales microorganismos asociados a cuadros de mastitis en bovinos. Ubicación y tipo de mastitis según clasificación etiológica.	23
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los bacteriófagos según su morfología, tipo de material genético y ubicación.	45
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de los bacteriófagos presentes en bacterias de importancia clínica.	47
<b>Tabla 4.</b> Caracterización genética de <i>Listeria monocytogenes</i> incluyendo su linaje, serotipo y especie afectada.	35
<b>Tabla 5.</b> Clasificación de bacteriófagos usados para <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos y serotipo diana.	51
<b>Tabla 6.</b> Primera filtración.	59
<b>Tabla 7.</b> Segunda filtración.	59
<b>Tabla 8.</b> Clasificación de los artículos seleccionados de acuerdo al tema.	61
<b>Tabla 9.</b> Clasificación de los artículos seleccionados según el tipo de documento.	64
<b>Tabla 10.</b> Artículos realizados en Colombia referentes a temas de estudio relacionados con esta investigación.	66
<b>Tabla 11.</b> Artículos referenciados que mencionan diferentes tipos de mastitis.	67

<b>Tabla 12.</b> . Microorganismos que comúnmente causan cuadros de mastitis.	69
<b>Tabla 13.</b> Especies de <i>Listeria spp.</i> Estudiadas en los artículos recopilados para la realización de esta investigación.	71
<b>Tabla 14.</b> . Bacteriófagos más usados contra <i>Listeria spp.</i> en los artículos consultados para la elaboración del presente documento.	72
<b>Tabla 15.</b> Países que han realizado investigaciones acerca de bacteriófagos contra <i>Listeria monocytogenes.</i>	77
<b>Tabla 16.</b> Bacteriófagos más usados contra <i>Listeria monocytogenes</i> , clasificados por su tipo de acción, morfología y material genético.	78

## Índice de Figuras

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Mastitis por bacterias que causan daño por la producción de toxinas, que provocan hinchazón y muerte de las células productoras de leche.	21
<b>Figura 2.</b> Infección y respuesta inmune desplegada al interior de la ubre.	27
<b>Figura 3.</b> Lesiones en ubre por mastitis gangrenosa.	31
<b>Figura 4.</b> Mastitis clínica de curso crónico.	32
<b>Figura 5.</b> <i>Listeria monocytogenes</i> Gram y cultivo en agar sangre.	33
<b>Figura 6.</b> Prueba de movilidad a 25°C y prueba de Camp Positivas.	34
<b>Figura 7.</b> Factores que influyen en la supervivencia y transmisión de <i>Listeria monocytogenes</i> en el medio ambiente y la cadena alimentaria.	40
<b>Figura 8.</b> Representación de los ciclos de vida del bacteriófago.	44
<b>Figura 9.</b> Clasificación de los bacteriófagos según su morfología, tipo de material genético y hospedero.	46
<b>Figura 10.</b> Caracterización morfológica de los bacteriófagos LMP1 y LMP7.	53
<b>Figura 11.</b> Caracterización morfológica de los bacteriófagos P35 (A) y P40 (B), mediante microscopía electrónica.	54
<b>Figura 12.</b> Caracterización morfológica del bacteriófago A511.	55
<b>Figura 13.</b> Clasificación de los artículos seleccionados de acuerdo al tema.	62
<b>Figura 14.</b> Clasificación de los artículos seleccionados según el tipo de documento.	65
<b>Figura 15.</b> Artículos realizados en Colombia referentes a temas de estudio relacionados con esta investigación.	67
<b>Figura 16.</b> Artículos referenciados que mencionan diferentes tipos de mastitis.	68
<b>Figura 17.</b> Microorganismos que comúnmente causan cuadros de mastitis.	70
<b>Figura 18.</b> Especies de <i>Listeria spp.</i> estudiadas en los artículos recopilados para la realización de esta investigación.	71
<b>Figura 19.</b> Bacteriófagos más usados contra <i>Listeria spp.</i> en los artículos consultados para la elaboración del presente documento.	73

## Resumen

La utilización de métodos convencionales como tratamiento para combatir enfermedades infecciosas se ha visto afectado debido a la resistencia adquirida por las bacterias a los antimicrobianos, esto se considera un punto de alarma ya que estos microorganismos pueden provocar interferencias en los tratamientos instaurados.

El microorganismo *Listeria monocytogenes* causante de mastitis de tipo subclínico en bovinos, se establece en la materia prima de origen cárnico o lácteo que llega contaminada hasta la última etapa de producción y en muchos casos estos productos se comercializan sin las medidas sanitarias establecidas por la ley, convirtiéndose en un problema de salud pública ya que *Listeria monocytogenes* afecta a animales y a seres humanos (zoonosis) aquejando principalmente a recién nacidos, niños, adultos mayores en edad avanzada, pacientes inmunocomprometidos, mujeres en estado de gestación y fetos en tercer trimestre de embarazo.

La presente revisión bibliográfica realizada mediante la consulta de textos específicos en bases de datos indexadas, libros y otros trabajos investigativos tiene como finalidad establecer y dar a conocer la situación frente a la aplicación de bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes* en la actualidad, generando un antecedente a la comunidad científica para el desarrollo de la aplicación de la terapia fágica a futuro.

**Palabras clave:** bacteriófagos, mastitis subclínica, bovinos, *Listeria monocytogenes*, tratamiento, alternativa.



## **Abstract**

The use of conventional methods as a treatment to fight infectious diseases has been affected due to the resistance acquired by bacteria to antimicrobials, this is considered a point of alarm since these microorganisms can cause interference in the treatments established.

The microorganism *Listeria monocytogenes* that causes subclinical mastitis in bovines, is established in the raw material of meat or dairy origin that arrives contaminated until the last stage of production and in many cases these products are marketed without the sanitary measures established by law, becoming a public health problem since *Listeria monocytogenes* affects animals and humans (zoonoses) mainly afflicting newborns, children, older adults, immunocompromised patients, women in pregnancy and fetuses in the third trimester of pregnancy.

The present bibliographical revision realized by means of the consultation of specific texts in indexed databases, books and other investigative works has like purpose to establish and to present the situation against the application of bacteriophages against *Listeria monocytogenes* at present, generating an antecedent to the scientific community for the development of the application of phage therapy to the future.

**Keywords:** bacteriophages, subclinical mastitis, bovines, *Listeria monocytogenes*, treatment, alternative.

## Introducción

La mastitis es la enfermedad que más pérdidas genera en la industria lechera bovina en Colombia y el mundo. Esto no se debe únicamente a la enfermedad o manifestaciones clínicas por sí mismas sino a la articulación de las medidas para prevenir su aparición. Estas medidas a pesar de que se implementan en la industria con riguroso control suelen presentar falencias limitadas por diversos factores como condiciones ambientales, condiciones sanitarias y factores de riesgo en el animal, por lo que se han establecido protocolos que contribuyan a la prevención, detección temprana de la enfermedad, tratamiento y recuperación.

Durante estas etapas pueden presentarse mastitis de tipo subclínico, esto hace referencia a la ausencia de sintomatología o signos de alerta en la producción de leche. Esta situación pasa desapercibida hasta que la glándula mamaria del animal se ve deteriorada y la producción de leche se reduce significativamente o se detiene en su totalidad acarreando consecuencias mucho más graves que las que puedan presentarse con la mastitis clínica, en donde al ser evidente la infección se aplica tratamiento inmediato.

Muchos de estos casos son ocasionados por bacterias ambientales que están presentes en casi todas las zonas por donde transita el animal y es casi imposible controlar su transmisión. *Listeria monocytogenes* hace parte de este grupo de microorganismos, es un bacilo Gram positivo que se encuentra en el suelo, afecta a bovinos y seres humanos (zoonosis), posee características específicas que le permiten sobrevivir a tratamientos y condiciones aplicadas para su eliminación, por lo que la necesidad de utilizar tratamientos alternativos se ha elevado en los últimos años debido a la reincidencia de la enfermedad, los tratamientos ineficaces y la resistencia antimicrobiana que ha incrementado a pasos agigantados.

La fagoterapia o terapia fagica consiste en la utilización de virus capaces de infectar bacterias de importancia clínica sin afectar al hospedero, estos virus se denominan bacteriofagos y su aplicación promete la eliminación del patógeno sin generar efectos sobre el animal infectado y sin generar resistencia en el microorganismo. Estos virus son versátiles y muy específicos por lo

que su aplicación reduce el tiempo de tratamiento y recuperación significativamente, generando menor número de pérdidas para el sector de producción lechero.

El objetivo general de esta revisión documental se centra en realizar una revisión bibliográfica sobre el uso de bacteriófagos como alternativa para el control y detección de *Listeria monocytogenes* en Colombia causante de mastitis subclínica en bovinos.

Los objetivos específicos de este documento son recopilar información mediante diversas herramientas de literatura y tecnología acerca del tema propuesto en el documento, dar a conocer los bacteriófagos utilizados para el control y aplicación en de *Listeria monocytogenes* y analizar los bacteriófagos que presenten eficacia para determinar el alcance de su aplicación.

En Colombia, no existen estudios sobre la aplicación de bacteriófagos encaminados a la eliminación de *Listeria monocytogenes*, sólo existen estudios referentes a *Listeria monocytogenes* como agente contaminante en alimentos e industrias alimentarias para su control y prevención, por tanto, esta revisión documental aporta información relevante a diversos entes como el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Instituto Nacional de Salud (INS), entre otros, tomando como referencia este documento para futuras investigaciones en el sector ganadero, implementando nuevas técnicas in vivo con bacteriófagos para el control de esta bacteria en cuadros de mastitis subclínica.

El presente documento se centra en la búsqueda de información, que permita demostrar la utilidad de la fagoterapia, siendo un precedente para conocer los bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes* que se utilizan actualmente y que se presentan en este compendio, pudiendo ser implementados a futuro en el área científica e investigativa.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Realizar una revisión bibliográfica sobre el uso de bacteriófagos como alternativa para el control y detección de *Listeria monocytogenes* en Colombia causante de mastitis subclínica en bovinos.

### **Objetivos específicos**

1. Recopilar información mediante diversas herramientas de literatura y tecnología acerca del tema propuesto en el documento.
2. Dar a conocer los bacteriófagos utilizados para el control y aplicación en de *Listeria monocytogenes*.
3. Analizar los bacteriófagos que presenten eficacia para determinar el alcance de su aplicación.

## 1. Antecedentes

Los estudios aplicados hacia el control de bacterias que afectan a los animales de producción presentan una amplia gama de protocolos y actividades propuestas en diferentes etapas de la cadena de producción, un ejemplo de esta técnica fue el estudio realizado por Guenther S, et al<sup>2</sup> titulado: “Virulent Bacteriophage for Efficient Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods. Applied and Environmental Microbiology” presentado en el año 2008 demostró la aplicación de la terapia fágica para el control de *Listeria monocytogenes* mediante la aplicación de dos clases de bacteriófagos; A511 y P100, estos virus no son específicos sin embargo, son de alto espectro; su efecto inhibitorio fue estudiado aplicando en cultivos Scott A (serovar 4b) y WSLC 1001 (serovar 1 / 2a) de *Listeria monocytogenes*, sobre diferentes alimentos listos para el consumo que se encuentran en la industria frecuentemente contaminados con este patógeno; el estudio se realizó con técnicas de dilución para alimentos líquidos, cultivo para sólidos y los resultados se observaron a partir de la disminución de las unidades formadoras de colonia presentes en los sustratos tratados, además de obtener estos resultados, se determinó que los tiempos de incubación prolongados y los alimentos de origen animal son mucho más apropiados para mantener la infectividad de los virus utilizados que en otro tipo de alimentos con menos tiempos de ensayo u otras características físico- químicas<sup>2</sup>, los bacteriófagos no solo son óptimos en alimentos sino también en sistemas acuáticos como se demostró en la investigación presentada por Campos C, et al<sup>28</sup> en el Artículo “Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferentes tipos de agua de la sabana de Bogotá (Colombia)” del año 2008, en la cual se realiza la detección de bacteriófagos afines con bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas residuales con lo que se permite establecer el riesgo de la utilización de este tipo de aguas para actividades en las que generalmente son utilizadas como es el riego de plantaciones cercanas y bebida para animales de producción y permite la posibilidad de lograr aislar bacteriófagos para otras aplicaciones de tipo ambiental.<sup>28</sup> teniendo en cuenta la necesidad de técnicas de aislamiento para poder capturar bacteriófagos independientemente al espacio del cual se aíslen los investigadores Anany H, et al<sup>6</sup> en su artículo “Biocontrol of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in Meat by Using Phages Immobilized on Modified Cellulose Membranes” del año 2011, realizaron un estudio por medio de inmovilización orientada de bacteriófagos. Este método se basó en las diferencias de carga entre

la cabeza del bacteriófago, que exhibe una carga negativa, y la cola posee una carga positiva. Así la cabeza de este se puede adherir a las superficies con carga positiva, dejando las colas libres para poder lisar las bacterias. Se usaron membranas de celulosa modificadas para que tuvieran una carga superficial positiva como soporte para la inmovilización del fago, se usaron cócteles de fagos activados donde se observó la disminución de los niveles de crecimiento no solo de *Listeria monocytogenes* sino también de *E. coli*.<sup>6</sup>

Una de las múltiples dudas frente a la aplicación de los bacteriófagos además de la manera de aislarlos es confirmando su actuación con sustancias acompañantes como se establece en el estudio de Chibeu A, et al.<sup>3</sup> titulado: “Efficacy of bacteriophage LISTEX<sup>TM</sup>P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turkey and roast beef” del año 2013, se verificó la efectividad del fago P100, usado comercialmente para inhibir *Listeria monocytogenes* en carnes listas para consumo, se usaron también dos antimicrobianos: lactato de potasio (PL) y diacetato de sodio (SD). El estudio demuestra que el bacteriófago LISTEX P100 reduce inicialmente la concentración de *Listeria monocytogenes*, dicho efecto se potencializa con la adición de antimicrobianos sintéticos. Otro tipo de estudio relacionado fue el de Morton J, et al,<sup>4</sup> en donde, por medio de su artículo “Phage Display-Derived Binders Able to Distinguish *Listeria monocytogenes* from Other *Listeria* Species” en el año 2013, se describe la utilización de bacteriófagos para la detección de *Listeria monocytogenes* por medio de aglutinantes. Esta detección permite hacer una clasificación entre las especies patógenas entre *Listeria monocytogenes* y otras especies de la bacteria, siendo de gran ayuda para la industria alimenticia

<sup>4</sup> razón por la cual se busca los sitios de unión para potencializar su acción evidenciado en el artículo “Receptor binding proteins of *Listeria monocytogenes* bacteriophages A118 and P35 recognize serovar-specific teichoic acids” de Biemann R, et al,<sup>8</sup> del año 2015, se logró establecer los receptores a los cuales dos tipos de bacteriófagos específicos para *Listeria monocytogenes* patógena serovar 1/2, se ligan con alta afinidad, estos receptores establecidos como Proteínas de Unión al Receptor presentan residuos de ramnosa sobre los ácidos teicoicos estructurales de la membrana de esta bacteria Gram positiva, la interacción de las proteínas de los fagos A118 y P35 del grupo *Siphoviridae* es exitosa gracias a la presencia de ramnosa y N-acetilglucosamina, que facilitan la adsorción y posterior invasión.<sup>8</sup>

Teniendo en cuenta los estudios previamente descritos, generados en países de primer mundo con una demanda en la producción pecuaria más elevada, se realiza la comparación con Colombia acerca de la investigación de la terapia fágica que se ha desarrollado fuertemente en los procesos de tratamiento y potabilización de agua, como indica el artículo “Metodología rápida y sencilla para la determinación de colifagos somáticos como indicadores de contaminación fecal en una planta de tratamiento de agua localizada al noreste Colombiano” de Villamizar R, et al<sup>27</sup> del año 2015, en donde se establece que gracias a la especificidad de los bacteriófagos por un determinado grupo de bacterias e incluso una cepa de dicho grupo y a su abundancia en medios acuáticos se ha logrado realizar hallazgo de bacterias coliformes que son el principal factor de riesgo para el consumo de agua de tratamiento, estos bacteriófagos correspondientes a *Myoviridae* y *Siphoviridae* permiten la identificación y valoración de los procesos de saneamiento establecidos en la resolución 2115 de 2007 durante las diferentes etapas del proceso, logrando hallazgos más puntuales debido a la afinidad que presentan los virus para detectar mínimas cantidades de las bacterias problema.<sup>27</sup> Como se describió previamente en Colombia se está iniciando la investigación de En el artículo de revisión “Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia” de Prada C, et al<sup>20</sup> en el año 2015, se propone la aplicación de la fagoterapia para resolver problemas relacionados con infecciones por microorganismos multirresistentes, recalcando la acción deficiente de los antimicrobianos convencionales que no logran ejercer gran efecto sobre bacterias que han sido expuestas a diferentes factores ambientales los cuales han aportado habilidades especiales para poder resistir su acción; también se propone su aplicación sobre bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* que son capaces de combatir la labor de los medicamentos gracias a la formación de mecanismos de resistencia como son los biofilms.<sup>20</sup> De la misma manera en la que esta revisión se centro en la resistencia a antimicrobianos la revisión “*Listeria monocytogenes*: A Target for Bacteriophage Biocontrol” de Strydom A. et al<sup>24</sup> del año 2015, no solo señala los aspectos básicos de la terapia fágica, sino que estudia las características que hacen de *Listeria monocytogenes*, la bacteria ideal para el tratamiento con bacteriófagos, sin embargo muestra los obstáculos que se presentan en las diversas investigaciones realizadas in vitro al momento de establecerse directamente sobre los productos alimenticios y como es necesario conocer los mecanismos de acción concretos de la bacteria bajo diferentes circunstancias de estimulación o

estrés, con el fin de poder analizar la interacción bacteria - fago y predecir acciones inhibitorias efectivas durante los ensayos in vivo.<sup>24</sup>

El constante mejoramiento de los tratamientos de mastitis en animales de producción ha centrado especial interés en el uso de bacteriófagos, como se explica en el artículo “Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches” de Gomes F, et al<sup>26</sup> del año 2015, en donde se expuso la utilización de bacteriófagos para el control de mastitis causada por *S. aureus*. Los estudios realizados indican actividad lítica por parte de los bacteriófagos, sin embargo, al realizar una verificación de su eficiencia aplicada en la glándula mamaria del animal y sobre la leche cruda se identifica que al pasar por estas dos etapas el bacteriófago se ve afectado estructuralmente e inhibido por lo que las autoras proponen la verificación de técnicas cuya farmacodinamia y farmacocinética sea totalmente comprobada en tejidos intramamarios.<sup>26</sup> y también se refleje su acción en medios cargados de bacterias como se evidencia en el artículo “Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review” de Ribeiro L, et al<sup>30</sup> del año 2015, que, hace referencia a una estrategia control de producción de metano por parte de bovinos en Colombia, los bacteriófagos verificados que tenían actividad sobre bacterias metanogénicas fueron fago de *Methanobacterium* psi M1 y M2, y fago *Methanothermobacter* psi M100, estos pueden generar una interacción específica con estas bacterias sin embargo no es posible explotar su potencial debido a que esta alta afinidad le es inútil en un medio cargado de bacterias metanogénicas como es el rumen de los bovinos, sin embargo comprueba que si es posible aplicar la terapia fagica in vivo adaptándola al hospedero y a el propósito a alcanzar es decir para detección e inhibición entre otras actividades antimicrobianas.<sup>30</sup> como es el caso del artículo “Feces of feedlot cattle contain a diversity of bacteriophages that lyse non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*” de Wang J, et al<sup>21</sup>, en el año 2015 establece el aislamiento de bacteriófagos capaces de lisar a *E.coli* no-O157 productora de toxina shiga a partir de materia fecal de bovino, los bacteriófagos aislados presentaron una alta capacidad de lisis frente a cepas productoras de esta toxina, lo que permite visualizar su aplicación y producción de en medios que impliquen menor requerimiento tecnológico debido a su inocuidad en el animal.<sup>21</sup>El artículo “Listeriosis in animals, its public health significance(food-borne zoonosis) and advances in diagnosis and control: a comprehensive review” de Dhama K, et al<sup>34</sup> del año 2015, presenta una revisión completa de la efectividad de *Listeria monocytogenes* para invadir células rápidamente, su presencia en diferentes reservorio, siendo uno de los más afectados el ser humano y amplía su



definición como una food-borne zoonosis (enfermedad zoonótica transmitida por alimentos) lo que pone en tela de juicio la subestimación que se da en la industria a los tratamientos para controlar su presencia especialmente en alimentos listos para consumo.<sup>34</sup> debido a esto la presentación de casos de listeriosis en Colombia y la relevancia de un diagnóstico temprano el artículo “Influencia de la listeriosis en la fertilidad y presentación de mastitis subclínica en un conglomerado lechero de la sabana de Bogotá, Colombia” de Gallego M, et al<sup>32</sup> del año 2015, se realizó el análisis de 84 bovinos activos en el proceso de producción lechera encontrándose que los especímenes que mediante técnicas inmunológicas fueron diagnosticados presentaron mayor incidencia con respecto a abortos y alteraciones del sistema reproductor además de mastitis subclínica, generando gran preocupación en este sector de producción debido a los riesgos económicos que genera para la cadena la presencia de ejemplares contaminados con este microorganismo.<sup>32</sup> Tendiendo como antecedente su inminente presencia en animales y alimentos y con respecto a la manifestación en humanos, la presencia de casos letales de Listeriosis neonatal es presentada en el artículo “Listeriosis neonatal en Colombia...¿Igual que hace veinte años?” de Vélez Leal J, et al<sup>35</sup> del año 2015, el artículo establece que en Colombia y otros países del mundo, el escenario epidemiológico de infecciones causadas por *Listeria monocytogenes* y casos comprobados de Listeriosis neonatal es confuso y pone en alerta los sistemas de salud para que se genere un reporte obligatorio con el fin de lograr el control de la enfermedad con establecimiento de protocolos y técnicas de detección efectiva para combatir esta problemática de salud pública<sup>35</sup> y poder detectar todos los mecanismos que presenta esta bacteria para mantenerse latente en diferentes medios. En el artículo “O impacto de biofilmes microbianos na higiene e segurança alimentar” de los autores Teixeira P, et al<sup>25</sup> del año 2015, se establece que la formación de biofilms por parte de las bacterias generalmente oportunistas es uno de los problemas más significativos en el control de microorganismos mediante antibióticos debido a que su formación permite a los agentes infecciosos adherirse en superficies, secretar enzimas en respuesta al estrés y fortalecer sus mecanismos de defensa por lo que los bacteriófagos son la clave para el tratamiento contra este tipo de microorganismo gracias a su inocuidad, fácil obtención y especificidad documentando su eficacia debido a endolisinas generadas contra biofilms de *Listeria monocytogenes* y *E. coli*.<sup>25</sup> otro ejemplo de este tipo de investigación se observa en el artículo “Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes* realizado” por Akhtar M, et al<sup>5</sup> en el año 2016, permitieron el

aislamiento, detección e identificación de aproximadamente 37 bacteriófagos que además de cumplir con funciones inhibitorias para el crecimiento demostraron especificidad para ciertos ribotipos de *Listeria monocytogenes*, los análisis de dicha efectividad se determinaron mediante varias técnicas como enzimas de restricción, microscopía electrónica de transición, medición de unidades formadoras en placas entre otros. Estos resultados permiten dirigir la investigación hacia el uso de bacteriófagos con mucha más sensibilidad y especificidad, ampliando la posibilidad de aplicación en diferentes procesos industriales.<sup>5</sup>

