

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES
Y AMBIENTALES**

**MONOGRAFÍA PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MICROBIÓLOGA**

**USO DE BACTERIÓFAGOS PARA EL CONTROL DE *SHIGELLA*
SPP. EN SUPERFICIES DE PROCESAMIENTO Y ALIMENTOS**

ANNIE CAMILA SAAVEDRA GUERRA

QUITO, 2025

CERTIFICACIÓN

Por medio de la presente, certifico que la Monografía de la Carrera de Microbiología, elaborada por la estudiante Annie Camila Saavedra Guerra, ha sido concluida conforme a las normas establecidas. Por lo tanto, se autoriza su presentación para la calificación correspondiente.

Fernando René Santacruz Flores
Director de la Disertación
Quito, 4 de julio de 2025

DEDICATORIA

A Dios,

Al creador de todas las cosas, el que siempre me dio las fuerzas para continuar, mostrándome que su tiempo siempre es el más perfecto.

A mi hija,

Isabella, la persona más importante de mi vida, el motor que impulsó cada sacrificio, y mi mayor motivación para nunca rendirme.

A mis padres,

Luis Saavedra y Martha Guerra, gracias por siempre creer en mí, por los innumerables sacrificios que han hecho para que pueda alcanzar esta meta, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

A mi abuelita,

Martha Sarzosa, a quien el tiempo no borra del alma y cuya presencia sentí en cada paso de este camino.

A mis hermanos,

Paige, Joan, Alejandra y Álvaro, por su constante apoyo, por estar siempre a mi lado en cada paso de este camino y por compartir conmigo cada triunfo y cada desafío.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mi familia, por su amor incondicional y aliento constante en los momentos de mayor desafío. Su fe en mí fue mi mayor inspiración.

A mi director de tesis, MSc. Fernando Santacruz, por su invaluable sabiduría, su guía, su paciencia y su compromiso con este trabajo. Su apoyo fue esencial para el desarrollo y la culminación de esta investigación.

A mis amigas, Allison Oquendo y Samantha Changoluisa, quienes, con sus consejos y su incondicional amistad, aligeraron la carga a lo largo de este camino, este trayecto de mi vida no hubiese sido igual sin ustedes.

Finalmente, extendiendo mi profunda gratitud a todos mis profesores, quienes, con su conocimiento, dedicación y pasión por la enseñanza, me hicieron amar la microbiología, inspirándome y formando las bases esenciales para la realización de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDOS	v
1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. OBJETIVOS	7
5. METODOLOGÍA	8
6. DESARROLLO TEÓRICO	9
5.1. <i>Shigella</i> spp., agente etiológico de Shigelosis	9
5.1.1. Características generales de <i>Shigella</i> spp.	9
5.1.2. Shigelosis	11
5.1.3. Mecanismo de patogenicidad de <i>Shigella</i> spp.	13
5.2. <i>Shigella</i> spp. en alimentos y plantas de procesamiento de alimentos	14
5.2.1 Factores que favorecen la contaminación y crecimiento de <i>Shigella</i> en los alimentos	14
5.2.2. Detección de <i>Shigella</i> en alimentos	17
5.3 Bacteriófagos, una solución prometedora	19
5.3.1 Características generales de los bacteriófagos	19
5.3.2 Ventajas y limitaciones del uso de bacteriófagos	24
5.3.3. Aplicación de bacteriófagos contra <i>Shigella</i> spp. en alimentos y superficies	28
5.3.4 Desinfección de plantas: bacteriófagos vs. métodos convencionales .	33
7. CONCLUSIONES	36
8. REFERENCIAS	38

1. RESUMEN

Shigella spp. es un bacilo Gram negativo, inmóvil y resistente a ácidos, causa shigelosis, una disentería bacilar con síntomas como diarrea sanguinolenta y fiebre. Se transmite principalmente por vía fecal-oral, con el ser humano como su principal reservorio. La bacteria es capaz de sobrevivir en diversos alimentos como frutas, verduras, carnes y lácteos, y en ambientes, incluso en refrigeración, además su baja dosis infectiva facilita brotes. Un desafío clave es la capacidad que posee en especial *S. flexneri* para formar biopelículas en superficies de procesamiento, aumentando el riesgo de contaminación cruzada y dificulta su erradicación.