Lili W, et al<sup>7</sup> en el año 2016, dentro de su estudio “Use of Bacteriophages to Control *Escherichia coli* O157:H7 in Domestic Ruminants, Meat Products, and Fruits and Vegetables”, realizaron la aplicación de un pool de fagos directamente a la mucosa de unión rectoanal de novillos Holstein después de haber hecho una aplicación rectal de la bacteria *E. coli* O157:H7. Adicionalmente se añadieron fagos en el agua y estos se mantuvieron en el agua potable del fago tratado. La terapia fágica redujo el número promedio de *E. coli* O157: H7 entre novillos tratados con fago en comparación con novillos de control.<sup>7</sup> su aplicación directamente en animales también se propuso el artículo “A review of current methods using bacteriophages in live animals, food and animal products intended for human consumption” de Cooper, I<sup>22</sup> en el año 2016, establece que existen técnicas de aplicación efectivas sobre animales vivos que dependiendo del contexto del objeto de estudio han mostrado resultados favorables para el control de infecciones causadas por *S. aureus*, *S. typhimurium* y *pseudintermedius* en animales vivos y control de *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157, *Salmonella entérica* en carne cruda.<sup>22</sup>

La terapia fágica ha despertado gran interés debido a las altas probabilidades de aplicación en los diferentes campos de la investigación en los que se puede implementar , sin embargo su acción también puede generar interferencias importantes en la aplicación clínica como se evidencia en el artículo “Bacteriophages in clinical samples can interfere with microbiological diagnostic tools” de Brown M, et al<sup>31</sup> en el año 2016, el cual señala que los bacteriófagos aislados de muestras clínicas de diversos líquidos corporales generan interferencias al momento de la verificación de antibiogramas que son regulares en la búsqueda de un tratamiento efectivo para combatir la infección presente, cuando se procedió a realizar la identificación de los halos de inhibición de los antibióticos en concentraciones específicas, se detectó la muerte bacteriana a

causa de bacteriófagos específicos, situación que ya ha sido registrada por varios autores y que representa uno de los desafíos más importantes de este nuevo tratamiento<sup>31</sup> por lo que la diversificación de las técnicas aplicadas no incluyen solo la acción ejercida por los virus sobre la célula blanco sino también la síntesis de partículas derivadas que podrían sintetizarse y manipularse versátilmente en comparación con la obtención directa del bacteriófago. El artículo “Inhibition of multidrug resistant *Listeria monocytogenes* by peptides isolated from combinatorial phage display libraries” de Flachbartovaa A, et al<sup>23</sup> del año 2016, permite establecer el uso de péptidos generados en fagos que se han demostrado tienen actividad inhibitoria sobre cepas de *Listeria monocytogenes* multirresistente, estos péptidos actúan sobre la célula blanco sin generar acción citotóxica o afectar las células eucariotas del modelo objeto de estudio. Los péptidos aislados prometen aumentar la efectividad contra infecciones que afectan a seres humanos y animales.<sup>23</sup>

La presencia de microorganismos en alimentos listos para consumo en Colombia demuestra falencias en la cadena de producción que son un problema de salud pública teniendo en cuenta la fácil transmisibilidad durante la ingesta y los signos y síntomas que puede generar en casos puntuales la muerte. En el artículo “Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia” del año 2017 de Forero Y, et al<sup>33</sup> los autores realizaron la validación de presencia de microorganismos patógenos en alimentos de restaurantes escolares en 7 departamentos en Colombia, donde se verificó cada uno de los procesos desde la manipulación hasta la disposición para los comensales obteniendo que en los alimentos analizados el microorganismos que más se presentó fue *Listeria monocytogenes* (1,6%) situación que pone en riesgo la salud de las personas que reciben y consumen estos productos.<sup>33</sup>

## 2. Marco teórico

### 2.1 Generalidades sobre mastitis

La mastitis consiste en la inflamación de la glándula mamaria y los tejidos secretores debido a una agresión de cualquier tipo (ya sea microbiano o mecánico)<sup>13</sup>, reduciendo la producción de leche, alterando su composición y propiedades organolépticas, elevando la carga bacteriana normal. La mastitis se puede clasificar de acuerdo a su origen, duración o dependiendo la manifestación de síntomas. Es una enfermedad que no se diagnostica fácilmente a pesar de que haya síntomas como tumefacción, dolor, calor y endurecimiento de la glándula, por esta razón se deben realizar pruebas posteriores al examen físico y visual. Estas pruebas pueden ser de tipo microbiológico o detección mediante técnicas serológicas.<sup>9</sup>



**Figura 1.** Mastitis por bacterias que causan daño por la producción de toxinas, que provocan hinchazón y muerte de las células productoras de leche.<sup>65</sup>

Esta enfermedad genera dolor y estrés en el animal, inicia con la entrada de los microorganismos patógenos por la cara externa al interior de la ubre por medio del conducto glandular o pezón, los patógenos invaden e infectan totalmente la glándula mamaria y se presenta edema del tejido mamario o de la ubre, hay daños a los tejidos y dependiendo de la duración y severidad de la mastitis, se genera la formación de fibrosis, edema inflamatorio, atrofia del tejido mamario, abscesos o gangrena en casos extremos. La etapa terminal finaliza con la pérdida parcial o total de la ubre.<sup>11</sup> Los síntomas y su ocurrencia en esta patología se ven relacionados directamente con la patogenicidad y los factores de virulencia de los microorganismos que la causan, así mismo se reflejarán la gravedad de los síntomas, donde se puede observar recuentos elevados en el conteo de células somáticas con o sin cambios visibles en la leche y en casos severos fibrosis o toxemias.<sup>14</sup> La mastitis es reconocida por signos clínicos frecuentes y característicos como: disminución en la producción de la leche, aumento en el número de leucocitos, composición y aspecto alterado de la leche, fiebre, cuartos mamarios enrojecidos e hinchados.<sup>13</sup>

Se considera una enfermedad multicausal, donde se han identificado más de 80 especies de microorganismos como: bacterias, hongos, *Mycoplasma* y algas causando infecciones intramamarias. Sin embargo, existen especies patógenas frecuentes que son responsables de la mayoría de los casos de mastitis bovina, siendo estas bacterias Gram positivas, especialmente cocos que hacen parte de los patógenos mayores de la ubre causantes del 95% de los casos.<sup>10</sup>

No sólo los microorganismos son los causantes de la mastitis, esta enfermedad también puede ser causada por daño mecánico como golpes en la ubre, lesiones físicas, el mal saneamiento y desinfección a la hora del ordeño, equipos de ordeño mal usados y el no uso de los sellantes de pezones después del ordeño son factores predisponentes.<sup>15</sup>

Se reporta como una de las enfermedades bovinas infecciosas y endémicas más comunes y costosas, disminuyendo la producción lechera bovina en grandes cantidades, afectando el bienestar animal y la calidad de leche.<sup>13</sup> La ocurrencia de la mastitis dependerá de la raza de los

bovinos, la ubicación geográfica, los factores medioambientales y su manejo, el nivel de producción, su manejo y su respectiva sanidad.<sup>16</sup>

La mastitis es causada por diversos microorganismos (bacterias, micoplasmas, hongos y algas) y el contagio se predispone de acuerdo a la localización y a factores externos.

<b>Microorganismo</b>	<b>Localización</b>	<b>Tipo de mastitis</b>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Ubre	Mastitis contagiosa, patógeno mayor
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ubre	Mastitis contagiosa, patógeno mayor
<i>Mycoplasma bovis</i>	Ubre	Mastitis contagiosa, patógeno mayor
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Ambiental y moscas	Mastitis ambiental, patógeno menor
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno menor
<i>Pseudomonas spp.</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno menor
<i>Streptococcus uberis</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno mayor

<i>Enterobacterias</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógenos menores
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno mayor
<i>Corynebacterium spp</i>	Ubre	Mastitis ambiental, patógeno menor
<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Estafilococos</i> <i>coagulasa negativos (SCN)</i>	Microorganismos habituales de la piel	Mastitis ambiental, patógeno menor
<i>Trichosporon spp.</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus nidulans</i> <i>Pichia spp.</i> <i>Candida spp.</i> , <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i> , <i>Saccharomyces spp.</i> y <i>Torulopsis spp.</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógenos menores
<i>Prototheca trispora</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno mayor
<i>Prototheca zopfii.</i>	Ambiental	Mastitis ambiental, patógeno mayor

**Tabla 1.** Principales microorganismos asociados a cuadros de mastitis en bovinos.

Ubicación y tipo de mastitis según agente etiológico.<sup>57</sup>

### 2.1.1 Fisiopatología

La fisiopatología puede variar dependiendo el agente causal de la mastitis, en esta se ven involucrados la inmunidad innata y adaptativa.<sup>14</sup>

La respuesta inmune innata es inespecífica y casi inmediata donde se observa la acción de los neutrófilos que se encuentran en la glándula mamaria, estos tienen la capacidad de inducir la fagocitosis del patógeno, a su vez se ven activados varios componentes inmunes como péptidos antibacterianos, la producción de la interleucina 8 (IL-8) por medio de las células epiteliales, en ocasiones la inmunidad innata puede inducir una respuesta dañina a las vacas productoras de leche ya que puede generar cascadas de inflamación excesivas.<sup>18</sup> Mientras que la respuesta inmune adaptativa es específica donde se encuentran células como los linfocitos T y B, que tienen la capacidad de reconocer patógenos y a su vez generar memoria para que, en caso una posterior exposición al antígeno, la respuesta inmune sea rápida, aumentada y específica. La glándula mamaria de los bovinos lleva consigo una barrera anatómica no inmune y a su vez está equipada de abundantes mecanismos de defensa.<sup>18</sup>

El complejo mayor de histocompatibilidad bovino juega un papel muy importante ya que se ha observado que de este dependen múltiples factores que pueden regular la respuesta inmune en la mastitis, un ejemplo de esto es el antígeno de linfocito bovino (BoLA) que se ha visto relacionado con la susceptibilidad o resistencia a esta patología. A su vez se ven involucrados otras moléculas inmunitarias que colaboran en la respuesta inmune como las betas defensinas, estas han sido objeto de estudio en la resistencia bovina contra la mastitis ya que permiten la regulación genética para que se adapte mejor el animal a esta acción.<sup>18</sup>

Estudios realizados demuestran que la inmunidad tipo I y II en los bovinos puede regular cambios genéticos induciendo citocinas en las vacas lecheras en el momento del parto donde el riesgo de mastitis se incrementa. La ubre de las vacas puede también presentar un mejoramiento



genético debido a la respuesta inmune ya que se ha visto involucrado los microARN siendo estos capaces de regular la inmunidad frente a los patógenos que causan la mastitis. Las modificaciones genéticas generan en las vacas estimulación de lipopolisacáridos (LPS) en la respuesta inmune bovina así mismo se produce la señalización de los Receptores Tipo Toll (TLR) logrando una reducción microbiana en la mastitis. El sistema inmune de los bovinos es particular ya que también presenta características genéticas únicas como la familia de interferón bovino de tipo 1 (IFN $\gamma$ ). Sin embargo, se ha demostrado que la sucesión de estos genes resistentes a la mastitis de padres a hijos es bajo y que se debe tener especial atención cuando la mastitis se considera subclínica.<sup>18</sup>

El ganado Holstein se caracteriza por ser el principal productor de leche en los hatos, por esta razón se realizó una estimación de heredabilidad donde se encontró que dentro de los rasgos más elevados de esta se encontraban la respuesta inmune celular y mediada por anticuerpos.<sup>18</sup>

Dentro de la enfermedad se ven involucrados tres procesos importantes que son: invasión, infección e inflamación de la glándula mamaria o el área afectada y la destrucción y daño del tejido.<sup>17</sup>

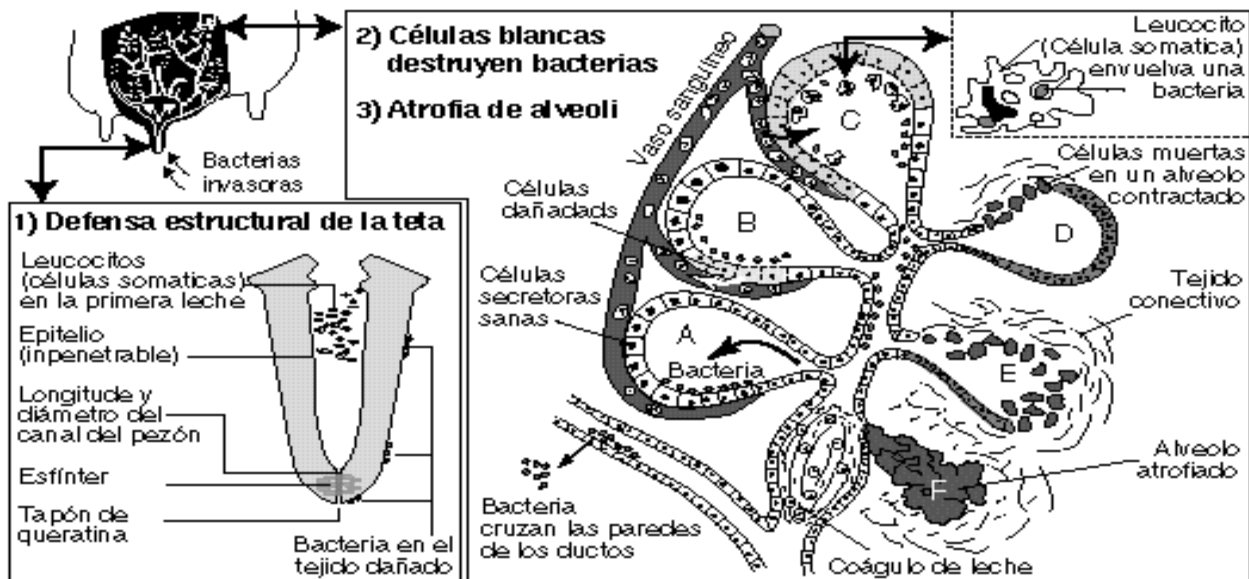
### **2.1.1.1 Invasión**

Es el resultado de los microorganismos que usando sus factores de patogenicidad eliminan o interrumpen barreras físicas como la tetina, ingresando a la glándula mamaria siendo este un órgano estéril, posteriormente se desencadena la respuesta inmune de manera rápida, su función es impedir que el patógeno pueda colonizar órganos y tejidos mamaros y que se desarrolle la enfermedad.<sup>18</sup>

En la invasión, los patógenos se introducen en la glándula mamaria por medio del canal del pezón, siendo esta la barrera de defensa más importante de la glándula. Posteriormente se desencadenará la respuesta inmune e inflamatoria donde ocurre daño al epitelio secretor y finalmente la disminución de la producción de leche. El canal del pezón posee un tamaño pequeño y una longitud corta, fisiológicamente hablando esto impide la entrada de microorganismo patógenos.<sup>17</sup>

Durante el parto y la lactancia la vaca es más susceptible a contraer la enfermedad ya que en el momento del ordeño no se cuentan con las medidas de saneamiento necesarias, lo que propicia la entrada de dichos patógenos.

El canal cuenta con un epitelio queratinizado que le permite absorber las bacterias, los leucocitos que se encuentran en la teta juegan un papel muy importante en la respuesta inmune y la eliminación de los patógenos.<sup>17</sup>



**Figura 2.** Infección y respuesta inmune desplegada al interior de la ubre.<sup>17</sup>

### 2.1.1.2 Infección

En esta fase, después de que los patógenos logran ingresar a la glándula mamaria, se multiplican de manera exponencial invadiendo el tejido y la glándula mamaria por completo. Esta diseminación e invasión dependerá del microorganismo que haya colonizado el órgano y de sus factores de patogenicidad, este a su vez puede colonizar la leche y adherirse al epitelio.<sup>17</sup>

### **2.1.1.3 Inflamación de la glándula mamaria o el área afectada**

En esta fase el sistema inmune activará la cascada de inflamación, factores humorales que se encuentren en la leche o la ubre como lactoferrina, lisozima, entre otros e inmunoglobulinas y otros mecanismos celulares como los macrófagos, Neutrófilos Polimorfonucleares (PMN), linfocitos B y T.<sup>17</sup>

La respuesta inflamatoria en la glándula mamaria puede dividirse en 3 etapas:

- Primera etapa: Se inicia el proceso inflamatorio donde se eleva el flujo sanguíneo debido al ataque de las bacterias, los PMN que se encuentran en la sangre se adhieren al endotelio, hay contracción de las células endoteliales permitiendo el paso de iones, agua y proteínas sanguíneas que posteriormente generarán edema.<sup>17</sup>
- Segunda etapa: Los macrófagos y PMN empiezan un proceso de migración hacia la leche y hacia los alvéolos infectados de la glándula mamaria. La función de los macrófagos es reconocer cualquier antígeno y los PMN se encargan de fagocitar y eliminar los patógenos y los desechos que se generan debido a la infección. El conteo de células somáticas en leche se incrementa, y así mismo la composición de la leche se altera.<sup>17</sup>
- Tercera etapa: La respuesta inflamatoria llega a su fin, conllevando a la cronicidad, atrofia de la glándula mamaria y a la disminución de la producción lechera afectando la industria ganadera.<sup>17</sup>

### **2.1.2 Mecanismos de transmisión**

#### **2.1.2.1 Contacto Directo**

Se presenta por microorganismos que se alojan en la ubre del animal y en las zonas perimetrales a esta, el contagio se transmite de animal a animal por varios mecanismos y puede darse poblacionalmente o de manera contenida y deberse a patógenos mayores o menores, esta denominación es dada según el grado de severidad de los síntomas que causa cada microorganismo. los mecanismos de contagio pueden deberse a acciones propias del animal como rascarse, rozar o morder especialmente cuando se presenta transferencia de fluidos biológicos como sangre o saliva, paso a través de fómites durante el ordeño, alimentación,

transporte y resguardo, contacto sexual con un ejemplar portador que puede o no presentar signos de infección o uso de elementos para inseminación. infectados y por transmisión placentaria<sup>37</sup>. El tratamiento antimicrobiano dependerá del agente infectante sin embargo dicho tratamiento debe ser acompañado de estrategias que ayuden a limitar el contagio como son la desinfección y manipulación adecuada de los equipos de ordeño, terapia de vaca seca, cuarentena entre otras.<sup>41</sup>

### **2.1.2.2 Ambiental**

La mastitis ambiental se debe a la presencia de microorganismos que se encuentran normalmente en el ambiente, pueden estar presentes en el suelo, piel, heces, agua, camas, alimentos, equipos y personas encargadas del ordeño. Estas infecciones generalmente tienden a desarrollar presentaciones subclínicas de la enfermedad ya que se da en su mayoría por patógenos menores que están localizados en casi todos los lugares en donde se encuentra el bovino, esto representa uno de los principales problemas para la industria lechera ya que los tratamientos profilácticos se centran en el manejo de microorganismos causantes de mastitis generada por patógenos mayores por lo que la infección no se detiene y ocasiona manifestaciones crónicas que reducen significativamente la cantidad de producto y requieren de tratamientos más agresivos.<sup>42</sup>

### **2.1.3 Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas de la mastitis dependen del tipo de mastitis que se presente en las vacas lecheras, de los factores de patogenicidad del microorganismo invasor, de la capacidad de resistencia y el sistema inmune de la vaca, estas manifestaciones pueden ser leves hasta convertirse en graves y crónicas.<sup>17</sup>

El tamaño, la temperatura, la consistencia de la glándula mamaria se ve afectado, los síntomas dependen de la complejidad de la enfermedad y se dividen a partir de las mastitis clínicas y subclínicas.<sup>17</sup>

Los principales síntomas de las mastitis clínicas se dividen en:

- Sobreaguda: se caracteriza por la inflamación de los cuartos de la glándula mamaria.
- Aguda: Se presenta inflamación severa en la glándula mamaria.

- Subaguda: La inflamación en esta mastitis es leve, sin embargo, la composición de la leche cambia notablemente.
- Crónica: la inflamación de la glándula mamaria es continua a lo largo del tiempo y la composición de la leche no presenta cambios.<sup>17</sup>

En la mastitis subclínica no se presenta sintomatología ni se observan cambios visibles tanto en la leche como en la glándula mamaria, no obstante, al realizar el recuento de células somáticas estas se encontrarán aumentadas.<sup>17</sup>

## 2.1.4 Presentación

### 2.1.4.1 Mastitis aguda

Es un tipo de mastitis donde la glándula mamaria presenta síntomas bastante visibles, tales como: enrojecimiento, endurecimiento, hinchazón, sensibilidad al tacto. Dentro de los signos clínicos que presenta el animal se encuentran: aumento de temperatura rectal, anorexia pérdida de peso, disminución de la función ruminal, aumento del pulso, deshidratación, debilidad, temblores, diarrea y depresión. En casos severos puede presentarse necrosis del tejido generalmente dependiente del tipo de patógeno que provoque la infección.<sup>39</sup>

El aspecto de la leche es anormal, visualmente se ve purulenta, serosa o sanguinolenta. Su producción también se ve afectada, donde se observa una disminución repentina.<sup>12</sup> La incidencia de la presentación clínica se encuentra entre el 15% al 25% dependiendo del hato ya que en algunos de estos la incidencia puede superar el 45%.<sup>14</sup>



**Figura 3.** Lesiones en ubre por mastitis gangrenosa.<sup>9</sup>

#### 2.1.4.2 Mastitis crónica

La mastitis crónica se desarrolla con el paso del tiempo donde se observa inflamación recurrente, las células alveolares de la glándula mamaria se deterioran y dañan, la glándula mamaria se atrofia ya que el tejido conectivo se reemplaza por tejido disfuncional y su capacidad secretora disminuye.<sup>17</sup> Sin embargo puede cursar con eventos agudos en los que el aspecto del producto puede verse alterado, se presenta acompañado de abundante agua, trazas de proteína y grasa que asemejan coágulos u hojuelas se establece como crónica cuando la presentación de la inflamación y molestia en la ubre supera los 5 días.<sup>11</sup>

las presentaciones subclínicas de la enfermedad es decir sin sintomatología o cambios en la leche observables pueden desencadenar eventos crónicos debido a la no detección de la infección y a la poca o ninguna alteración que se da en el producto inicialmente, por lo que el conteo de células somáticas y cultivo bacteriológico son de gran importancia para el diagnóstico de estos episodios.<sup>13</sup> Es la presentación más importante para la industria debido a las falencias en la detección del microorganismo y los tratamientos deficientes que pueden generar la mayor cantidad de pérdida de producto en comparación con la mastitis clínica.



**Figura 4.** Mastitis clínica de curso crónico.<sup>38</sup>

## 2.2 Generalidades sobre *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* es un bacilo Gram positivo intracelular que infecta especies animales como bovinos, ovinos, caprinos, aves de corral, también puede infectar a peces y otros animales marinos gracias a su capacidad de sobrevivir en concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) elevadas y finalmente humanos. Es una bacteria que se encuentra distribuida a nivel mundial.<sup>29</sup> Es ubicua y se presenta de manera natural en diferentes ambientes, se encuentra en suelo, en materia orgánica en descomposición, agua, vegetales y heces fecales de animales y seres humanos. Este bacilo puede crecer en temperaturas de refrigeración, pH desde 3.9 hasta 9,6, temperaturas extremas y sustancias conservantes.<sup>44</sup>

Es un bacilo aerobio o anaerobio facultativo que no forma esporas y no posee cápsula sin embargo puede formar biofilms en alimentos y zonas en donde haya manipulación de los mismos por lo que se convierte en un contaminante frecuente.<sup>45</sup>

**2.2.1 Temperatura:** el crecimiento óptimo se da a los 37°C, presenta movilidad entre los 20° a 25° Puede sobrevivir a temperaturas que van desde los -1.5°C hasta 45 °C. las temperaturas superiores a 50 °C son perjudiciales para el patógeno pero puede mantenerse en temperatura de refrigeración (0° - 4°). Esto se debe a 32 proteínas presentes en su estructura que permiten su supervivencia a diversas temperaturas incluso cuando hay shock térmico.<sup>46</sup>

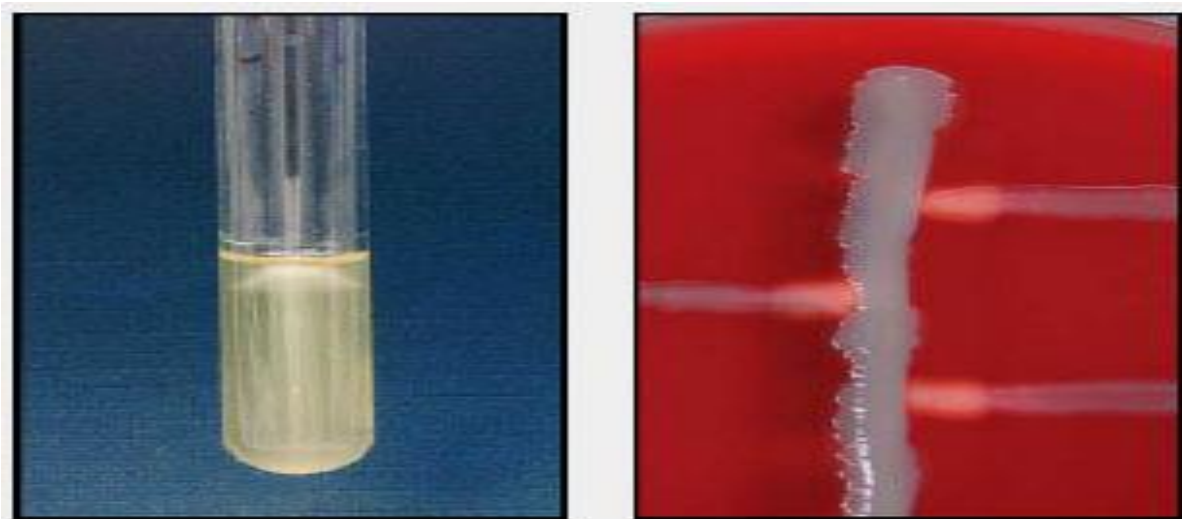
**2.2.2 pH:** Esta bacteria puede crecer en rangos de pH de 3,3 a 9.6.<sup>46</sup>

**2.2.3 Concentración de NaCl:** sobrevive en concentraciones del 13 % - 14% sin embargo se ha visto presente en soluciones con una concentración de hasta el 20%.<sup>46</sup>

**2.2.4 Identificación:** Se identifica como bacilos Gram positivos, cortos, regulares, no esporulados, catalasa (+), oxidasa (-). Genera hidrólisis de esculina, crecimiento en bilis al 40%, fermenta glucosa y maltosa, prueba de Christie, Atkins y Munch Petersen (CAMP) convencional positiva.<sup>46</sup>



**Figura 5.** *Listeria monocytogenes* con tinción de Gram de hemocultivo.<sup>40</sup>



**Figura 6.** Prueba de movilidad a 25°C y Prueba de Camp positivas.<sup>53</sup>

**2.2.5 Serovariedades:** *Listeria monocytogenes* se considera una bacteria patógena para los animales y los seres humanos, por ende para realizar su caracterización se usa la tipificación serológica, la cual ha permitido dividir a esta especie bacteriana en 13 serotipos que se dividen por linajes los cuales son: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e y 7. El serotipo



comúnmente responsable de infecciones en humanos por consumo de alimentos es el 4b, en cuanto a serotipos que se han aislado de fábricas o industrias alimenticias se encuentran el 1/2a, 7 y 1/2b.<sup>55</sup>

En casos de rumiantes infectados por *Listeria monocytogenes* se aisló el serotipo 1/2a.<sup>67</sup> Sin embargo los serotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4b son los más aislados, (98% de los casos).<sup>68</sup>

Estas serovariedades son descritas a partir de la identificación de los antígenos flagelares (H) o antígenos somáticos (O), las serovariedades implicadas en infecciones de humanos y animales son la 4b, 1/2b y 1/2a. Su serotipificación es de gran importancia para la clasificación y reporte a nivel epidemiológico.<sup>46</sup>

Linaje	Serotipo	Especie que afecta
I	4b, 1/2b, 3b, 4d, 4e y 7	Seres humanos (brotes por consumo de alimentos).
II	1/2a, 1/2c, 3a y 3c	Seres humanos, animales, transmisión por alimentos y ambiental.
III	4a, 4c y 4b	Animales.

**Tabla 4.** Caracterización genética de *Listeria monocytogenes* incluyendo su linaje, serotipo y especie afectada. Construcción propia, producto de la investigación Aplicación de Bacteriófagos como alternativa para el control de *Listeria monocytogenes* causante de cuadros de mastitis subclínica en Bovinos de Colombia, marzo, 2019.

**2.2.6 Factores de virulencia:** *Listeria monocytogenes* es un patógeno intracelular obligado, la activación de los factores de virulencia está dirigida a la infección de células del sistema retículo endotelial sin embargo la infección inicial es dirigida hacia los enterocitos, células con las cuales realiza el primer contacto la interacción será mediada por los siguientes mecanismos:

**2.2.7 Adhesión e invasión:** se presenta en los enterocitos logrando pasar la pared intestinal , esta adhesión es modulada por la interacción célula receptor, la bacteria cuenta con una proteína de superficie llamada internalina, esta comprende dos tipos Internalina A (InIA) e internalina B (InIB), la comunicación entre patógeno y célula se presenta cuando esta proteína entra en contacto con la E-caderina molécula de recepción en la superficie celular humana, la unión se presenta y proteínas de internalización permiten que la bacteria sea encapsulada en el fago soma de la célula y se traslade hacia otro tipo de células. Esta interacción es de gran importancia para el desarrollo de presentaciones neurológicas y placentarias de la infección ya que permite que la bacteria rompa las barreras hematoencefálica y placentaria.<sup>46</sup>

**2.2.8 Vacuolas:** la bacteria cuenta con una proteína específica; la listeriolisina, esta se activa a pH bajos y su combinación con otra proteína presente en el proteoma de la bacteria la fosfolipasa C fosfatidilinositol específica, lisan el fagosoma de transporte para liberar la bacteria de la vacuola fagocítica evitando los efectos citotóxicos de la célula. Esta proteína despliega la reacción inmune activando citocinas pro inflamatorias, esta listeriolisina es la encargada de generar la beta hemólisis en el agar sangre durante la prueba de CAMP.<sup>47</sup>

**2.2.9 Desarrollo Intracelular:** una vez se ha roto la vacuola fagocítica, la bacteria requiere supervivencia en el medio intracelular es decir en el citosol, por lo que las proteínas de transporte fosfato hexosa (Hpt) y la ligasa protein lipoato (LpLA1) secuestran las fuentes de carbono de la misma permitiendo su supervivencia hasta el transporte a otra célula y completar el ciclo infeccioso.<sup>46</sup>

**2.2.10 Liberación:** nuevamente se genera la activación de la enzima listeriolisina en donde se da la liberación de las células infectadas presentes en la vacuola de fagosoma, esta vacuola presenta

una doble membrana, sin embargo, las condiciones de acidez del medio hacen más rápida la liberación para infectar a las células contiguas.<sup>46</sup>

**2.2.11 Transferencia de célula a célula:** esta transferencia está mediada por la activación de la proteína Actina, esta se encarga de formar filamentos en la célula y lograr un transporte ameboideo mediado por estructuras similares a los pseudópodos. Estas estructuras ingresan en las células vecinas y permiten la colonización de una nueva célula, entrando de manera inmediata a una vacuola de doble membrana al interior de la célula fagocítica. Posteriormente un sistema similar a la activación de listeriosinas se inicia rompiendo la vacuola y el ciclo de infección intracelular inicia nuevamente.<sup>46</sup>

**2.2.12 Antimicrobianos:** *Listeria monocytogenes* presenta sensibilidad a penicilina, amoxicilinas, ampicilinas, eritromicina, tetraciclina, gentamicina y vancomicina. Se ha reportado resistencia mediada por plásmidos en algunas cepas sin embargo los tratamientos convencionales aún siguen presentando un alto grado de acción frente a este patógeno cuando el diagnóstico ha sido eficiente.<sup>46</sup>

### **2.2.13 Infección en bovinos**

La infección por *Listeria monocytogenes* en bovinos puede cursar con variadas presentaciones, la infección dirigida al sistema nervioso central es denominada como encefalitis y ocurre cuando la bacteria es trasladada gracias a su afinidad por el sistema retículo endotelial, por los macrófagos o monocitos, la vía de entrada se presenta en las mucosas oral, mucosa nasal a través de la piel o conjuntivas, zonas cercanas al nervio trigémino, por inhalación o ingreso debido a lesiones, o durante la alimentación,<sup>48</sup> una vez instaurada allí puede generar lesiones y microabscesos, estas lesiones aparecen como pequeñas zonas de necrosis e imposibilita la activación de la zona microglial, generando astocitosis y proliferación celular de monocitos, neutrófilos y linfocitos lo que ocasiona que la migración se disemine en las dos regiones del cerebro y posteriormente afecte la zona medular.<sup>49</sup>

Esta presentación de la infección puede darse en adultos de diferentes edades, el tiempo de presentación de la enfermedad es de 4 a 14 días, los síntomas son empuje de objetos fijos, depresión, confusión mental somnolencia y soledad. Esta enfermedad se denomina la enfermedad de los círculos ya que son las figuras que el animal realiza cuando se traslada, puede presentarse inclinación unilateral de la cabeza debido al compromiso unilateral del encéfalo, también puede presentarse parálisis unilateral, caída de oreja, ojo y labio de un solo lado, cuando se ha presentado afectación medular el animal empieza a desarrollar problemas para la masticación.<sup>50</sup>

Otras presentaciones de recurrentes de la enfermedad se dan en el sistema urogenital del animal ocasionando abortos, la infección es vía hematógena a través de la cual la bacteria migra hacia el útero y genera afectaciones en el último tercio de la gestación, no hay presentación de síntomas previos antes del aborto, la infección genera la muerte del feto y este es expulsado a los 5 días, si el aborto no se presenta puede darse momificación fetal. Cualquiera de las dos presentaciones puede dejar secuelas en el animal, estas van desde retención de placenta, metritis hasta septicemia. Esta infección puede afectar hasta el 50 % de animales de un conglomerado.<sup>50</sup>

La presentación de mastitis a causa de este patógeno generalmente es subclínica, este es un patógeno ambiental y los casos observados indican una relación directa con episodios de mastitis posterior a los abortos dados por la misma causa, esto mismo ocurre con la queratoconjuntivitis asociada a la invasión conjuntival del microorganismo, pero su presentación es esporádica y la documentación de casos es mínima.<sup>50</sup>

Por último, la presentación septicémica de la enfermedad que va estrechamente relacionada con las presentaciones previamente descritas, una proliferación de células fagocíticas infectadas que sobrepasan la barrera hematoencefálica debido a que la infección ya alcanzó el punto medular, la presencia de la bacteria en animales después de abortos o retención placentaria pueden culminar fácilmente si el patógeno no es detectado a tiempo con episodios de septicemia. Sin embargo, la población susceptible corresponde a terneros o corderos recién nacidos que portan con la infección desde la gestación apareciendo generalmente entre el 3 y 7 día de vida y culminando con la muerte del animal.<sup>50</sup>

El diagnóstico de cualquiera de los tipos de presentación de la infección se da principalmente por la manifestación de signos y síntomas, sin embargo, el diagnóstico microbiológico permite descartar otros microorganismos causales y orientado un tratamiento efectivo. Las muestras dependen del tipo de presentación, para las presentaciones neurológicas las muestras ideales son líquido cefalorraquídeo o cerebro, para las infecciones localizadas las muestras ideales son leche, secreción vaginal y materia fecal y en el caso de sospecha de curso de septicemia las muestras de sangre y órganos. En animales abortados cualquier órgano permite su detección.<sup>50</sup>

#### **2.2.14 Infección en humanos**

La infección en humanos se da por el consumo de alimentos contaminados o por contacto con animales infectado (zoonosis). Los síntomas van desde episodios gastrointestinales hasta neurológicos en pacientes susceptibles.<sup>44</sup>

Los síntomas gastrointestinales son vómito, náuseas, diarrea, presencia de cuadros febriles leves, mialgias, dolor abdominal y cefalea. Se ha reportado casos de listeriosis cutánea y listeriosis ocular debido al contacto y manejo de animales infectados con la bacteria, producen edema en la zona descrita, fiebre, mialgias y cefalea, generalmente estos episodios presentan auto resolución.<sup>44</sup>

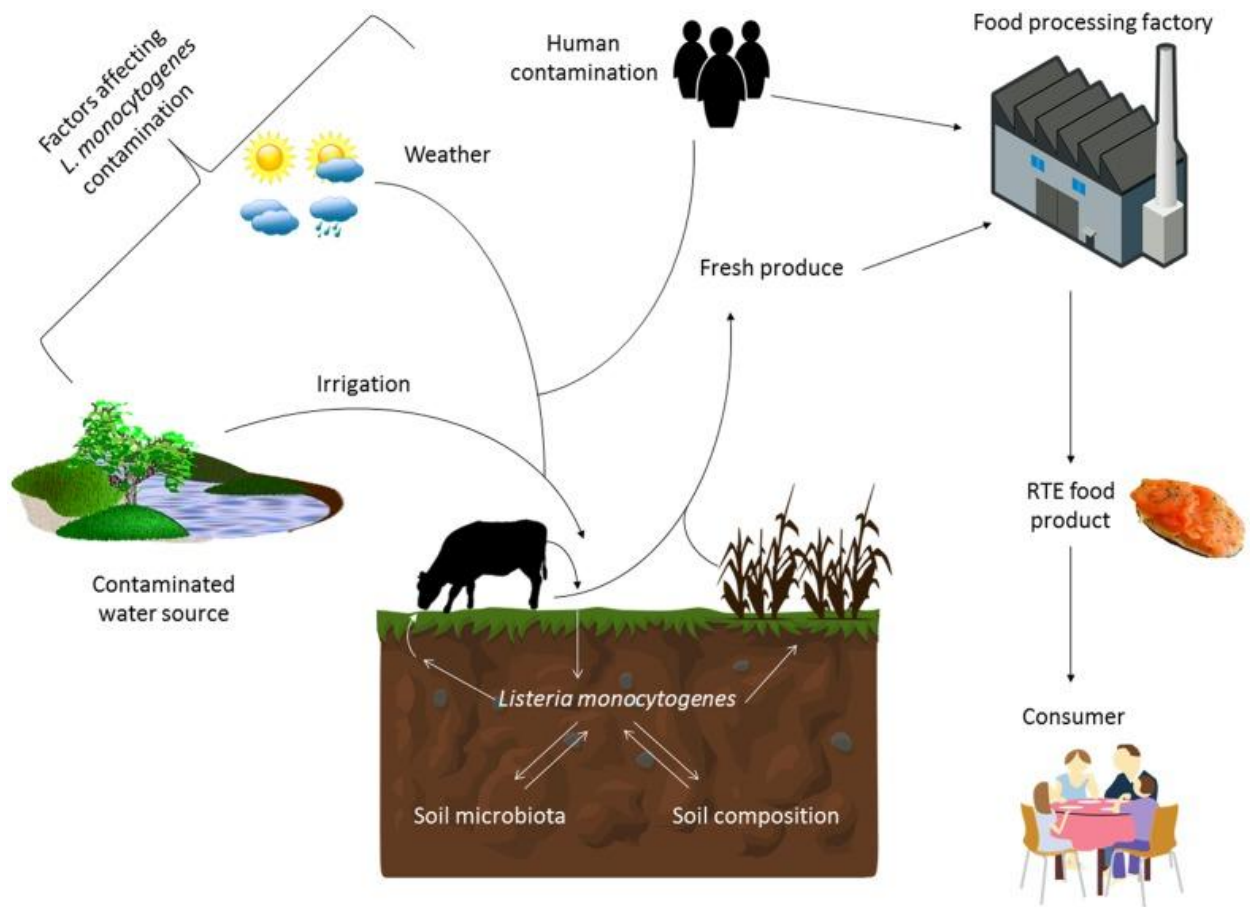
La presentación neurológica se da principalmente en pacientes susceptibles, la enfermedad generada es meningitis o meningoencefalitis, los signos son fiebre, rigidez, pérdida del conocimiento y coma. El diagnóstico se realiza mediante el análisis de líquido cefalorraquídeo, caracterizado por presentar elevada turbidez, recuento leucocitario elevado, valores de glucosa disminuidos y proteínas elevadas.<sup>44</sup>