Ante la presencia de *Shigella* en diferentes matrices alimentarias y la creciente resistencia a los antibióticos, los bacteriófagos emergen como una alternativa biológica prometedora. Los fagos son virus que infectan y lisan a bacterias específicas, sin afectar células eucariotas ni a la microbiota beneficiosa. Los fagos líticos de la familia Myoviridae son los más empleados en el control de *Shigella* y fueron aislados de ambientes naturales como aguas residuales. Actualmente, se han desarrollado productos comerciales, aprobados por la FDA con designación GRAS, que demuestran su eficacia contra *Shigella*.

La alta especificidad, la capacidad de replicación in situ, los bajos costos frente a otros tratamientos y la efectividad contra cepas resistentes a antibióticos son algunas de las ventajas más importantes del uso de bacteriófagos. Además, son particularmente útiles contra biopelículas, ya que tienen la capacidad de penetrar y desorganizar a estas estructuras protectoras. Sin embargo, también hay limitaciones como la necesidad de mantener condiciones de almacenamiento de refrigeración, la inactivación por desinfectantes químicos agresivos, y la ineficacia si hay presencia de más patógenos. Pese a estos desafíos, los bacteriófagos simbolizan una herramienta valiosa y sostenible para mejorar la inocuidad y seguridad alimentaria.

Palabras claves:

bacteriófagos, biofilms, shigelosis, resistencia antimicrobiana, cócteles de fagos

2. ABSTRACT

Shigella spp. is a Gram-negative, nonmotile, acid-resistant bacillus that causes shigellosis, a bacillary dysentery with symptoms such as bloody diarrhea and fever. It is transmitted primarily through the fecal-oral route, with humans as its main reservoir. The bacteria can survive in various foods such as fruits, vegetables, meats, and dairy products, and in environments, even refrigeration. Furthermore, its low infectious dose facilitates outbreaks. A key challenge is the ability of *S. flexneri* in particular to form biofilms on processing surfaces, increasing the risk of cross-contamination and making its eradication difficult.

Given the presence of *Shigella* in different food matrices and the growing resistance to antibiotics, bacteriophages are emerging as a promising biological alternative. Phages are viruses that infect and lyse specific bacteria, without affecting eukaryotic cells or beneficial microbiota. Lytic phages of the Myoviridae family are the most widely used in *Shigella* control and were isolated from natural environments such as wastewater. Currently, commercial products have been developed, approved by the FDA with GRAS designation, and demonstrated to be effective against *Shigella*. High specificity, in situ replication capacity, low costs compared to other treatments, and effectiveness against antibiotic-resistant strains are some of the most important advantages of using bacteriophages. Furthermore, they are particularly useful against biofilms, as they have the ability to penetrate and disrupt these protective structures. However, there are also limitations such as the need to maintain refrigerated storage conditions, inactivation by harsh chemical disinfectants, and ineffectiveness in the presence of other pathogens. Despite these challenges, bacteriophages represent a valuable and sustainable tool for improving food safety and security.