En mujeres embarazadas la infección se da vía hematogena ya que la bacteria puede atravesar la barrera placentaria e infectar el feto o perinatal. En la madre los síntomas son leves similares a los del resfriado común, sin embargo, si la infección se da durante el tercer trimestre de embarazo puede presentarse mortinato, aborto, parto prematuro. Si el producto de la gestación

sobrevive puede darse listeriosis neonatal que genera manifestaciones graves como neumonía, septicemia y meningitis. La transmisión perinatal da como resultado episodios de meningitis que se revelan varias semanas después del parto.<sup>44</sup>

### **2.2.15 Transmisión de *Listeria monocytogenes***

En los años 70 se descubrió que *Listeria monocytogenes* es una bacteria que se encuentra presente en el suelo como su hábitat natural, en estudios recientes se encontró que esta bacteria se encuentra en suelos con alto contenido de arcillas, donde otros factores como la temperatura, el cambio climático, la contaminación fecal de animales y humanos, la microbiota del suelo, permiten su crecimiento; es de allí donde los bovinos realizan la ingesta de forraje contaminándose con este microorganismo, de estos animales se derivan productos que son llevados a la cadena alimentaria donde el humano puede contagiarse, siendo fatal en personas inmunocomprometidas, se considera una zoonosis, es por esta razón que se toman medidas sanitarias y de desinfección dentro de la producción de estos derivados, sin embargo estos protocolos y medidas no se realizan a cabalidad y con frecuencia en países en vía de desarrollo como Colombia. Los operarios y personas que trabajen con bovinos o en industrias alimentarias pueden transmitir la bacteria, se han aislado cepas de *Listeria monocytogenes* en superficies, pasillos, equipos e implementos de fábricas, plantas de producción, entre otros, siendo estas, fuentes importantes de contagio de alimentos.<sup>59</sup> Se estima que el 21.3 % de los bovinos transportan *Listeria monocytogenes* en las heces siendo estos animales de granja los mayores transmisores de este microorganismo.<sup>63</sup>



**Figura 7.** Factores que influyen en la supervivencia y transmisión de *Listeria monocytogenes* en el medio ambiente y la cadena alimentaria.<sup>59</sup>

### 2.3 Generalidades sobre bacteriófagos

La palabra bacteriófago proviene de bacteria y fagein (del griego comer), fue un término propuesto por Felix d'Herelle en el año 1917 mientras realizaba investigaciones sobre la disentería en el instituto Pasteur en París, mediante cultivos donde se usó como muestra materia fecal de pollos observó y demostró la capacidad lítica de estos.<sup>20</sup> Posteriormente Felix realizó cultivos con materia fecal de seres humanos, al ver la capacidad bactericida de los fagos, realizó una preparación para ser administrada a un niño que por aquella época sufría de disentería, a los pocos días el niño presentó mejoría y se recuperó. En 1921 se usó un preparado de bacteriófagos

para tratar enfermedades cutáneas causadas por *Staphylococcus spp.* Los fagos llegaron a ser tan importantes que se usaron preparados de estos durante la segunda guerra mundial y las fuerzas armadas estadounidenses dirigieron estudios, por esta razón la era histórica de la fagoterapia se dio entre los años 1920 a 1950.<sup>1</sup> Los bacteriófagos fueron observados en el año 1896 y 1898 por primera vez gracias a investigaciones hechas por el británico Ernest Hankin donde observó actividad antimicrobiana contra *Vibrio cholerae* en un cultivo donde la muestra era agua tomada del río Ganges en India<sup>1</sup>, posteriormente se encargaron de describir que los fagos eran una sustancia no identificada con posible actividad bactericida. En 1915 Twort reportó que estos tenían capacidad lítica. Felix d'Herelle y George Eliava en el año 1933 fundaron el instituto dedicado a la investigación de bacteriófagos en la República de Georgia, este instituto se preserva hoy día.<sup>20</sup>

Pese a este gran descubrimiento y la era de la fagoterapia, se abandonó el uso de los fagos como tratamiento debido a que no se sabía con certeza la composición de estos, a la falta de controles, de protocolos adecuados y a la aparición de los antibióticos. Sin embargo, otro campo científico continuó con el estudio de estos como lo fueron: la biología molecular, fago pantalla o biología combinatoria e identificación bacteriana.<sup>1</sup> En los últimos años, su estudio ha cobrado relevancia ya que desde el año 1935 se han encontrado bacteriófagos capaces de lisar bacterias ácido lácticas de gran importancia en la industria lechera.<sup>19</sup>

Se ha demostrado que los bacteriófagos pueden tener tan alta especificidad y pueden llegar a ser cepa- específicos, esto se debe a los receptores en las células procariotas, el medio ambiente en las células hospederas y el exterior.<sup>51</sup>

Son los virus más abundantes en la tierra, para propagarse necesitan infectar bacterias y su hábitat natural es el medio ambiente,<sup>60</sup> aunque estudios indican que también se han podido aislar bacteriófagos de productos alimenticios como carnes y productos derivados, verduras, frutas, productos lácteos y sus derivados.<sup>61</sup> Han sido aislados en su gran mayoría de aguas y en menor proporción del suelo, se estima que se encuentran aproximadamente  $1 \times 10^{30}$  U±P/mL en el mar.<sup>1</sup>



Los fagos se clasifican en líticos y lisogénicos. Los fagos líticos se describen como virus controladores y antimicrobianos naturales que son usados en áreas como biotecnología e industria de alimentos para la eliminación de biofilms bacterianos. Estos fagos se caracterizan por modificar las funciones biológicas de la bacteria la cual infectan usando la maquinaria del huésped, logrando así reproducirse, lisar el microorganismo infectado y liberar nuevos fagos para que este ciclo se repita. Este ciclo depende de factores medioambientales como la temperatura, nutrientes, entre otros.<sup>75</sup>

Los fagos lisogénicos se caracterizan por su capacidad de integrar el ADN viral en el cromosoma del huésped, conviviendo a lo largo del tiempo con la bacteria, replicándose de generación en generación. Estos pueden ser concebidos genéticamente y son usados para eliminar la resistencia a antibióticos por parte de las bacterias. Este fago no tiene la capacidad de eliminar a su huésped, pero sí de hacerlo sensible para cuando este cause una infección y pueda ser eliminado efectivamente mediante el uso de antibióticos<sup>75</sup>

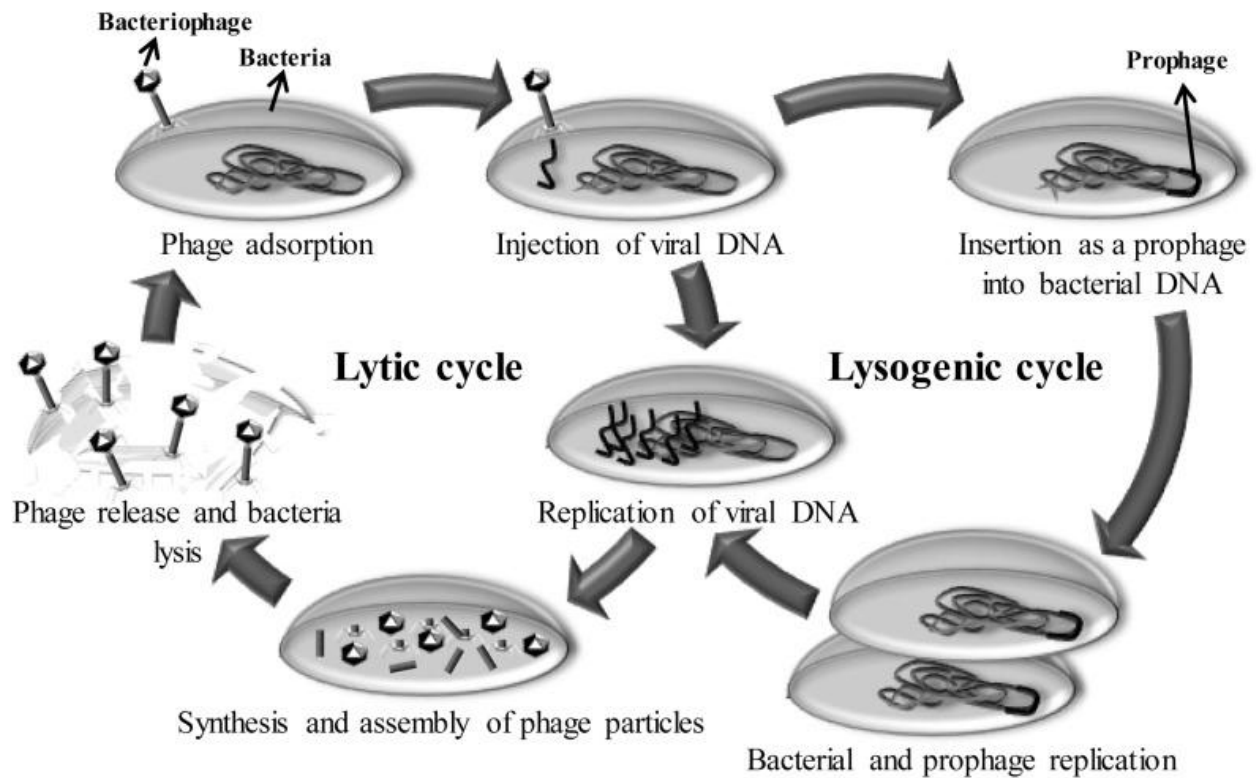
Su versatilidad y abundancia han sido ampliamente aprovechadas en biología molecular en donde se han utilizado como medio de transporte y marcadores, se ha logrado marcar este tipo de virus con fluorocromos para señalar y detectar bacterias a las cuales estos virus se ligan. Además de ser marcadores, también se han utilizado para la replicación de lisozimas largamente explotadas en biotecnología y biología molecular, los clones y sintéticos han salido de bacteriófagos filamentosos y se han desarrollado híbridos de fagos y plásmidos que potencializan la producción de este tipo de proteínas.<sup>69</sup> The phage display o tecnología de presentación de fagos es una de las herramientas más utilizadas para la obtención de material de interés de una célula hospedera, el fago es modificado genéticamente para que se incorpore material que se exponga en la progenie del fago una vez se termine el ciclo lisogénico, esto permite establecer secciones de proteínas que pueden ser variables o conservadas con el fin de establecer una correlación entre las proteínas y el comportamiento de la célula ante la presencia de las mismas.<sup>70</sup>

Su ciclo de vida consta de 3 partes: Replicación, transcripción y traducción del genoma, necesita usar la maquinaria de las células para lograr a cabo estos mismos. Esto conlleva a que el fago

realice una fase lisogénica donde este, combina su DNA con el material genético de la bacteria infectada y una fase lítica en la cual el bacteriófago se vuelve virulento y se apodera de la maquinaria genética de la bacteria, su replicación, y transcripción, esta fase termina con la lisis o muerte bacteriana y la posterior liberación del virus al ambiente.<sup>19</sup>

También se habla de una etapa pseudolisogénica en la cual hay una constante producción de progenie debido a la abundancia de celular presente en el medio. Se encontraron bacteriófagos que pueden realizar una fase continua, donde se forman de manera interrumpida en la célula que parasitan, no ocasionan lisis y mientras maduran se liberan por medio de poros. Sin embargo, hay fagos que poseen una fase lisogénica pero no se han realizado estudios específicos.<sup>20</sup>

El tipo de ciclo realizado es importante para poder comprender cómo gracias a estos agentes se puede generar la transferencia de material genético de una bacteria a otra mediante el fenómeno de transducción, este fenómeno consiste en que ciertas porciones de material genético son transportadas por alguna de las moléculas presentes en la estructura del fago; la transducción generalizada se presenta cuando hay una porción de material genético de la bacteria dentro de la cápside del fago, exponiéndose ausencia de material genético del propio fago. Esto se da durante los ciclos líticos y se debe a alteraciones durante el ensamblaje de proteínas estructurales, la transducción especializada se presenta en bacteriófagos con ciclos lisogénico y pseudolisogénico cuando además del material genético del fago, se inserta material genético de la célula hospedera, esto se da en los sitios adyacentes en donde se unió el material genético del fago dentro de la maquinaria celular.



**Figura 8.** Representación de los ciclos de vida del bacteriófago.<sup>73</sup>
















Debido a la resistencia bacteriana a los antibióticos por su mal manejo tanto en humanos como en animales, a los problemas de salud pública y las muertes debido a enfermedades infecciosas que se han generado, los bacteriófagos han sido objeto de estudio para ser usados como terapia alternativa (fagoterapia) para el control y la eliminación de estos microorganismos, la disminución de costos hospitalarios, de morbilidad y mortalidad. Se desea implementar esta terapia ya que los fagos tienen actividad bactericida, países como Polonia, Rusia y República de Georgia ya la han implementado.<sup>20</sup>

### 2.3.1 Clasificación

Los bacteriófagos se clasifican según su ubicación, material genético y morfología.

Clasificación según su morfología	Clasificación según el material genético	Clasificación según su ubicación
<ul style="list-style-type: none"><li>· Icosaédricos</li><li>· Helicoidales</li><li>· Complejos y de simetría binaria</li><li>· Icosaedros y Helicoidales</li><li>· Filamentoso</li><li>· Hexagonal</li><li>· Poliédrico</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· ARN monocatenario</li><li>· ADN monocatenario</li><li>· ADN bicatenario</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Bacteria</li><li>· Arquea</li><li>· Mycoplasma</li><li>· Spiroplasma</li></ul>

**Tabla 2.** Clasificación de los bacteriófagos según su morfología, tipo de material genético y ubicación. Construcción propia, producto de la investigación Aplicación de Bacteriófagos como alternativa para el control de *Listeria monocytogenes* causante de cuadros de mastitis subclínica en Bovinos de Colombia, marzo, 2019.

<i>Corticoviridae</i>	dsADN	Bacteria	
<i>Tectiviridae</i>	dsADN	Bacteria	
<i>Podoviridae</i>	dsADN	Bacteria	
<i>Myoviridae</i>	dsADN	Bacteria, Archaea	
<i>Myoviridae</i>	dsADN	Bacteria, Archaea	
<i>Fuselloviridae</i>	dsADN	Archaea	
<i>Guttaviridae</i>	dsADN	Archaea	
<i>Salterprovirus</i>	dsADN	Archaea	
<i>Lipothrreviridae</i>	dsADN	Archaea	
<i>Rudoviridae</i>	dsADN	Archaea	
<i>Plasmaviridae</i>	dsADN	Mycoplasma	
<i>Microviridae</i>	ssADN	Bacteria, Spiroplasma	
<i>Inoviridae</i>	ssADN	Bacteria, Mycoplasma	
<i>Cystoviridae</i>	dsARN	Bacteria	
<i>Leviviridae</i>	ssARN	Bacteria	

**Figura 9.** Clasificación de los bacteriófagos según su morfología, tipo de material genético y hospedero.<sup>51</sup>

Teniendo en cuenta la anterior clasificación se puede realizar la revisión de varios tipos morfológicos adicionando características correspondientes como la cola del fago para el proceso de inyección del material genético y en la presentación del material genético.<sup>52</sup>

Los bacteriófagos han sido usados para eliminar bacterias de importancia clínica causantes de graves enfermedades como alternativa antimicrobiana, en la siguiente tabla se muestra el tipo de fago que infecta cada microorganismo patógeno y su descripción morfológica.

FAGO	HUÉSPED	CABEZA	COLA	ÁCIDO NUCLEICO	ESTRUCTURA	TIPO
T1	<i>E. coli</i>	Hexagonal	Simple	ADN +/-	Lineal	Lítico
T2, T4, T6	<i>E. coli</i>	Icosaédrico	Compleja	ADN +/-	Lineal y bases modificadas	Lítico
T3, T7	<i>E. coli</i>	Hexagonal	Corta	ADN +/-	Lineal	Lítico
T5	<i>E. coli</i>	Hexagonal	Simple	ADN +/-	Lineal y una cadena segmentada	Lítico
LAMBDA, fi-80, P2, Mu	<i>E. coli</i>	Hexagonal	Simple	ADN +/-	Lineal y extremos cohesivos	lisogénico
N4	<i>E. coli</i>	Hexagonal	Corta	ADN +/-	Lineal	Lítico

P22	<i>Salmonella spp</i>	Hexagonal	Compleja	ADN +/-	Lineal	Lítico
SP01	<i>Bacillus spp</i>	Hexagonal	Compleja	ADN +/-	Lineal	
SP82	<i>Bacillus spp</i>	Hexagonal	Compleja	ADN +/-	Lineal	
S13	<i>E. coli</i>	Icosaédrico	No	ADN +	Circular	Lítico
M12, G4	<i>E. coli</i>	Icosaédrico	No	ADN +	Circular	Lítico
PM2	<i>Pseudomonas spp</i>	Hexagonal, envoltura	No	ADN +/-	Circular	
M13	<i>E. coli</i>	Filamentoso	No	ADN +	Circular	Lítico
MS2, f2	<i>E. coli</i>	Icosaédrico	No	ARN +	Lineal	Lítico
Fi-6	<i>Pseudomonas spp</i>	Poliédrico, envoltura	No	ARN +	3 segmentos	Lítico
F1, fd	<i>E. coli</i>	No	Filamentoso	ADN +/-		Lítico
P1	<i>Salmonella spp</i>	Icosaédrico	Compleja	ADN +/-		Lisogénico

**Tabla 3.** Clasificación de los bacteriófagos presentes en bacterias de importancia clínica.<sup>58</sup>

### 2.3.2 Aplicación

La aplicación de bacteriófagos está ampliamente estudiada dentro de diferentes ámbitos de la investigación debido a la versatilidad de su manipulación y abundancia en el medio, su especificidad ha sido la característica más importante ya que de esta habilidad se ha generado la mayor cantidad de técnicas dentro de la industria médica y alimentaria, sin embargo las aplicaciones no están limitadas solamente a este campo, algunas utilidades como la producción de fagolisinas, subproductos de la actividad lítica que pueden ser sintetizadas y aplicarse directamente sobre el objeto de estudio con el fin de reducir las interferencias que se puedan dar por la manipulación, estas enzimas permiten la liberación del virus y generan muerte celular ya que rompen la pared y permiten la salida del virión de la célula hospedera; detección de microorganismos en enfermedades silenciosas, esta técnica no solo busca la detección de bacterias sino también de virus y células tumorales entre otros medios de transporte debido a la capacidad del virus de transportar material genético diferente al propio como ocurre durante los ciclos de replicación, control de microorganismos como terapia alternativa a los tratamientos convencionales no solo en medicina sino en la industria y por último marcadores de contaminación en diferentes ámbitos de la industria como por ejemplo marcadores de contaminación en aguas.

Dentro de las aplicaciones importantes se exhibe su actividad como indicadores de contaminación fecal en aguas de diferente origen, inicialmente se propuso bacteriófagos de cadena sencilla de ADN, bacteriófagos con tropismo por coliformes y bacteriófagos con cola para hacer parte del grupo de indicadores, su uso se vio deteriorado debido a que su utilidad no fue totalmente comprobada, sin embargo otros tipos de bacteriófagos generalmente de origen marino y de aguas crudas ya han sido documentados específicamente para esta función.

Los bacteriófagos a su vez se han descrito en el tratamiento de infecciones bacterianas, en el caso de bacterias multirresistentes a antibióticos estos han sido una terapia alternativa, en control biológico reduciendo el uso de desinfectantes, en la eliminación de biofilms bacterianos, se han usado en tratamientos de infecciones de oídos, ojos y nariz en seres humanos, en otitis caninas, infecciones respiratorias en aves e industrias de alimentos.<sup>75</sup>



### 2.3.3 Aplicación sobre *Listeria monocytogenes*

En la actualidad, se han aislado más de 500 bacteriófagos apuntados al control del género *Listeria spp.* Sin embargo, no todos han sido caracterizados, sólo unos pocos han sido estudiados, caracterizados morfológicamente, secuenciados y analizados para determinar su especificidad.<sup>76</sup>

Los bacteriófagos que actualmente se han secuenciado para *Listeria monocytogenes* tienen la capacidad de infectarla eficazmente, se encuentran dentro de las familias *Siphoviridae* y *Myoviridae*. Dentro de su análisis genómico se encontró que tienen homología interespecies y se componen de un 7% de genes codificantes de *Listeria monocytogenes*.<sup>62</sup>

Al ser *Listeria monocytogenes* un microorganismo responsable de causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), se han implementado bacteriófagos específicos para controlar esta bacteria en diferentes alimentos:

<b>Bacteriófago</b>	<b>Alimento en el que ha sido usado</b>	<b>Serotipo hospedero</b>
A511	Leche, queso mozzarella, quesos blandos, carne de pavo, salmón ahumado, marisco, hojas de lechuga	1/2, 4, 5, 6
P100	Quesos, melón, pera, manzana, lechuga	1/2, 4, 5, 6
FWLLm1	Pechuga de pollo, leche	
FWLLm3	Leche	

LMP102 (ListShield)	Frutas, verduras, carnes, lácteos	1/2a, 1/2b, 4b
A118	Quesos	1/2
P35	Mariscos	1/2
P40		1/2, 4, 5, 6
LMP1	Leche	
LMP7	Leche	
PSA/ WSLC1118	Leche	4

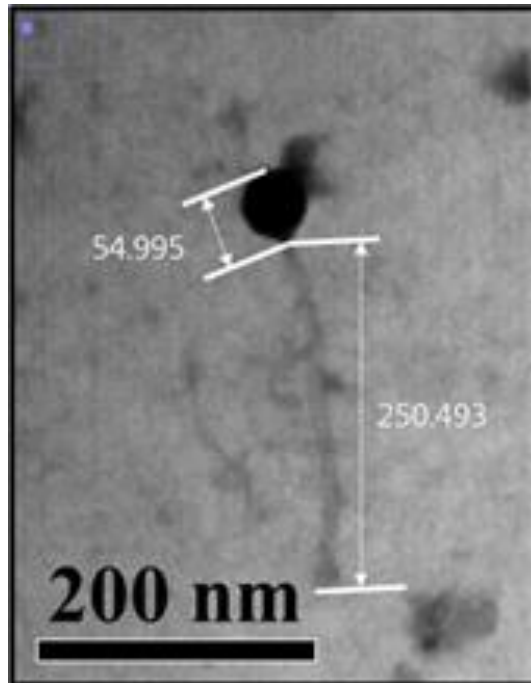
**Tabla 5.** Clasificación de bacteriófagos usados para *Listeria monocytogenes* en alimentos y serotipo diana.<sup>71,72,74</sup>

Debido a que *Listeria monocytogenes* constituye uno de los riesgos más grandes de la industria alimentaria ya que es el patógeno que más se aísla como contaminante de alimentos listos para el consumo, vegetales, carnes crudas y lácteos,<sup>54</sup> la búsqueda de soluciones que permitieran su aplicación sobre los alimentos sin alterar las características organolépticas hizo que la terapia fágica cobrará nuevamente el interés de los investigadores. La compañía European Bioinformatics Institute Food Safety, de origen holandés logró sintetizar un producto de bacteriófagos que cumpliera con el objetivo de no alterar el producto al cual fuera administrado. Este producto recibe el nombre de Listex elaborado a partir de bacteriófagos P100 específicos contra *Listeria monocytogenes*. Este producto puede aplicarse pulverizado sobre el alimento o permitir que los mismos se sumerjan dentro de la elaboración. Este producto ya cuenta con la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para su aplicación en Estados Unidos y Europa.<sup>3</sup>

En estudios recientes se han usado bacteriocinas, lactato de sodio y el bacteriófago P100 siendo este el más eficaz para el control de *Listeria monocytogenes* en la industria alimentaria con productos como carne de cerdo<sup>4</sup> <sup>3</sup> Este bacteriófago también ha sido utilizado para el control de crecimiento de esta bacteria específicamente de los serotipos 1/2a y 4b en quesos blandos.<sup>64</sup> Sin embargo, se comprobó que factores medioambientales en industrias alimenticias pueden cambiar la estabilidad del fago P100 haciéndolo menos eficaz contra *Listeria monocytogenes*.<sup>66</sup>

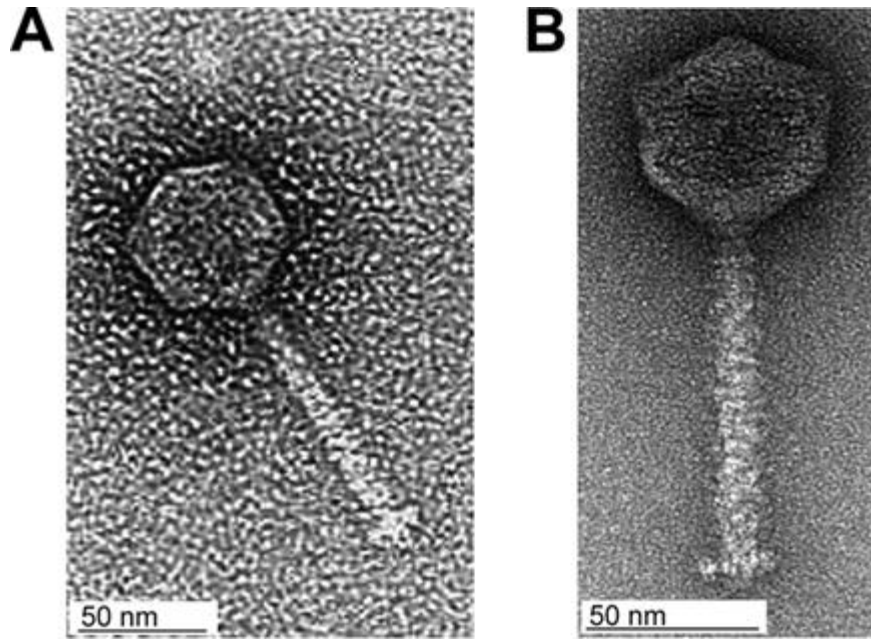
El bacteriófago P100 no sólo ha tenido uso en la industria de alimentos, estudios han demostrado que este fago se ha usado como una alternativa al uso de desinfectantes para instalaciones en la eliminación de biopelículas de *Listeria monocytogenes* en superficies como el acero inoxidable, teniendo un efecto letal en este microorganismo.<sup>73</sup>

Dentro de los bacteriófagos aplicados para *Listeria monocytogenes* se encuentran el fago LMP1 y LMP7, sus características morfológicas los describen con una cabeza icosaédrica, cola larga y elástica, pertenecen a la familia *Siphoviridae* del orden Caudovirales. En recientes estudios estos bacteriófagos se aislaron de heces de pollo donde con otros 12 bacteriófagos fueron estudiados para evaluar el control de *Listeria monocytogenes* en leche, comprobando que los únicos fagos que mostraron resultados favorables fueron el LMP1 y LMP7, siendo fagos líticos, con la capacidad de infectar varios huéspedes, aunque no se han realizado estudios a profundidad para valorar la especificidad de estos fagos.<sup>76</sup>



**Figura 10.** Caracterización morfológica de los bacteriófagos LMP1 y LMP7.<sup>76</sup>

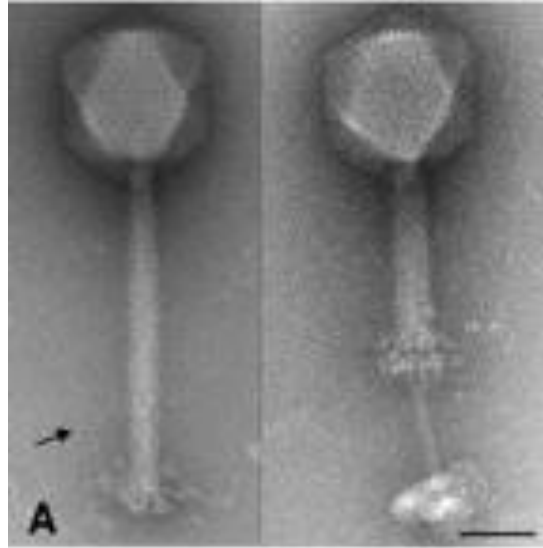
Los fagos P35 y P40 pertenecen a la familia *Siphoviridae*, su cabeza mide aproximadamente 57 nm y su cola posee una longitud de 110 nm, se diferencian uno del otro en el tamaño de su genoma; el P35 tiene un genoma de 35.8 kb mientras que P40 tiene un tamaño menor: 35.6 kb. Se caracterizan como fagos virulentos ya que no poseen capacidad lisogénica.<sup>77</sup>



**Figura 11.** Caracterización morfológica de los bacteriófagos P35 (A) y P40 (B), mediante microscopía electrónica.<sup>77</sup>

El fago PSA se encuentra en la familia *Siphoviridae* del orden *Caudovirales*, es un virus lítico, su material genético es dsDNA, posee una cápside isométrica y su diámetro es de 61 nm, su cola es larga, flexible, no retráctil y mide 180 nm. Tiene la capacidad de infectar *Listeria monocytogenes* y se han realizado estudios genómicos para caracterizarlo,<sup>78</sup> sin embargo sus estudios en cuanto a la aplicación en esta bacteria han sido escasos.

Para la realización de control de contaminación alimentaria por *Listeria monocytogenes* asimismo se ha usado el bacteriófago A511, un virus lítico de la familia *Myoviridae* perteneciente al orden *Caudovirales*. Morfológicamente posee una cápside isométrica de 87.36 nm de diámetro y una cola no contráctil con una longitud de 199.44 nm, carente de flexibilidad, su genoma es de 137,6 kb. Es comúnmente usado ya que tiene la capacidad de infectar el 95% de cepas de *Listeria monocytogenes* aproximadamente.<sup>79</sup>



**Figura 12.** Caracterización morfológica del bacteriófago A511.<sup>79</sup>

El bacteriófago A118 es un virus usado para combatir *Listeria monocytogenes* en quesos, específicamente para el serovar 1/2 que se encuentra comprometido en infecciones por transmisión de alimentos. Es un fago con capacidad lítica que libera 30 viriones posteriormente a la lisis causada, posee una cápside isométrica de 61 nm de diámetro y una cola larga, no retráctil y flexible que mide 330 nm, es un virus de dsDNA que se encuentra dentro de la familia *Siphoviridae* del orden *Caudovirales*.<sup>80</sup>

Dentro de los bacteriófagos a su vez frecuentemente usados para la eliminación de *Listeria monocytogenes* en alimentos, en superficies y equipos usados en las plantas fabricantes de alimentos, se encuentran la mezcla de fagos LMP-102, conocido comercialmente como ListShield, este preparado es específico y selectivo para esta bacteria y se ha utilizado en programas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).<sup>81</sup>

Los bacteriófagos FWLLm1 y FWLLm3 pertenecen a la familia *Myoviridae* y han sido aislados de las heces de ovejas, son virus líticos aplicados al control de *Listeria monocytogenes* en alimentos como la leche. En estudios realizados estos fagos aplicados en pechugas de pollo y leche para eliminar *Listeria monocytogenes*, se encontró que tienen la capacidad de reducir la bacteria, por tanto, estos bacteriófagos se proponen para el control biológico de alimentos, sin

embargo, se debe tener en cuenta que las proteínas y la grasa característica de la leche puede inhibir los fagos y estos a su vez no podrán unirse a la célula diana.<sup>82</sup>

## **2.4 Situación en Colombia**

### **2.4.1 Salud pública**

En Colombia la listeriosis es considerada además de una zoonosis como una enfermedad transmitida por alimentos, los estudios realizados en el país han coincidido con la presencia de esta bacteria en alimentos en algún porcentaje,<sup>54</sup> este estudio se ha realizado en alimentos listos para el consumo, carnes de ovino, bovino, caprino, aves, peces, crustáceos, vegetales, lácteos y sus derivados. Esto confirma que a pesar de que los tratamientos y los métodos de asepsia para cada tipo de producto varían, este patógeno logra permanecer hasta su consumo. El instituto el ministerio de protección social y salud ha declarado esta bacteria como un riesgo para la población,<sup>36</sup> sin embargo el Instituto Nacional de Salud no ha establecido obligatoriedad en su reporte por lo que a pesar del elevado riesgo de aparición en alimentos no se ha establecido formalmente como un problema de salud pública de constante vigilancia en animales y humanos.<sup>55</sup>

A pesar de esto se realiza revisión por parte del Instituto como cumplimiento del decreto 616 de 2011 y el decreto 3075 de 1997,<sup>56</sup> de las prácticas durante la cadena de producción. Esto incluye las medidas de protección obligatorias para el personal y la adecuación de instalaciones para la manipulación de alimentos susceptibles a infección. El incumplimiento de la normatividad acarreará consecuencias legales y monetarias sobre el responsable del centro de producción auditado.

Estas medidas permiten mitigar hasta cierto límite la diseminación de la bacteria sin embargo se buscan alternativas para lograr instaurar dentro de la normatividad el reporte obligatorio de los casos de *L. monocytogenes* en animales y humanos.

En Colombia se ha visto un incremento a pasos agigantados en cuanto a la resistencia bacteriana a antimicrobianos, el aislamiento de cepas multirresistentes en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) pediátricas y de adultos ha generado gran preocupación. Algunos estudios demuestran que la bacteria *Escherichia coli* betalactamasas de espectro extendido (BLEE) es una de las más resistentes presentando un alto incremento (30%) entre el año 2012 y 2013.<sup>20</sup>

El Instituto Agropecuario Colombiano (ICA), permite que las sustancias antimicrobianas se usen para distintos fines, tales como el crecimiento o la mejora de alimentos desde que estos no sean usados en humanos, sin embargo, estos antibióticos generalmente son de amplio espectro, generando resistencia cruzada. Este es un gran problema para la salud pública ya que el uso de estos no es el indicado. Sin embargo, pese a esta situación, Colombia adoptó medidas como los límites de residuo máximos de la lista de fármacos regulados por el Codex Alimentarius.<sup>20</sup>

A pesar de que no se ha comprobado resistencia inducida confirmada de *Listeria monocytogenes* los factores intrínsecos de la bacteria alertan sobre su manejo por lo que los investigadores se encuentran en atentos frente a cualquier novedad dentro del comportamiento de las infecciones confirmadas y los tratamientos instaurados.



### **3. Diseño metodológico**

#### **3.1 Tipo de estudio**

Revisión documental de tipo descriptivo y analítico. Se tuvieron en cuenta los artículos de investigaciones y decretos publicados desde el año 1997 hasta el año 2019, las palabras claves usadas para la búsqueda se realizó en un idioma:

Inglés: “Bacteriophages, *Listeria monocytogenes* and bovine mastitis”

La base de datos consultada fue:

PubMedCentral: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>

#### **3.2 Universo:**

1.442 artículos científicos en idioma inglés de la base de datos PubMed, relacionados con bacteriófagos y *Listeria monocytogenes*

#### **3.3 Población:**

709 artículos científicos relacionados con posibles alternativas donde se inhibiera *Listeria monocytogenes* mediante el uso de bacteriófagos.

#### **3.4 Muestra:**

22 artículos científicos que buscarán tratamientos no convencionales donde se inhibiera *Listeria monocytogenes* causante de mastitis bovina mediante el uso de bacteriófagos.

#### **3.5 Criterios de inclusión:**

- Involucrar la mastitis subclínica en bovinos

- Tener como objetivo el control de *Listeria monocytogenes* en bovinos mediante bacteriófagos

### 3.6 Criterio de exclusión:

- Trabajos de grado

La consulta de los artículos de investigación se realizó en las bases de datos mencionadas, entre los años 2017 y 2019.

La primera búsqueda se basó teniendo en cuenta las palabras claves mencionadas:

Bases de datos	Número de artículos
PubMedCentral	1.442

**Tabla 6.** Primera filtración

Para la segunda filtración se tuvo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, obteniendo así el número de artículos encontrados de la base de datos aplicando los filtros respectivos de esta para así cumplir con todos los criterios.

Bases de datos	Número de artículos
PubMedCentral	709

**Tabla 7.** Segunda filtración

Posteriormente, en la última filtración se ejecutó la revisión y lectura detallada y minuciosa de los resultados obtenidos mediante la base de datos. Se pudo notar que la base de datos no era lo

suficientemente específica para los criterios fijados, ya que se incluían artículos sobre temas como resistencia a antimicrobianos, tratamientos contra *Staphylococcus aureus*, control biológico mediante endolisinas, bacteriocinas, CRISPR/CAS9, secuenciación genómica, antibióticos, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, tipificación de fagos, entre otros temas que no contribuían con la revisión. Asimismo, nombraban el uso de los fagos para bacterias diferentes a *Listeria monocytogenes* y técnicas usadas como la secuenciación y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar genes de bacteriófagos.

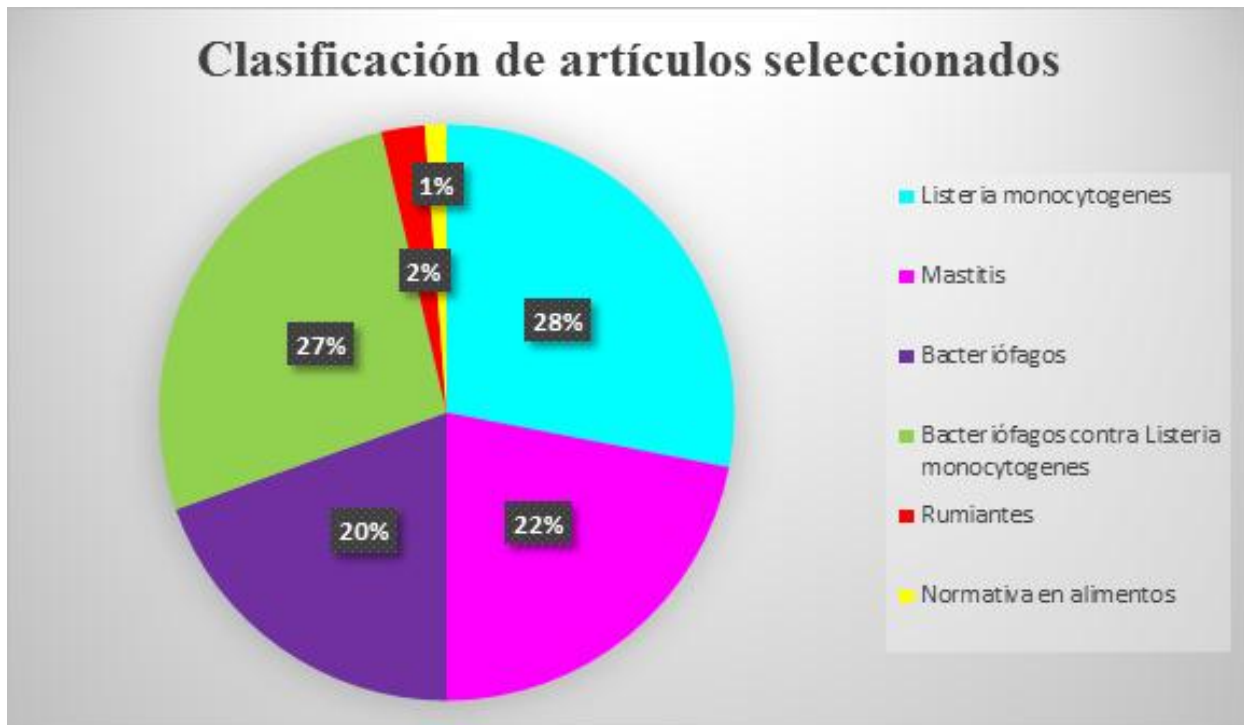
Por último, para obedecer con los criterios acordados, la revisión se ejecutó con 22 artículos que fueron elegidos, teniendo en cuenta su importancia, trascendencia y aporte que pudieron conferir a la revisión.

#### 4. Resultados

Los artículos seleccionados se ordenaron según el tema de investigación correspondiente:

CLASIFICACIÓN DE ARTÍCULOS SELECCIONADOS			
Tema	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
<i>Listeria monocytogenes</i>	23	0,28	28%
Bacteriófagos contra <i>Listeria spp</i>	22	0,27	27%
Mastitis	18	0,22	22%
Rumiantes	2	0,02	2%
Normativa en alimentos	1	0,01	1%
Bacteriófagos	16	0,20	20%
	<b>82</b>	<b>1,00</b>	<b>100%</b>

**Tabla 8.** Clasificación de los artículos seleccionados de acuerdo al tema.



**Figura 13.** Clasificación de los artículos seleccionados de acuerdo al tema.

En la anterior figura, se encuentran plasmados los artículos usados para esta investigación, de acuerdo con los criterios seleccionados para tal fin. Se evidencia que el 28% de los artículos (23 artículos) corresponden a documentos que contienen información sobre *Listeria monocytogenes*, siendo esta, una bacteria que cobra importancia a nivel mundial, debido a las patologías que causa, las cuales son transmisibles por medio de los alimentos (se considera una ETA). Los estudios realizados sobre esta bacteria son numerosos ya que es considerada una bacteria zoonótica.