Keywords:

bacteriophages, biofilms, shigellosis, antimicrobial resistance, phage cocktails

3. INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es un tema de gran trascendencia en la actualidad, la mayoría de las enfermedades provenientes de alimentos se deben a infecciones causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas tóxicas para el ser humano. Entre los factores que favorecen la propagación de estas enfermedades se encuentran el agua contaminada con microorganismos patógenos, las superficies en donde se procesan los alimentos y el contacto con personas portadoras de la enfermedad; estos elementos no solo comprometen la calidad de los alimentos, sino que también ponen en peligro a la salud de la población (Varela et al., 2016). Un ejemplo de patógeno bacteriano preocupante en este contexto es *Shigella*, recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha incluido a esta bacteria en la lista de patógenos prioritarios para la búsqueda de nuevos antibióticos (Shrivastava et al., 2018). Existen bacterias del género *Shigella* (Familia: Enterobacteriaceae) compuesto por cuatro especies: *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella dysenteriae*. Más del 75% de las infecciones en países industrializados son a causa de *S. sonnei*. En contraste, en regiones como Asia, África y Sudamérica la especie predominante es *S. flexneri*, asociada a comunidades con acceso limitado a agua potable y saneamiento adecuado. Sin embargo, la especie que provoca más cuadros graves de shigelosis es *S. dysenteriae*, endémica y epidémica en la India, esta bacteria posee la capacidad de producir la toxina Shiga, una potente citotoxina que puede causar complicaciones graves como el síndrome urémico hemolítico (Organización Panamericana de la Salud, 2022). El principal reservorio de esta bacteria es el intestino del ser humano y su modo de transmisión más frecuente es de persona a persona por contaminación oral-fecal en alimentos y agua, una situación muy común en países con bajos recursos económicos. Los cuadros más graves se dan en niños menores de 5 años, personas inmunocomprometidas y en ancianos en situaciones de pobreza y desnutrición. La shigelosis puede tratarse con antibióticos, sin embargo, en los últimos

años esta bacteria ha presentado una gran resistencia a algunos antibióticos comúnmente usados como ampicilina y cotrimoxazol (Monar Basantes et al., 2023). Además, la dosis infectiva de esta bacteria es muy baja, ya que menos de 100 microorganismos visibles son suficientes para producir la enfermedad, lo que facilita la diseminación en ausencia de medidas de control sanitarias. Por otro lado, se ha demostrado que esta bacteria puede permanecer viable hasta 5 meses en superficies inanimadas, lo que aumenta el riesgo de transmisión indirecta en entornos con higiene deficiente (Peñafiel Altamirano et al., 2023). Este alto nivel de viabilidad y resistencia resalta la creciente necesidad de implementar estrategias de control para prevenir la diseminación y el contagio por *Shigella* spp.

Desde esta perspectiva, el uso de bacteriófagos se perfila como una alternativa eficaz para el control de contaminantes, ofreciendo un enfoque biológico y eficaz frente a estos patógenos. Los bacteriófagos tienen la capacidad de infectar y destruir bacterias específicas, ofreciendo una solución biológica que puede complementar o incluso reemplazar los métodos tradicionales de lucha contra patógenos, como los antibióticos, cuya eficacia puede verse afectada por la resistencia bacteriana; los bacteriófagos se adaptan y evolucionan junto con sus objetivos para reducir el riesgo de resistencia (Ranveer et al., 2024). A diferencia de los antimicrobianos convencionales, los bacteriófagos actúan de manera selectiva sobre las bacterias patógenas, sin dañar la microbiota beneficiosa ni alterar las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos (Jorquera, Galarce, y Borie, 2015). El empleo de bacteriófagos no solo eleva la calidad de los alimentos, sino que también aborda el desafío creciente de la resistencia a antimicrobianos en la industria alimentaria, apoyando la salud pública y promoviendo el bienestar de los consumidores (Endersen y Coffey, 2020).