El 27% es equivalente a 22 artículos encontrados sobre bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes*, aunque se han caracterizado y analizado el papel de estos y su especificidad contra esta bacteria, es un área que requiere que mayor estudio e investigación para la realización de pruebas in vivo y el descubrimiento de otros bacteriófagos que asimismo puedan llegar a ser efectivos contra *Listeria monocytogenes* como medida de control y prevención en diferentes áreas como la industria de alimentos y los hatos donde se encuentren los bovinos.

En cuanto a la información encontrada sobre la mastitis, en este compendio pertenece al 22% siendo 18 los artículos seleccionados, la mastitis es una enfermedad de la cual se reportan amplios estudios ya que en el sector ganadero provoca pérdidas económicas a gran escala, por consiguiente, se buscan alternativas eficaces para su control y prevención.

Los artículos seleccionados para esta investigación que hablan sobre bacteriófagos son 16, los cuales representan el 20% de los documentos recaudados. Los bacteriófagos representan una nueva y eficaz alternativa contra la lucha antimicrobiana, esto se debe a su amplia distribución ambiental y la especificidad con la que ataca a sus bacterias diana. En el caso de *Listeria monocytogenes*, la terapia fágica ofrece amplios panoramas para tratar animales, alimentos y superficies en donde se puede encontrar esta bacteria.

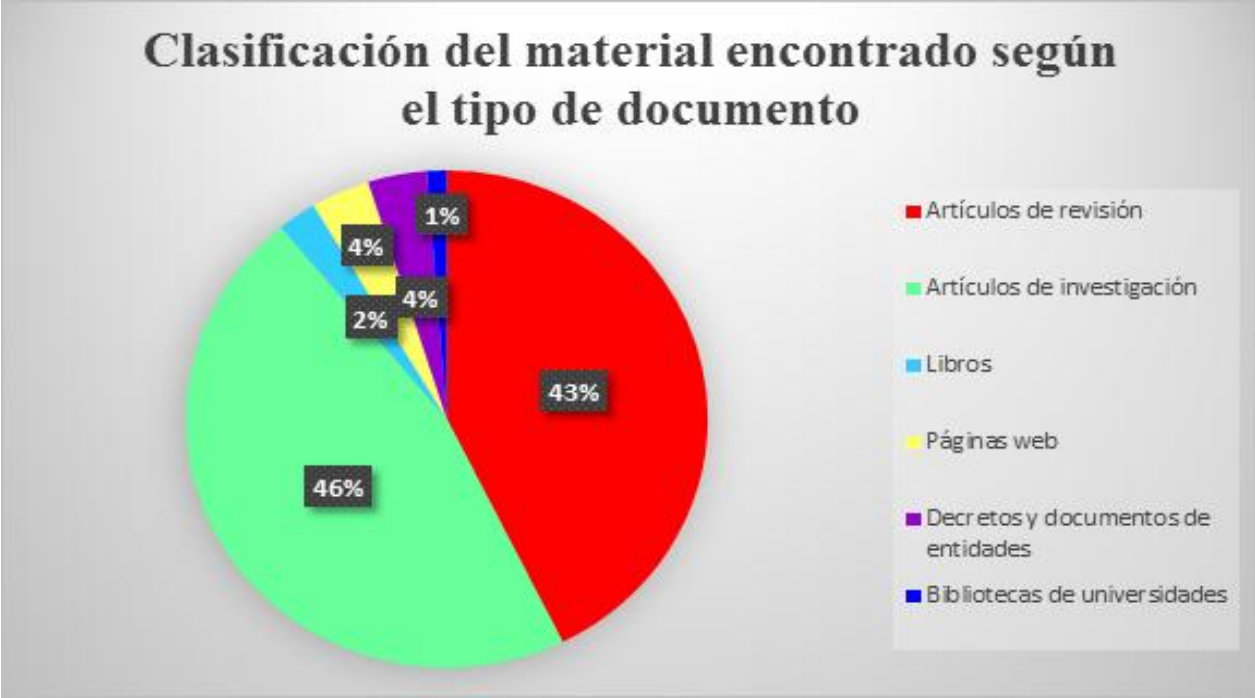
Como ya se ha mencionado en este documento, la mastitis en bovinos es uno de los objetos de esta investigación, por esta razón se seleccionaron 2 artículos sobre rumiantes, los cuales corresponden al 2% de la totalidad de documentos seleccionados. Abordar las generalidades de estos animales es importante a la hora de entender cómo se comporta *Listeria monocytogenes*

cuando causa infección en estos y para poder determinar una terapia fágica adecuada donde no se vean afectados por efectos secundarios los animales posiblemente infectados con dicha bacteria.

La normativa en alimentos encontrada para esta recopilación pertenece al 1% siendo un documento el utilizado, esta información es reducida debido a que en Colombia la listeriosis no se considera como una enfermedad de reporte obligatorio, afectando a un sin número de personas y animales, donde no se lleva a cabo un control riguroso y necesario para la eliminación de *Listeria monocytogenes* que se presenta comúnmente con la transmisión por el consumo de alimentos contaminados y malas prácticas de higiene en los hatos ganaderos.

CLASIFICACION SEGÚN TIPO DE DOCUMENTO			
Tipo de documento	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
Artículos de investigación	38	0,46	46%
Artículos de revisión	35	0,43	43%
Páginas web	3	0,04	4%
Decretos y documentos de entidades	3	0,04	4%
Libros	2	0,02	2%
Biblioteca de universidades	1	0,01	1%
	<b>82</b>	<b>1,00</b>	<b>100%</b>

**Tabla 9.** Clasificación de los artículos seleccionados según el tipo de documento.



**Figura 14.** Clasificación de los artículos seleccionados según el tipo de documento.

En la anterior figura, el 46% corresponde a artículos de investigación, donde se estudian temas como la terapia fágica contra *Listeria monocytogenes*, estos son relevantes para la realización del presente documento, ya que se evidencian estudios actuales de estos fagos, analizando su especificidad y acción contra esta bacteria

El 43% correspondiente a los documentos consultados, es equivalente a los artículos de revisión, donde se recopila información sobre temas como la mastitis en bovinos, bacteriófagos y *Listeria monocytogenes*

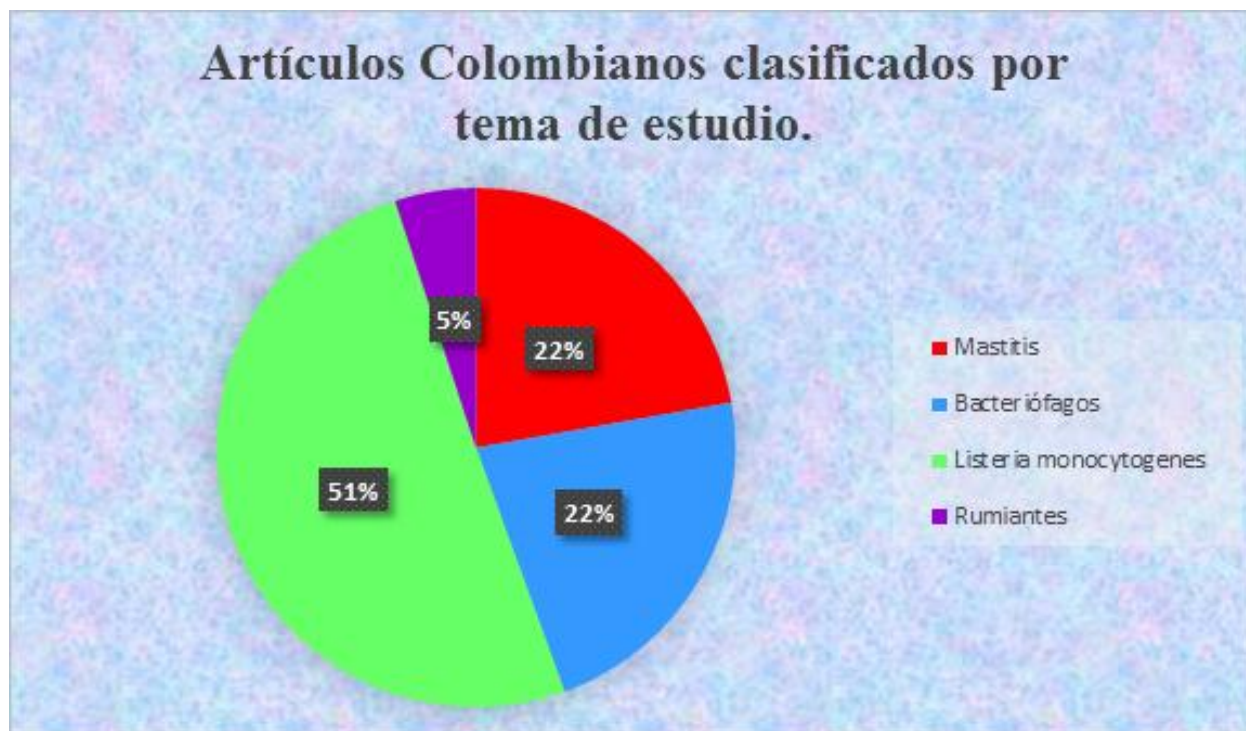
En cuanto a decretos, documentos de entidades y páginas web, corresponden al 4% de la gráfica, estos contienen normas en cuanto a la producción de alimentos en Colombia y el control por parte de entidades públicas contra *Listeria monocytogenes*, las páginas web proporcionan información sobre la mastitis y bacteriófagos aplicados a *Listeria monocytogenes*.

El 2% de la información recopilada corresponde a libros que abarcan temas como la mastitis y los bacteriófagos, relevantes para la revisión bibliográfica

Por último, las bibliotecas de Universidades proporcionan información de interés, imágenes y figuras acordes a los temas investigados para la realización del documento, estas corresponden al 1% de los documentos consultados.

ARTICULOS COLOMBIANOS CLASIFICADOS POR TEMA DE ESTUDIO			
Tema	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	0,50	51%
Bacteriófagos	4	0,22	22%
Mastitis	4	0,22	22%
Rumiantes	1	0,06	5%
	<b>18</b>	<b>1</b>	<b>100%</b>

**Tabla 10.** Artículos realizados en Colombia referentes a temas de estudio relacionados con esta investigación.





**Figura 15.** Artículos realizados en Colombia referentes a temas de estudio relacionados con esta investigación.

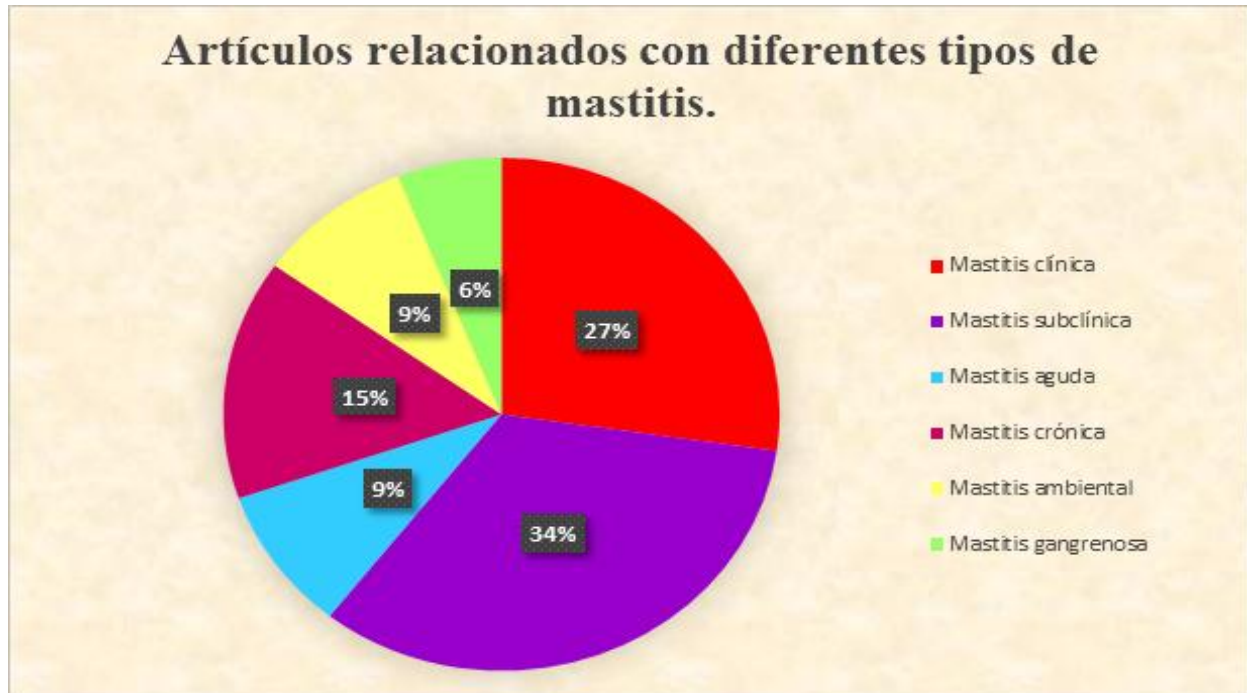
Dentro de los 82 artículos consultados para la realización del presente documento, 18 se realizaron en Colombia, en la anterior gráfica se puede apreciar los temas de estudio de dichos artículos, donde el 50% corresponde a investigaciones referentes a *Listeria monocytogenes*, aunque en Colombia la listeriosis no se considera una enfermedad de reporte obligatorio, a nivel humano se realizan numerosas investigaciones debido a que esta es una bacteria zoonótica que infecta principalmente mujeres embarazadas y en las industrias de alimentos contamina dichos productos convirtiéndose en un problema de salud pública, lamentablemente no se encuentran estudios en cuanto a investigaciones veterinarias en Colombia.

El 22% equivale a investigaciones realizadas en Colombia referentes a mastitis, al ser un país ganadero, esta es una enfermedad que afecta principalmente bovinos generando pérdidas en el sector productivo, sin embargo, estos estudios no se centran específicamente en mastitis causada por *Listeria monocytogenes*. Por otra parte, los bacteriófagos también corresponden a este porcentaje en la gráfica, en Colombia se han realizado revisiones bibliográficas e investigaciones como indicadores fecales, más no se han realizado estudios más específicos que evalúen el potencial que tienen estos virus frente a bacterias como *Listeria monocytogenes*.

El 6% restante corresponde a investigaciones realizadas a rumiantes, en Colombia es primordial conocer estos animales ya que, en el sector pecuario, estos son la principal fuente de producción y de economía.

ARTICULOS RELACIONADOS CON DIFERENTES TIPOS DE MASTITIS			
Tipo de mastitis	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
Mastitis subclínica	11	0,34	34%
Mastitis clínica	9	0,27	27%
Mastitis crónica	5	0,15	15%
Mastitis ambiental	3	0,09	9%
Mastitis aguda	3	0,09	9%
Mastitis gangrenosa	2	0,06	6%
	<b>33</b>	<b>1</b>	<b>100%</b>

**Tabla 11.** Artículos referenciados que mencionan diferentes tipos de mastitis.



**Figura 16.** Artículos referenciados que mencionan diferentes tipos de mastitis.

En la anterior gráfica se evidencia los diferentes tipos de mastitis encontrados en los artículos utilizados para la realización de esta revisión, donde se halla que la mastitis que prevalece mayormente en los bovinos es la subclínica, (34% de los artículos encontrados la mencionan), esta no se detecta a simple vista y los animales no presentan signos notorios, siendo más difícil su diagnóstico y tratamiento. Este tipo de mastitis afecta en su mayoría a los bovinos colombianos, siendo una enfermedad que afecta el sector pecuario.

El 27% corresponde a mastitis clínica, este tipo de mastitis afecta a bovinos, presentando signos visibles, haciendo más fácil su diagnóstico y tratamiento, es menos frecuente que la mastitis subclínica.

El 15% en esta gráfica pertenece a la mastitis crónica, esta va de la mano con la mastitis subclínica ya que estas perduran a lo largo del tiempo, la mastitis crónica puede causar consecuencias irreversibles en los bovinos como la atrofia de la glándula mamaria.

La mastitis ambiental y aguda pertenecen en esta gráfica al 9%, la mastitis aguda se puede detectar a tiempo, sus signos son muy notorios, lo cual evita un estado de cronicidad a futuro,

siendo más fácil de tratar. La mastitis ambiental es causada por microorganismos, fómites, equipos o personal que se encuentran en el ambiente, esta puede cursar con cronicidad siendo difícil de diagnosticar.

Por último, el 5% correspondiente a la gráfica pertenece a la mastitis gangrenosa, un tipo de mastitis grave, poco común, causada por microorganismos que causan daños notorios en la glándula mamaria.

ARTICULOS RELACIONADOS CON MICROORGANISMOS CAUSANTES DE MASTITIS			
Microorganismo	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	0,14	14%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	0,14	14%
<i>Escherichia coli</i>	3	0,14	14%
<i>Streptococcus uberis</i>	2	0,09	9%
<i>Streptococcus dysagalactiae</i>	2	0,09	9%
<i>Mycoplasma bovis</i>	2	0,09	9%
<i>Klebsiella spp.</i>	2	0,09	9%
<i>Corynebacterium bovis</i>	1	0,05	5%
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0,05	5%
<i>Cándida albicans</i>	1	0,05	5%
<i>Clostridium perfringens</i>	1	0,05	5%
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0,05	5%
	<b>22</b>	<b>1,00</b>	<b>100%</b>

**Tabla 12. .** Microorganismos que comúnmente causan cuadros de mastitis.

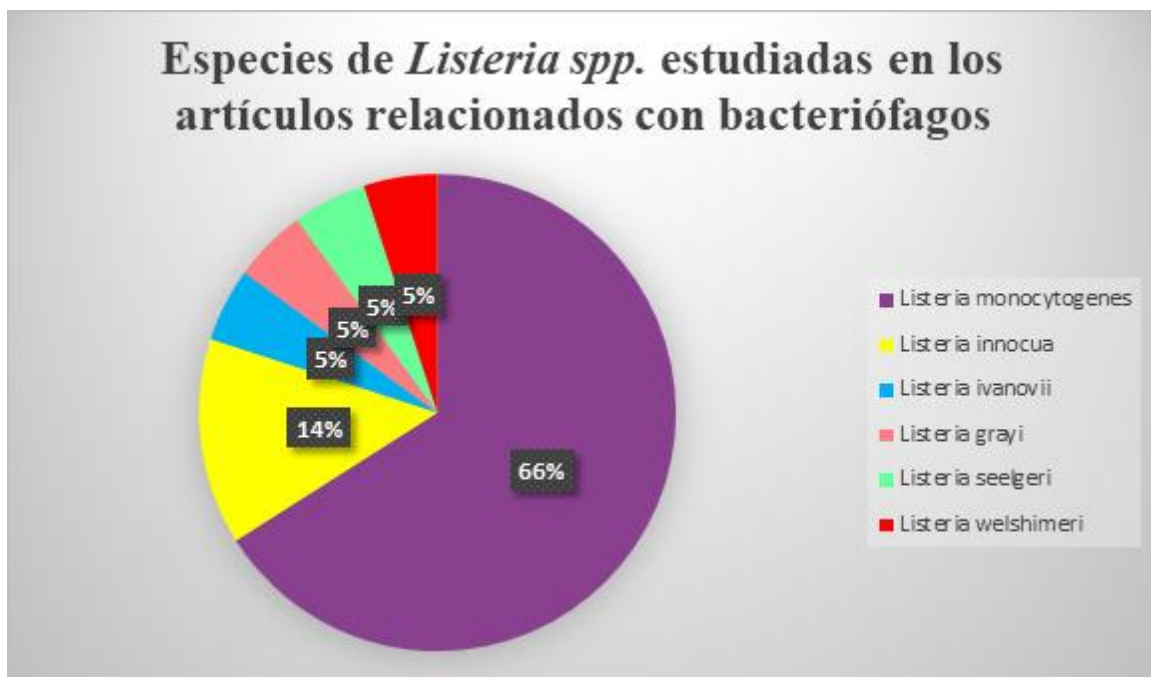


**Figura 17.** Microorganismos que comúnmente causan cuadros de mastitis.

Dentro de los artículos recopilados para esta investigación, se evidenciaron los microorganismos que más se relacionan con cuadros de mastitis. El 14% de esta gráfica corresponde a *Staphylococcus aureus*, es la bacteria que mayormente causa mastitis en bovinos y de la que comúnmente se realizan estudios debido a su importancia clínica y su prevalencia en estos cuadros, seguida a esta con un 14% en la gráfica se encuentran *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*, el 14% corresponde a *Streptococcus uberis*, 9% *Streptococcus dysagalactiae*, 9% *Mycoplasma bovis*, 9% *Klebsiella spp.*, 9% *Corynebacterium bovis*, 5% *Cryptococcus neoformans*, *Cándida albicans* y *Clostridium perfringens*, posteriormente con el 5% perteneciente a esta gráfica se encuentra *Listeria monocytogenes*, se evidencia un reducido porcentaje de diversos estudios que involucren a esta bacteria en cuadros de mastitis.