Actualmente existen estudios que muestran la eficacia de los fagos y sus múltiples ventajas en el uso del control de contaminantes; se ha demostrado que los fagos pueden disminuir considerablemente la presencia de bacterias en superficies de procesamiento de alimentos y en productos listos para el consumo incluyendo productos cárnicos, lácteos y vegetales; convirtiéndose en una herramienta prometedora para controlar la shigelosis. Su aplicación en la industria alimentaria continúa siendo objeto de investigación, con el fin de optimizar su uso bajo distintas condiciones ambientales y mejorar su estabilidad en sistemas de producción (Chisavo y Husserl 2020). Por ejemplo, según Llanos-Chea et al. (2019) el bacteriófago $\Phi 2457T$, ha demostrado ser altamente específico y eficaz contra cepas de *Shigella flexneri* en medios de cultivo que imitan las condiciones del tracto gastrointestinal, lo que sugiere su potencial aplicación en productos alimenticios. Por otro lado, fagos similares al T4 es eficaz contra *S. sonnei* y *S. dysenteriae*, estos estudios han mostrado que los fagos pueden reducir la carga bacteriana significativamente, mejorar la seguridad y calidad de los alimentos; y se presentan como una alternativa prometedora a los tratamientos convencionales basados en antibióticos (Goodridge, 2013). Gracias a su especificidad y eficacia, los fagos se posicionan como una herramienta crucial en la lucha contra patógenos alimentarios. Sin embargo, su implementación aun enfrenta desafíos, algunos autores apuntan como desventaja del uso de bacteriófagos, la potencial virulencia o genes de resistencia a antibióticos, por lo que resaltan la necesidad de realizar una caracterización genética exhaustiva y garantizar con métodos de secuenciación completa del genoma que los fagos empleados en la inocuidad de los alimentos no porten genes indeseados. Por otro lado, la estabilidad de los bacteriófagos en los sistemas de producción alimentaria sigue siendo un factor crítico, ya que su viabilidad puede verse afectada por condiciones como el pH y la temperatura, lo que limita su eficacia en aplicaciones industriales (Jun et al., 2016). En este contexto surge la pregunta: ¿Cuál es la efectividad de los bacteriófagos en el control de *Shigella* spp. en superficies de plantas de procesamiento y alimentos bajo diversas condiciones

ambientales?

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar el uso de bacteriófagos para el control de *Shigella* spp. en superficies de procesamiento y alimentos, con el fin de destacar su potencial en la mejora de la seguridad alimentaria.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características de los bacteriófagos más utilizados en el control de *Shigella* spp. en superficies y alimentos.
- Comparar las aplicaciones prácticas de los bacteriófagos con métodos tradicionales en la desinfección de plantas procesadoras.
- Discutir ventajas y limitaciones del uso de bacteriófagos en el control de contaminantes alimentarios.

5. METODOLOGÍA

La búsqueda de los artículos que se utilizarán en esta revisión bibliográfica se realizará en diferentes bases de datos, entre las que destacan Scopus, Google Scholar, Elsevier, PubMed, entre otros, mediante la introducción de términos como “Bacteriófagos en la industria alimentaria”, “Bacteriófagos contra *Shigella* sp.”, “*Shigella* sp. en alimentos”, “*Shigella* sp. en plantas procesadoras de alimentos”, “Incidencia de *Shigella* sp. en ETA”, “Características de *Shigella* sp.”, “Ventajas y desventajas del uso de bacteriófagos en alimentos”, “Bacteriófagos contra antibióticos”, “Bacteriófagos frente a desinfectantes comunes en alimentos”, “Desinfección de alimentos con bacteriófagos”. Se incluirán artículos revisados por pares en inglés y español dentro de los últimos 20 años, y se descartarán estudios de caso aislado y trabajos preliminares sin revisión por pares. Posteriormente, se efectuará una búsqueda más detallada en base a las ventajas y limitaciones de los bacteriófagos para el control de *Shigella* sp. y se identificarán los desafíos incluyendo la presencia de genes indeseados y la necesidad de mantener condiciones que permitan la estabilidad de los fagos. Se recopilarán datos de las aplicaciones de los bacteriófagos en las industrias de alimentos, la estabilidad y la efectividad de los fagos frente a diferentes condiciones ambientales, la mejora que brindan en la seguridad alimentaria y en la calidad de los alimentos. Una vez recopilados todos los datos, se revisarán y se compararán con artículos de páginas web de bases de datos e instituciones de investigación como Control de Enfermedades (ECDC), Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), Organización Mundial de la Salud (OMS), National Library of Medicine (NIH).

6. DESARROLLO TEÓRICO

5.1. *Shigella* spp., agente etiológico de Shigelosis

5.1.1. Características generales de *Shigella* spp.

Shigella spp. es un bacilo corto Gram negativo, no capsulado e inmóvil, lo que significa que carecen de flagelos para su movilidad. A nivel taxonómico, *Shigella* pertenece al filo *Proteobacteria*, clase Gammaproteobacteria, orden Enterobacteriales y familia Enterobacteriaceae. Gracias a los estudios de hibridación ADN-ADN, se descubrió que *Escherichia coli* y *Shigella* spp., poseen una estrecha relación evolutiva, con una similitud de nucleótidos superior al 75%. De hecho, se considera a *Shigella* spp. como un biogrupo metabólicamente inactivo de *E.coli* y a las dos bacterias se las clasifica como una misma especie debido a su homología de ADN. Sin embargo, *Shigella* spp. es más patógena debido a su capacidad invasiva (Schroeder y Hilbi, 2008).

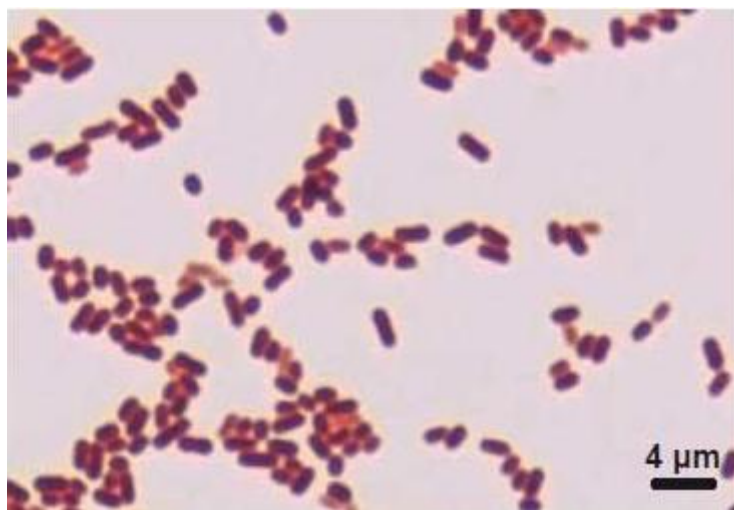


Figura 1. Tinción de Gram de *Shigella* spp. observada al microscopio óptico. Observación morfológica de *Shigella*, bacilos Gram negativos, con forma pequeña y uniforme, dispuestos individualmente o en pequeños grupos (Zerpa L, 2011).

A las especies de *Shigella* spp. se las caracterizan por ser anaerobios facultativos, lo que les permite sobrevivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. *Shigella* spp. mide entre 0,7 y 3 μm y posee una gran resistencia a los ácidos gástricos que le permite sobrevivir en el estómago con una dosis infectiva extremadamente baja, entre 10 y 100 microorganismos, esto facilita su transmisión en condiciones de higiene deficiente. Desde un punto de vista bioquímico, *Shigella* spp. fermenta la glucosa sin producción de gas, es catalasa positiva y oxidasa negativa. Posee una membrana externa rica en lipopolisacáridos (LPS) que cumple un papel clave en el factor de virulencia y la capacidad que tiene para evadir el sistema inmunológico de su huésped (Mena Cantero y Valdés Sedeño, 2010).