CLASIFICACION DE ARTICULOS SEGÚN EL TIPO DE <i>LISTERIA SPP.</i>			
Tipo de <i>Listeria spp.</i>	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
<i>Listeria monocytogenes</i>	15	0,66	66%
<i>Listeria ivanovii</i>	3	0,14	14%
<i>Listeria innocua,</i>	1	0,05	5%
<i>Listeria grayi,</i>	1	0,05	5%
<i>Listeria seelgeri</i>	1	0,05	5%
<i>Listeria welshimeri</i>	1	0,05	5%
	<b>22</b>	<b>1</b>	<b>100%</b>

**Tabla 13.** Especies de *Listeria spp.* Estudiadas en los artículos recopilados para la realización de esta investigación.



**Figura 18.** Especies de *Listeria spp.* estudiadas en los artículos recopilados para la realización de esta investigación.

De los 22 artículos escogidos como muestra, relacionados con bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes*, se encontró que la especie de *Listeria* que más se analiza en estos es *Listeria monocytogenes* con 15 artículos (68%), ya que esta es una especie patógena en animales y humanos, causando la listeriosis, una enfermedad grave que pone en riesgo la vida. Posterior a esta especie se encuentra *Listeria ivanovii* donde son 3 los artículos que se recopilaron para la realización de este documento (14%), finalmente las especies menos estudiadas son *Listeria innocua*, *Listeria grayi*, *Listeria seelgeri* y *Listeria welshimeri*, se encontró 1 artículo donde se realizaba investigaciones para estas mismas (5%)

BACTERIÓFAGOS MÁS USADOS CONTRA <i>LISTERIA SPP</i>			
Bacteriófago	Número de artículos	Frecuencia absoluta	Porcentaje
P100	9	0,41	41%
A511	4	0,18	18%
A118	2	0,09	9%
P35	2	0,09	9%
PSA	2	0,09	9%
FWLLM1	2	0,09	9%
FWLLM3	1	0,05	5%
	<b>22</b>	<b>1,00</b>	<b>100%</b>

**Tabla 14.** . Bacteriófagos más usados contra *Listeria spp.* en los artículos consultados para la elaboración del presente documento.



**Figura 19.** Bacteriófagos más usados contra *Listeria spp.* en los artículos consultados para la elaboración del presente documento.

En la anterior gráfica, se ven reflejados los bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes* que más se usaron en los 22 artículos que se tomaron como muestra. El fago más usado es el P100, 9 artículos (41%) realizan investigaciones sobre este, siendo uno de los más importantes y usados en la industria de alimentos.

En segundo lugar, se encuentra el fago A511, donde 4 artículos lo mencionan.

Seguido de este, se encuentran los bacteriófagos A118, P35, PSA y FWLLM1, 2 artículos mencionan a cada uno de estos, sin embargo, se han realizado reducidas investigaciones para los mismos.

Por último, solamente en 1 artículo se encontraba mencionado el bacteriófago FWLLM3 (5%)

Nombre del artículo recopilado	País o países en donde se realizó
Virulent Bacteriophage for Efficient Biocontrol of <i>Listeria monocytogenes</i> in Ready-To-Eat Foods. Applied and Environmental Microbiology	Suiza
Efficacy of bacteriophage LISTEX(TM)P100 combined with chemical antimicrobials in reducing <i>Listeria monocytogenes</i> in cooked turkey and roast beef.	Canadá
Phage Display-Derived Binders Able to Distinguish <i>Listeria monocytogenes</i> from Other <i>Listeria</i> Species.	Malasia
Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against <i>Listeria monocytogenes</i> .	USA
Biocontrol of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in Meat by Using Phages Immobilized on Modified Cellulose Membranes.	Canadá
Use of Bacteriophages to Control <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in Domestic Ruminants, Meat Products, and Fruits and Vegetables.	China



Receptor binding proteins of <i>Listeria monocytogenes</i> bacteriophages A118 and P35 recognize serovar-specific teichoic acids.	Suiza
Inhibition of multidrug resistant <i>Listeria monocytogenes</i> by peptides isolated from combinatorial phage display libraries.	Eslovaquia
<i>Listeria monocytogenes</i> : A Target for Bacteriophage Biocontrol.	Sudáfrica
Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against <i>Listeria monocytogenes</i> in ready-to-eat sliced pork ham.	Brazil
Phage Inactivation of <i>Listeria monocytogenes</i> on San Daniele Dry-Cured Ham and Elimination of Biofilms from Equipment and Working Environments.	Italia
Control of <i>Listeria monocytogenes</i> growth in soft cheeses by bacteriophage P100.	Brazil
Influence of Environmental Factors on Phage–Bacteria Interaction and on the Efficacy and Infectivity of Phage P100	Austria
Preliminary investigation of bacteriophage lysis of physiologically stressed <i>Listeria monocytogenes</i> in seafood processing environments.	Nueva Zelanda, Australia y Reino Unido

<i>Listeria</i> phages.	Suiza
Isolation and Characterization of <i>Listeria</i> phages for Control of Growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in Milk.	Korea
Comparative Genome Analysis of <i>Listeria</i> Bacteriophages Reveals Extensive Mosaicism, Programmed Translational Frameshifting, and a Novel Prophage Insertion Site.	Alemania, USA y Suiza
Genome and proteome of <i>Listeria monocytogenes</i> phage PSA: an unusual case for programmed + 1 translational frameshifting in structural protein synthesis.	Alemania, USA y Suiza
The Terminally Redundant, Nonpermuted Genome of <i>Listeria</i> Bacteriophage A511: a Model for the SPO1-Like Myoviruses of Gram-Positive Bacteria.	Alemania, USA y Suiza
Complete nucleotide sequence, molecular analysis and genome structure of bacteriophage A118 of <i>Listeria monocytogenes</i> : implications for phage evolution	Alemania y USA
Intralytix, Inc. ListShield™ Phage Preparation Effective Against <i>Listeria monocytogenes</i>	USA

Listeriaphages and coagulin C23 act synergistically to kill <i>Listeria monocytogenes</i> in milk under refrigeration conditions.	España y Nueva Zelanda
---	------------------------

**Tabla 15.** Países que han realizado investigaciones acerca de bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes*.

Dentro de los 22 artículos escogidos como muestra referentes al uso de bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes*, los países que lideran su investigación son Suiza y Estados Unidos con 6 artículos de investigación cada uno, seguidos de Alemania el cual posee 4 artículos de investigación en esta consulta, Canadá, Brazil y Nueva Zelanda se encuentran con 2 artículos por cada país, por último Malasia, China, Eslovaquia, Italia, Sudáfrica, Australia, Austria, Korea, España y el Reino Unido cuentan con 1 artículo dentro de esta investigación.

Bacteriófago	Lítico/Lisogénico
LMP1	Lítico
LMP7	Lítico
P35	Lítico
P40	Lítico
P100	Lítico

PSA	Lítico
A511	Lítico
A118	Lítico
FWLLm1	Lítico
FWLLm3	Lítico
LMP-102	Lítico

**Tabla 16.** Bacteriófagos más usados contra *Listeria monocytogenes*, clasificados por su tipo de acción, morfología y material genético.

## 5. Discusión

La mastitis es la enfermedad con más relevancia en el sector lechero en Colombia y en el mundo. Esta enfermedad genera pérdidas económicas a gran escala cuando la infección se disemina a través de diversos mecanismos, por lo que detener su proliferación es vital para la producción. *Listeria monocytogenes* es una bacteria que se establece en el suelo y se encuentra constantemente relacionada con la presentación subclínica de la enfermedad, por lo que los tratamientos profilácticos no son suficientes para controlar los brotes de infección; la aplicación de bacteriófagos para este tipo de situaciones es sumamente prometedora, sin embargo, su implementación in vivo no ha demostrado mayores avances debido a las interferencias que pueden presentarse durante su uso.

En el estudio realizado por Lili W<sup>7</sup> et al, donde se evaluó la aplicación de fagos para *Escherichia coli* vía rectal y oral directamente sobre bovinos, se determinó que en efecto se

presentó disminución de la carga bacteriana, sin embargo, para que esta terapia sea realmente aplicable, es decir, los valores de reducción sean significativos es necesario desarrollar la combinación de fagos y suministrarlos en conjunto o pool para ampliar el espectro de actividad y fortalecer la especificidad sobre la bacteria objetivo. Asimismo, es indispensable identificar los efectos ambientales que puedan interferir con la terapia, en este estudio se identificó que los bacteriófagos usados se ven afectados a pH bajos, esto hace necesario reevaluar la ruta de ingreso del tratamiento ya que la vía oral requiere del paso por los ácidos estomacales del animal, anulando entonces la función del virus, es posible establecer que se proteja o recubra con sustancias que actúan como coadyuvantes para mantener su capacidad infectiva.<sup>7</sup> Un caso similar ocurrió con el estudio de Gómez F et al<sup>26</sup> los autores utilizaron bacteriófagos para tratar infecciones causadas por estafilococos, se sometieron los virus a la glándula mamaria en donde la leche y otro tipo de secreciones de la ubre degradaron estos fagos, adicionalmente se encontró que otro tipo de bacteriófagos fueron efectivos contra *Staphylococcus aureus*; estos poseen la capacidad de romper biopelículas, su efectividad se vio develada a partir de la exposición a estrés en condiciones de laboratorio. Los resultados de este estudio apuntan a futuros experimentos que sobrepasen dichas limitaciones estudiando a profundidad la interacción con el hospedero, es decir las proteínas que desencadenan su respuesta inmune<sup>26</sup>.

A pesar de la negativa y los resultados no esperados de la terapia fágica con virus infectivos en bovinos, los autores Flachbartovaa A, et al<sup>23</sup> proponen la posibilidad de aplicar no solo bacteriófagos, sino también péptidos o derivados que puedan sobrevivir a los limitantes que se han señalado. Los péptidos usados se combinaron para lograr inhibir la carga bacteriana de *Listeria monocytogenes* sin causar efectos citotóxicos sobre las células eucariotas sometidas a estudio, esto requiere de gran desarrollo investigativo ya que para poder encontrar péptidos que coincidan con respecto a su afinidad, es necesaria la aplicación de herramientas de bioinformática que serán en primera instancia las actividades que orienten la investigación y permitan desplegar la búsqueda de péptidos.<sup>23</sup>

Strydom A, et al<sup>24</sup> confirmaron la efectividad de los bacteriófagos para el control de *Listeria monocytogenes* en alimentos sin alterar las condiciones del mismo, en esta investigación se hace referencia a que los tiempos de incubación, el tipo de alimentos y la siembra de las bacterias blanco en medios selectivos, son factores determinantes para establecer la viabilidad del control

y disminuir la cantidad de bacterias significativamente, los autores comprobaron que la mayor disminución se presentó en productos líquidos, esto puede deberse, según los investigadores, a la difusión lograda en este tipo de producto donde los bacteriófagos tienen la posibilidad de ligarse con las bacterias presentes en toda la muestra.<sup>24</sup>

Considerando la vasta literatura que se encuentra acerca de la aplicación de bacteriófagos sobre alimentos listos para el consumo o Ready-To-Eat se establecieron algunas pautas para el uso de estos virus, el artículo de Chibeu A, et al,<sup>3</sup> en el cual se dispone que el uso de Listex P100 no presenta resistencia en ninguno de los alimentos en los que se aplicó aunque éstos hubiesen sido sometidos a terapia con otro tipo de bacteriófagos, los autores proponen que esto puede deberse a que en circunstancias reales puede que los virus no tengan contacto con la totalidad de la superficie del alimento debido a su composición u otros factores interferentes como pH, cantidad de fagos aplicados, entre otros, en este artículo a su vez, se implementó el uso de antimicrobianos para alimentos como el lactato de potasio (PL) y diacetato de sodio (SD), estos componentes pueden ayudar a potencializar la actividad de los bacteriófagos por lo que es importante aprovechar la versatilidad de estos virus para la aplicación de tratamientos mixtos que sean más efectivos que el uso de bacteriofagos por si solos.<sup>3</sup>

Además de la actividad antimicrobiana, la especificidad es una de las cualidades más importantes que presentan los fagos, esto es resaltado en el estudio de Morton J, et al,<sup>4</sup> los investigadores implementaron técnicas combinadas como biopanning que consiste en la selección de objetos de estudio a partir de la unión de estos con péptidos específicos expresados por clones de fagos a los cuales se les determinó inicialmente su capacidad para ligarse con especies de *Listeria spp.* in silico, el desarrollo experimental de esta investigación permitió establecer bacteriófagos que podían unirse a *Listeria monocytogenes* y sus serotipos patológicos, por lo que esta herramienta abre las posibilidades de realizar un diagnóstico certero que permita el despliegue de opciones de tratamiento eficazmente; los investigadores resaltaron el inconveniente de la no diferenciación de *Listeria innocua* de algunos serotipos de *Listeria monocytogenes* por lo que se resalta la necesidad de hacer estudios mucho más centrados en la búsqueda de clones con altísima afinidad usando como apoyo herramientas de bioinformática que permitan comparar secuencias de

proteínas de unión entre varios virus y de esta manera exponer las especies de importancia clínica<sup>4</sup>.

Bielmann R, et al,<sup>8</sup> exponen en su investigación que no se ha logrado comprender en su totalidad la interacción de los fagos con bacterias Gram positivas, se pretende establecer el mecanismo por el cual los bacteriófagos A118 y P35 podían ligarse a *Listeria monocytogenes* por lo que se identificó la función de proteínas que presentaban homología en estos fagos, dichas proteínas muestran afinidad por sacáridos adheridos a los ácidos teicoicos presentes en la pared de *Listeria monocytogenes*, estos sacáridos ramnosa y N-acetylglucosamina son fundamentales para la unión e invasión de la bacteria.<sup>8</sup>

Diversas técnicas se encuentran a la vanguardia con el fin de continuar con el estudio y aplicación de alternativas frente a bacterias de importancia clínica y microorganismos multirresistentes por lo que es necesario identificar diversos factores que promueven la infección ya que a pesar de las técnicas que se deseen aplicar, el diagnóstico cumple con el papel fundamental en la aplicación de cualquier tratamiento, Gallego M, et al<sup>32</sup> propone la utilización de técnicas inmunológicas además de las técnicas recurrentes aplicadas directamente sobre la leche, para el diagnóstico de casos subclínicos, los inmunoensayos presentan mayor sensibilidad y afinidad por lo que aplicarlas para realizar la detección de estos focos de infección permite la instauración de medidas de control ágilmente, adicionalmente se indica realizar un análisis al historial reproductivo del animal con el fin de identificar casos asociados a la presencia de *Listeria spp.* en alguna etapa de la vida del ejemplar, un indicio de esto son los abortos, en donde los autores establecieron una relación estadística entre el padecimiento de estos con listeriosis, sin embargo la articulación de esta relación no se ha visto desarrollada, los investigadores sugieren una alteración relevante en los niveles hormonales del animal durante la gestación, la deficiencia o disminución en la expresión de hemo- oxigenasa 1 en las células de trofoblasto,<sup>32</sup> importantes para la protección del embrión, en las cuales esta molécula puede interferir en funciones de señalización, estímulo para el sistema nervioso y vasodilatación.

Cooper I.<sup>22</sup> establecen en su revisión la viabilidad de la aplicación de bacteriófagos directamente sobre el animal exponiendo diversas técnicas de entrega, estas técnicas presentan las mismas limitaciones que se han establecido por varios autores sin embargo en esta revisión se determinan

otras rutas de administración para disminuir los efectos adversos ,el autor plantea que existe un gran potencial para aislar bacteriófagos líticos directamente del animal que no solo tienen actividad sobre los microorganismos que posee el animal sino que se pueden utilizar para tratar infecciones en otros animales.

La detección de mastitis subclínica no tiene como finalidad únicamente evitar las pérdidas económicas en la producción, sino también evitar que microorganismos que tengan la capacidad de afectar seres humanos como es el caso de *Listeria monocytogenes*, en la investigación de Forero Y, et al<sup>33</sup> se expone que es el microorganismo más aislado en los alimentos de colegios a nivel nacional, esto es un indicador de fallas en la manipulación en la cadena de producción,<sup>33</sup> es importante lograr disminuir la contaminación detectando el microorganismo desde la fuente, evitando la aparición de casos de ETAS o afecciones en población susceptible.

## 6. Conclusiones

- La investigación de la literatura permitió establecer que el padecimiento de mastitis es el problema que más aqueja a la industria lechera bovina a nivel mundial, los casos subclínicos son puntualmente los que más costos demandan con respecto a su detección y a la pérdida de producto durante periodos de tiempo prolongado, además de su culminación en atrofia del tejido secretor del animal, diversos factores predisponen su aparición, sin embargo las prácticas de ordeño son determinantes en la diseminación de la infección.
- La aplicación de la terapia con fagos sobre *Listeria monocytogenes* se ha visto ampliamente desarrollada e incluso los productos elaborados comercialmente son viables para la aplicación en productos alimenticios. Sin embargo, es importante ampliar el campo de investigación para lograr su implementación en animales y posteriormente en la industria médica, aprovechando su especificidad. Es necesario analizar previamente la interacción fagos - hospedero eucariota, para que factores ambientales como pH,



temperatura, entre otras, no interfieran en la obtención de los resultados que implican la detección, reducción y eliminación de bacterias.

- Los reportes de casos de *Listeria monocytogenes* en seres humanos y animales en Colombia no son obligatorios, por lo que además de las falencias en los tratamientos, el control de las infecciones causadas por este microorganismo está supeditado a la clínica, esto representa un problema de salud pública ya que al desconocer los casos, los focos de infección no son detectados y los brotes en animales y humanos son aleatorios y de poco manejo, siendo la población susceptible la más afectada por la falta de regulación. Este tipo de situaciones promueve el desarrollo de resistencia adquirida debido a que generalmente los tratamientos aplicados no son los adecuados o se han dosificado previamente, permitiéndole al microorganismo desarrollar sistemas de resistencia al medicamento expuesto.
- En Colombia, la investigación encaminada hacia el uso de bacteriófagos contra *Listeria monocytogenes* es nula, dichos estudios se realizan en países potencia como Estados Unidos, Suiza, Alemania, donde la terapia fágica ha cobrado relevancia durante los últimos años, siendo no sólo para su uso en el ámbito clínico o humano sino también en la industria alimentaria.

## 7. Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios a profundidad donde se evalúe la especificidad de los bacteriófagos LMP1 y LMP7 para el control de *Listeria monocytogenes*

Se recomienda realizar estudios a profundidad donde se evalúe la especificidad de los bacteriófagos para el control de *Listeria monocytogenes*, in vivo en bovinos, donde se suministren para el control de mastitis subclínica causada por *Listeria monocytogenes* y se evalúe la respuesta inmune del animal, la interacción del bacteriófago y las condiciones ambientales de la zona en donde se suministre (oral, rectal, aerosoles) con el fin de evitar que la actividad infectiva del bacteriófago se vea disminuida a causa de esas limitantes y conocer sustancias que en dado caso que lo requiera permitan el transporte del virus al sistema u órgano diana sin generar efectos nocivos en las células eucariotas.

Se recomienda abarcar estudios que contemplen usos alternos de los bacteriófagos como marcadores, detectores, transportadores de material genético entre otros que permitan una acción completa sobre el microorganismo a tratar, incluso dirigiéndose acciones de tipo preventivo.