Shigella spp., es muy sensible a fluctuaciones de temperatura, puede sobrevivir en condiciones de congelación y refrigeración, logra crecer dentro de un rango de temperatura mínima entre 6 a 8° C y máxima de 45 a 47°C. Su tolerancia al pH varía entre 5 y 9. El pH mínimo de crecimiento es 4,8-5 en 3,8-5,2% NaCl y pH máximo 9,3 en la presencia de 5,2% NaCl. A pesar del alto pH mínimo de crecimiento, *Shigella* spp. se encuentra entre los patógenos de enfermedades alimentarias más ácido resistentes. Se ha demostrado que puede persistir en jugos ácidos por varios días y luego colonizar el tracto digestivo. Por otro lado, su crecimiento puede verse afectado por la presencia de conservantes y desinfectantes, siendo sensible al hipoclorito de sodio y al ácido acético. También es vulnerable a la radiación gamma, lo que permite su reducción en alimentos tratados con este método (Loayza, 2013).

Por otro lado, el género *Shigella* se divide en cuatro subgrupos y 43 serotipos que se diferencian entre sí por las características bioquímicas que poseen como fermentación del Dmanitol y producción de Indol, además de su estructura antigénica como el antígeno O de la capa de lipopolisacáridos en la superficie celular. El grupo A tiene 15 serotipos, el grupo B tiene 8 serotipos, el grupo C tiene 19 serotipos y el grupo

D tiene 1 serotipo. *S. dysenteriae* pertenece al serogrupo A; es la especie más importante de este género debido a la toxina Shiga que produce y causa brotes epidémicos; Shiga es una potente citotoxina que inhibe la síntesis proteica en las células epiteliales del intestino, llevando a la muerte de las células intestinales, células epiteliales del glomérulo y del túbulo renal, y las células de la microcirculación del sistema nervioso central lo que provoca complicaciones graves como el síndrome urémico hemolítico (SUH) y convulsiones; en casos muy graves puede llevar a la muerte del paciente. La especie *S. flexneri* pertenece al serogrupo B, la causa más común de diarrea en países de ingresos bajos, *S. boydii*, es del serogrupo C; es menos frecuente entre los cuatro grupos, pero es endémica de África subsahariana y el sur de Asia, finalmente *S. sonnei* constituye al serogrupo D, predominante en países industrializados y asociados a casos de diarrea leve (Lampel et al., 2018).

5.1.2. Shigelosis

La shigelosis también llamada disentería bacilar es endémica de países tropicales y templados; es una infección aguda causada por bacterias del género *Shigella*, que incluyen las especies *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*. Esta enfermedad provoca diarrea sanguinolenta, dolor abdominal, fiebre y tenesmo. La capacidad de adaptación de esta bacteria a distintos ambientes le permite colonizar el intestino humano, su único reservorio natural; lo que facilita su propagación en comunidades con saneamiento deficiente. Su transmisión ocurre principalmente por contacto fecal-oral, una persona ingiere alimentos contaminados con heces de la persona infectada y en algunos casos la transmisión puede ser por vía sexual. Además, puede transmitirse por contacto directo a través de juguetes, pañales, baños o superficies contaminadas con heces. La incidencia anual estimada de shigelosis es entre 80 y 165 millones de casos, con aproximadamente 700,000 muertes principalmente en niños menores de cinco años. Los brotes de shigelosis suelen estar

asociados a desastres naturales y condiciones de vida insalubres, ya que el hacinamiento y el saneamiento deficiente son factores que favorecen la propagación de la enfermedad (González-Torralba y Alós, 2015).

La manifestación clínica de disentería varía desde infecciones asintomáticas hasta cuadros fulminantes, siendo la diarrea un síntoma frecuente. Se ha documentado que las especies *S. dysenteriae* y *S. flexneri* suelen causar infecciones más graves, mientras que *S. sonnei* tiende a generar síntomas más leves. Los signos característicos de la disentería incluyen fiebre, evacuaciones intestinales constantes con presencia de sangre y moco-pus por la infiltración de glóbulos rojos y proteínas séricas, lo que a menudo conduce a la deshidratación. Además, son comunes los dolores intestinales intensos como calambres y tenesmo y es frecuente la formación de úlceras en el colon. Las complicaciones de la disentería pueden ser extremadamente graves, y en algunos casos, mortales. La muerte puede ser causada por septicemia, una infección generalizada severa en la sangre, o hipoglucemia, que se refiere a niveles peligrosamente bajos de azúcar en la sangre. Por otro lado, la disentería puede dejar secuelas a largo plazo y causar diversas complicaciones en el cuerpo. Una secuela comúnmente reportada es el síndrome de Reiter, una forma de artritis reactiva que afecta a las articulaciones, los ojos y el sistema urogenital. Una secuela menos frecuente, es el síndrome urémico hemolítico (SUH), una complicación seria que puede provocar daño renal agudo (Rodríguez-Guerrero et al., 2023).