## Referencias bibliográficas

- <sup>1</sup> Segundo N, Hernández E, López O, Torres O. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia) Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas vol. 41, et al. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas ISSN: 1870-0195 Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C. México. [Internet]. 2010. [Citado el: 2018 abril 28]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/579/57916078003/>
- <sup>2</sup> Guenther S, Huwyler D, Richard S, Loessner M. Virulent Bacteriophage for Efficient Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods. Applied and Environmental Microbiology 2009 Jan 1,;75(1):93-100. [Internet]. 2008. [Cited: 2018 april 2018]. Available in: <http://aem.asm.org/content/75/1/93.full.pdf+html>
- <sup>3</sup> Chibeu A, Agius L, Gao A, Sabour P, Kropinski A, et al. Efficacy of bacteriophage LISTEX(TM)P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turkey and roast beef. International Journal of Food Microbiology 2013 Oct 1,;167(2):208-214. [Internet]. 2013. [Cited: 2018 may 02]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160513003929>
- <sup>4</sup> Morton J, Karoonuthaisiri N, Charlermroj R, Stewart L, Christopher T. et al. Phage Display-Derived Binders Able to Distinguish *Listeria monocytogenes* from Other *Listeria* Species. [Internet]. 2013. [Cited: 2018 may 02]. Available in: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0074312&type=printable>
- <sup>5</sup> Akhtar M, Viazis S, Christensen K, Kraemer P, Diez-Gonzalez F. Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. Food Control 2017 May;75:108-115. [Internet]. 2016. [Cited: 2018 may 02]. Available in: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516307253>
- <sup>6</sup> Anany H, Chen W, Pelton R, Griffiths M. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in Meat by Using Phages Immobilized on Modified Cellulose

Membranes. Applied and Environmental Microbiology 2011 Sep 15,;77(18):6379. [Internet]. 2011. [Cited: 2018 may 02]. Available in:<http://aem.asm.org/content/77/18/6379.full.pdf+html>

<sup>7</sup>Lili W, Kunli Q, Xiaoyu L, Zhenhui C, Xitao W, et al. Use of Bacteriophages to Control *Escherichia coli* O157:H7 in Domestic Ruminants, Meat Products, and Fruits and Vegetables. [Internet]. 2016. [Cited: 2018 may 03]. Available in: <https://sci-hub.tw/https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/fpd.2016.2266>

<sup>8</sup>Bielmann R, Habann M, Eugster M, Lurz R, Calendar R, Klumpp J, et al. Receptor binding proteins of *Listeria monocytogenes* bacteriophages A118 and P35 recognize serovar-specific teichoic acids. Virology 2014;477:110-118. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 may 03]. Available in: [https://ac.els-cdn.com/S0042682214005844/1-s2.0-S0042682214005844-main.pdf?\\_tid=f06c1f50-9ef0-493a-9924-4a45c5bbe908&acdnat=1525398426\\_02153271bb73f08c87357a07fc19cffb](https://ac.els-cdn.com/S0042682214005844/1-s2.0-S0042682214005844-main.pdf?_tid=f06c1f50-9ef0-493a-9924-4a45c5bbe908&acdnat=1525398426_02153271bb73f08c87357a07fc19cffb)

<sup>9</sup>Gasque R. UNAM. Mastitis bovina. Enciclopedia bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1 ed. [Internet]. México: UNAM; 2008. [Citado el: 2018 julio 13]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/55407879/Enciclopedia-Bovina-UNAM>

<sup>10</sup>Calvinho L. Diagnóstico bacteriológico de mastitis y su importancia en los programas de control. [Internet]. [Citado el: 2018 julio 13]. Disponible en: [http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/diagnostico\\_de\\_mastitis.htm.pdf](http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/diagnostico_de_mastitis.htm.pdf)

<sup>11</sup>Ministerio de agricultura, DANE. La mastitis bovina, enfermedad infecciosa de gran impacto en la producción lechera. [Internet]. 2014. [Citado el: 2018 julio 13]. Disponible en: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos\\_factores\\_de\\_produccion\\_ago\\_2014.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_ago_2014.pdf)

- <sup>12</sup>Chaves J. Mastitis bovina: su control y prevención es una tarea permanente. [Internet]. [Citado el: 2018 agosto 25]. Disponible en: [http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis\\_bobina.htm.pdf](http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis_bobina.htm.pdf)
- <sup>13</sup>Fernández O, Trujillo J, Peña J, Cerquera J, Granja Y. Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. [Internet]. 2012. [Citado el: 2018 agosto 25]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111112/111202.pdf>
- <sup>14</sup>Chaves C, Vallejo D, Astaíza J, Benavides C, Chaves F. Hallazgos histopatológicos en la glándula mamaria de bovinos diagnosticados con mastitis clínica en la planta de beneficio del municipio de Ipiales, Colombia. [Internet]. 2017. [Citado del: 2018 septiembre 13]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n33/0122-9354-rmv-33-00043.pdf>
- <sup>15</sup>Santivañez C, Gómez O, Cárdenas L, Escobedo M, Bustinza R, et al. Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. [Internet]. 2013. [Citado el: 2018 septiembre 16]. Disponible en: <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v7n2a07c.pdf>
- <sup>16</sup>Giannechini R, Concha C, Delucci I, Gil J, Salvarrey L, et al. Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. [Internet]. 2014. [Citado el: 2018 septiembre 16]. Disponible en: <http://www.revistasmvu.com.uy/component/content/article/74-cientificos/266-cientifico-mastitis-bovina-reconocimiento-de-los-patogenos-y-su-resistencia-antimicrobiana-en-la-cuenca-lechera-del-sur-de-uruguay.html>
- <sup>17</sup>López J. Mastitis bovina: patogenia y manifestaciones clínicas. [Internet]. 2014. [Citado el: 2018 septiembre 17]. Disponible en: <http://cienciaveterinaria.com/mamitis-bovina-patogenia-y-manifestaciones-clinicas/>

- <sup>18</sup>Thompson K, Atalla H, Miglior F, Mallard B. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. [Internet]. 2014. [Cited: 2018 septiembre 17]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4188034/>
- <sup>19</sup>Ley de Coos A, Peralta M, Aguirre J, Marroquín F, Lerma J, et al. Los virus bacteriófagos en la industria ganadera bovina. [Internet]. [Citado el: 2018 septiembre 17]. Disponible en: [http://www.colpos.mx/wb\\_pdf/Agroproductividad/2013/Agroproductividad%20VI%202013.pdf#page=53](http://www.colpos.mx/wb_pdf/Agroproductividad/2013/Agroproductividad%20VI%202013.pdf#page=53)
- <sup>20</sup>Prada C, Holguín A, González A, Vives M. Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 septiembre 17]. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/8410>
- <sup>21</sup>Wang J, Niu Y, Chen J, Anany H, Ackermann H, et al. Feces of feedlot cattle contain a diversity of bacteriophages that lyse non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 september 18]. Available in: <http://sci-hub.tw/http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.1139/cjm-2015-0163>
- <sup>22</sup>Cooper I. A review of current methods using bacteriophages in live animals, food and animal products intended for human consumption. [Internet]. 2016. [Cited: 2018 september 18]. Available in: <http://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016770121630210X>
- <sup>23</sup>Flachbartovaa A, Pulzovaa L, Bencurovaa E, Potocnakovaa L, Comor L, et al. Inhibition of multidrug resistant *Listeria monocytogenes* by peptides isolated from combinatorial phage display libraries. [Internet]. 2016. [Cited: 2018 september 18]. Available in: <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501316301653>

- <sup>24</sup>.Strydom A, Witthuhn C. *Listeria monocytogenes*: A Target for Bacteriophage Biocontrol. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 september 19]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12153>
- <sup>25</sup>.Teixeira P, Rodrigues D, Romeu M, Azeredo J. O impacto de biofilmes microbianos na higiene e segurança alimentar. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: [https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/35326/1/document\\_21040\\_1.pdf](https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/35326/1/document_21040_1.pdf)
- <sup>26</sup>.Gomes F, Henriques F. Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 september 19]. Available in: <https://scihub.tw/https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-015-0958-8>
- <sup>27</sup>.Villamizar R, Ortiz O, Darghan E. Metodología rápida y sencilla para la determinación de colifagos somáticos como indicadores de contaminación fecal en una planta de tratamiento de agua localizada al noreste colombiano. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0124-71072015000100006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072015000100006)
- <sup>28</sup>.Pinilla C, Cárdenas M, Guerrero A. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferentes tipos de aguas de la sabana de Bogotá (Colombia). [Internet]. 2008. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/499/49913201/>
- <sup>29</sup>.The center for food security & public health. Listeriosis. [Internet]. 2007. [Cited: 2018 september 19]. Available in: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/listeriosis-es.pdf>
- <sup>30</sup>.Ribeiro L, Machado F, Campos M, Guimaraes R, Tomich T, et al. Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 september 19]. Available in: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902015000200003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902015000200003)

- <sup>31</sup>.Brown M, Muniesa M, Navarro F. Bacteriophages in clinical samples can interfere with microbiological diagnostic tools. [Internet]. 2016. [Cited: 2018 september 19]. Available in: <https://www.nature.com/articles/srep33000.pdf>
- <sup>32</sup>.Gallego M, Azumendi J, Salazar S, Gallego C. Influencia de la listeriosis en la fertilidad y presentación de mastitis subclínica en un conglomerado lechero de la sabana de Bogotá, Colombia. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012342262015000200014&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012342262015000200014&script=sci_arttext&tlng=en)
- <sup>33</sup>.Forero Y, Galindo M, Ramírez G. Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. [Internet]. 2017. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182017000400325&script=sci\\_arttext](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182017000400325&script=sci_arttext)
- <sup>34</sup>.Dhama K, Karthik K, Tiwari R, Zubair M, Barbuddhe S, et al. Listeriosis in animals, it's public health significance (food-borne zoonosis) and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. [Internet]. 2015. [Cited: 2018 september 19]. Available in: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01652176.2015.1063023#aHR0cHM6Ly93d3cudGFuZGZvbmxpbmUuY29tL2RvaS9wZGYvMTAuMTA4MC8wMTY1MjE3Ni4yMDE1LjEwNjMwMjM/bmVIZEFjY2Vzcz10cnVlQEBAMA==>
- <sup>35</sup>.Vélez J, Dávila F. Listeriosis neonatal en Colombia... ¿Igual que hace veinte años? [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 septiembre 19]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-72732015000200014](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732015000200014)
- <sup>36</sup>.Instituto Nacional de Salud. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco en Colombia. [Internet]. 2011. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>



37. The center for food security y public health. Control de la transmisión de enfermedades por contacto directo para ganaderos y productores lácteos. [Internet]. [Cited: 2019 febrero 11]. Available n:  
[http://www.cfsph.iastate.edu/BRMForProducers/Spanish/RouteSpecificInformation/S\\_direct\\_contact\\_control.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/BRMForProducers/Spanish/RouteSpecificInformation/S_direct_contact_control.pdf)
38. Departamento de información bibliográfica, Universidad Autónoma De Aguascalientes. [Internet]. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible en:  
<http://biblioteca.uaa.mx/index.php/component/joomgallery/2-patologia-sistemica/212-patologia-glandula-mamaria-vaca?page=2>
39. Schlemper V, De Mello S, Sousa D. Efecto inhibitorio de extractos de corteza de Persea cordata Mez. (pau-andrade) contra Clostridium perfringens causa de mastitis gangrenosa. [Internet]. 2016. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible en:  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2016/cpm164k.pdf>
40. Wahab A, Chaudhary S, Ahmad A, Kollu V, Smith S. A life- devastating cause of gastroenteritis in an immunocompetent host: was it suspected? [Internet]. 2017. [Cited: 2019 febrero 11]. Available in:  
[http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Listerias\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Listerias_Medicine2010.pdf)
41. Bedolla C. Etiología de la mastitis bovina. [Internet]. 2017. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
[http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/128-Etiologia.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/128-Etiologia.pdf)
42. Calderón A, Rodríguez V. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). [Internet]. 2008. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902008000400006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902008000400006)

- <sup>43</sup>Figueiredo A, Almeida R. Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. [Internet]. 2017. [Cited: 2019 february 13]. Available in:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5628297/>
- <sup>44</sup>Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo. *Listeria monocytogenes*. [Internet]. 2016. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Listeria%20monocytogenes%202017.pdf>
- <sup>45</sup>Área Soporte al Análisis de Riesgo. *Listeria monocytogenes*. [Internet]. 2017. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en: <https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/03/Ficha-Peligro-04-Listeria-v01.pdf>
- <sup>46</sup>Callejo R, Prieto M, Martínez C, Aguerre L, Rocca F, et al. Aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. [Internet]. 2008. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
[http://www.bvs.panalimentos.org/local/File/Manual\\_Listeria\\_monocytogenes\\_2008.pdf](http://www.bvs.panalimentos.org/local/File/Manual_Listeria_monocytogenes_2008.pdf)
- <sup>47</sup>Dramsi S, Cossart P. Listeriolysin O, a genuine cytolysin optimized for an intracellular parasite. [Internet]. 2002. [Cited: 2018 october 24]. Available in:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2173465/>
- <sup>48</sup>Gallego C, Gallego M, Azumendi J, Paipa J, Jaramillo D. Desarrollo de la técnica de interferón gamma para la detección de bovinos infectados con *Listeria monocytogenes*. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v18n1/v18n1a19.pdf>
- <sup>49</sup>Fernández E. Listeriosis. [Internet]. 2006. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
[http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/comun\\_varias\\_especies/11-listeriosis.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/comun_varias_especies/11-listeriosis.pdf)

- <sup>50</sup> Vet-UY agro y veterinaria. Listeriosis. [Internet]. 2004. [Citado el: 2018 octubre 24].  
Disponible en:  
[http://www.veterinaria.org/asociaciones/vetuy/articulos/artic\\_bov/084/bov084.htm](http://www.veterinaria.org/asociaciones/vetuy/articulos/artic_bov/084/bov084.htm)
- <sup>51</sup> Gómez M, Vives M. Bacteriófagos: virus de bacterias que curan infecciones. [Internet]. 2009.  
[Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<http://hipotesis.uniandes.edu.co/hipotesis/images/stories/ed10pdf/Bacteriofagos.pdf>
- <sup>52</sup> Mayer G. Bacteriófagos. [Internet]. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<http://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter7.htm>
- <sup>53</sup> Benadof D. *Listeria monocytogenes*. [Internet]. 2008. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible  
en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v25n5/art05.pdf>
- <sup>54</sup> Soto Z, Pérez L, Estrada D. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos:  
una mirada en Colombia. [Internet]. 2015. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/viewArticle/7333/8889>
- <sup>55</sup> Muñoz A. Distribución de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos,  
Colombia, 2000-2009 [Internet]. 2012. [Citado el: 2018 octubre 24]. Disponible en:  
<https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/709/1731>,
- <sup>56</sup> Ministerio de Salud. Decreto 3075 de 1997. [Internet]. 1997. [Citado el: 2018 octubre 24].  
Disponible en: [https://www.invima.gov.co/images/stories/aliementos/decreto\\_3075\\_1997.pdf](https://www.invima.gov.co/images/stories/aliementos/decreto_3075_1997.pdf)
- <sup>57</sup> Ruiz R. Mastitis bacteriana en ganado bovino: etiología y técnicas de diagnóstico en el  
laboratorio. [Internet]. [Citado el: 2019 febrero 01]. Disponible en:  
[http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis\\_bacteriana.pdf](http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf)

- <sup>58</sup>.Resino S. Bacteriófagos. [Internet]. 2011. [Citado el: 2019 febrero 01]. Disponible en: <https://epidemiologiamolecular.com/bacteriofagos/>
- <sup>59</sup>.Kerrie N, Conor P. El papel del estrés y las adaptaciones al estrés en la determinación del destino del patógeno bacteriano *Listeria monocytogenes* en la cadena alimentaria. [Internet]. 2016. [Citado el: 2019 febrero 04]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5120093/>
- <sup>60</sup>.Gray J, Chandry S, Kaur M, Kocharunchitt C, Bowman J, et al. Novel Biocontrol Methods for *Listeria monocytogenes* Biofilms in Food Production Facilities. [Internet]. 2018. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5891606/>
- <sup>61</sup>.Iacumin L, Manzano M, Comi G. Phage Inactivation of *Listeria monocytogenes* on San Daniele Dry-Cured Ham and Elimination of Biofilms from Equipment and Working Environments. [Internet]. 2016. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029509/>
- <sup>62</sup>.Sesto N, Touchon M, Andrade J, Kondo J, Rocha E, et al. A PNPase Dependent CRISPR System in *Listeria*. [Internet]. 2014. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3886909/>
- <sup>63</sup>.Gahan C, Hill C. *Listeria monocytogenes*: survival and adaptation in the gastrointestinal tract [Internet]. 2014. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3913888/>
- <sup>64</sup>.Gibson E, Leite A, Araújo F, Comastri R. Control of *Listeria monocytogenes* growth in soft cheeses by bacteriophage P100. [Internet]. 2014. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4059284/>
- <sup>65</sup>.Laboratorios Biomont. Mastitis bovina: uso de amoxicilina y sulbactam en el tratamiento intramamario. [Internet]. 2018. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible en:

<http://www.actualidadganadera.com/biomont/articulos/mastitis-bovina-uso-de-amoxicilina-y-sulbactam-en-el-tratamiento-intramamario.html>

- <sup>66</sup>Fister S, Robben C, Witte A, Schoder D, Wagner M, et al. Influence of Environmental Factors on Phage–Bacteria Interaction and on the Efficacy and Infectivity of Phage P100. [Internet]. 2008. [Cited: 2019 february 04]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4964841/>
- <sup>67</sup>Torres K, Sierra S, Poutou R, Carrascal A, Mercado M. Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. [Internet]. 2005. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682005000100003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682005000100003)
- <sup>68</sup>Callejo R, Prieto M, Martínez C, Aguerre L, Rocca F, et al. Estudio mediante PCR múltiple de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados en Argentina. [Internet]. 2008. [Citado el: 2019 febrero 11]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412008000200004](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412008000200004)
- <sup>69</sup>Mahy B, Van Regenmortel M. Desk encyclopedia of general virology. [Internet]. United States: 2010. [Cited: 2019 february 13]. Available in: [https://books.google.com.co/books?id=ew1fR6ghsmgC&pg=PA3&dq=virology+%2B+bacteriophages&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwieu9\\_S8rngAhUOIKwKHZqoCt0Q6AEIKDAA#v=onepage&q=virology%20%2B%20bacteriophages&f=false](https://books.google.com.co/books?id=ew1fR6ghsmgC&pg=PA3&dq=virology+%2B+bacteriophages&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwieu9_S8rngAhUOIKwKHZqoCt0Q6AEIKDAA#v=onepage&q=virology%20%2B%20bacteriophages&f=false)
- <sup>70</sup>Vispo N, Camacho F, Pupo M, Toledo R, Sánchez O. Tecnología de presentación sobre fagos filamentosos en la búsqueda de agentes biológicos antiinfectivos. [Internet]. [Citado el: 2019 febrero 13]. Disponible en: <http://revistabionatura.com/files/Revista-bionatura-Vol-1-no-1-2016.pdf>

- <sup>71</sup>Rudolf M, Scherer S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. [Internet]. 2000. [Cited: 2019 february 14]. Available in: <http://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816050000413X>
- <sup>72</sup>Ganegama G, Flint S, McIntyre L, Cruz C, Dias B, et al. Preliminary investigation of bacteriophage lysis of physiologically stressed *Listeria monocytogenes* in seafood processing environments. [Internet]. [Cited: 2019 february 14]. Available in: [https://mro.massey.ac.nz/bitstream/handle/10179/4973/02\\_whole.pdf?sequence=2&isAllowed=y#page=138](https://mro.massey.ac.nz/bitstream/handle/10179/4973/02_whole.pdf?sequence=2&isAllowed=y#page=138)
- <sup>73</sup>Gutiérrez D, Fernández L, Rodríguez A, García P. Role of Bacteriophages in the Implementation of a Sustainable Dairy Chain. [Internet]. 2019. [Cited: 2019 february 14]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6349743/>
- <sup>74</sup>Klumpp J, Loessner M. *Listeria* phages. [Internet]. 2013. [Cited: 2014 february 15]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3827098/>
- <sup>75</sup>Jassim S, Limoges R. Natural solution to antibiotic resistance: bacteriophages ‘The Living Drugs’. [Internet]. 2014. [Cited: 2019 february 15]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4072922/>
- <sup>76</sup>Lee S, Kim M, Lee H, Heo S, Kwon M, et al. Isolation and Characterization of *Listeria* phages for Control of Growth of *Listeria monocytogenes* in Milk. [Internet]. 2017. [Cited: 2019 february 15]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5434219/#r029>
- <sup>77</sup>Dorscht J, Klumpp J, Biemann R, Schmelcher M, Born Y, et al. Comparative Genome Analysis of *Listeria* Bacteriophages Reveals Extensive Mosaicism, Programmed Translational Frameshifting, and a Novel Prophage Insertion Site.[Internet]. 2009. [Cited: 2019 february 15]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2786548/>

- <sup>78.</sup>Zimmer M, Sattelberger E, Inman R, Calendar R, Loessner M. Genome and proteome of *Listeria monocytogenes* phage PSA: an unusual case for programmed + 1 translational frameshifting in structural protein synthesis. [Internet]. 2003. [Cited: 2019 february 15]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2958.2003.03684.x?sid=nlm%3Apubmed>
- <sup>79.</sup>Klumpp J, Dorscht J, Lurz R, Biemann R, Wieland M, et al. The Terminally Redundant, Nonpermuted Genome of *Listeria* Bacteriophage A511: a Model for the SPO1-Like Myoviruses of Gram-Positive Bacteria. [Internet]. 2008. [Cited: 2019 february 15]. Available in: <https://jb.asm.org/content/190/17/5753.long>
- <sup>80.</sup>Loessner M, Inman R, Lauer P, Calendar R. Complete nucleotide sequence, molecular analysis and genome structure of bacteriophage A118 of *Listeria monocytogenes*: implications for phage evolution. [Internet]. 2002. [Cited: 2019 february 18]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2958.2000.01720.x>
- <sup>81.</sup>Intralytix, Inc. ListShield™ Phage Preparation Effective Against *Listeria monocytogenes* [Internet]. [Cited: 2019 february 18]. Available in: <http://www.intralytix.com/index.php?page=prod&id=1>
- <sup>82.</sup>Rodríguez L, García P, Rodríguez A, Billington G, Hudson A, et al. Listeriaphages and coagulin C23 act synergistically to kill *Listeria monocytogenes* in milk under refrigeration conditions. [Internet]. 2015. [Cited: 2019 february 18]. Available in: <http://sci-hub.tw/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25897991>