El diagnóstico de shigelosis en humanos se confirma mediante el cultivo de heces en donde se identifica a la bacteria en muestras fecales de pacientes sintomático, en un 70% de las muestras de heces de los pacientes que tienen la enfermedad se puede observar leucocitos y sangre fecales. Para mejorar la detección, se pueden emplear pruebas de PCR y ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) para la identificación de toxinas producidas por esta bacteria. El principal modo de

control de la shigelosis es su prevención mediante un adecuado sistema de saneamiento, el uso de agua segura y buenas prácticas de higiene durante la manipulación de alimentos; y su tratamiento depende de la gravedad del cuadro clínico, en infecciones leves, la enfermedad se puede controlar en un aproximado de 5 a 7 días, sin embargo, si el paciente presenta un caso grave se debe tratar con antibióticos como ciprofloxacina, ceftriaxona y azitromicina. No obstante, en los últimos años, se ha observado un aumento en la resistencia antimicrobiana de *Shigella* spp. frente a los antibióticos, con cepas multirresistentes que han dificultado el tratamiento (González-Torralba y Alós, 2015).

5.1.3. Mecanismo de patogenicidad de *Shigella* spp.

El mecanismo de patogenicidad de *Shigella* spp. en el ser humano se basa en su capacidad para invadir el epitelio intestinal, evadir la respuesta inmune y causar inflamación severa en el colon. A diferencia de otras enterobacterias, *Shigella* spp. no es móvil y carece de flagelos. Sin embargo, ha desarrollado estrategias altamente eficaces para penetrar las células epiteliales y replicarse intracelularmente.

Su infección comienza con la adhesión a la superficie de las células M de los folículos del epitelio, las cuales transportan antígenos y permiten la transcitosis bacteriana para llegar a los macrófagos subyacentes con la finalidad de evitar ser eliminada por el sistema inmune al bloquear la formación de la fagolisosoma. Como resultado los macrófagos entran en apoptosis y liberan citocinas inflamatorias que intensifican la respuesta del sistema inmune y contribuyen a la inflamación del colon. Esta activación inmunológica provoca un reclutamiento masivo de neutrófilos al sitio de infección, lo que resulta en la degradación del tejido colónico y la formación de úlceras en la mucosa. Además, la respuesta inflamatoria exacerbada es la principal responsable de los síntomas clínicos de la shigelosis, como diarrea sanguinolenta, fiebre alta, dolor abdominal y tenesmo. Aunque la inflamación es un mecanismo de defensa del

organismo, este proceso le da la facilidad a la bacteria de diseminarse dentro del epitelio intestinal y compromete la integridad de la barrera intestinal (Barrantes y Achí, 2009).

Otro aspecto fundamental de la patogénesis de *Shigella* spp. es su motilidad intracelular, un mecanismo mediante el cual aprovecha la polimerización de actina para desplazarse dentro de las células huésped. Al formar estructuras de actina en su superficie, la bacteria puede moverse de una célula a otra sin salir al espacio extracelular, lo que le permite evitar la detección por el sistema inmune y facilitar su propagación en el tejido intestinal (Schnupf y Sansonetti, 2019).

Como último mecanismo, en específico *Shigella dysenteriae* puede producir la toxina Shiga, que juega un papel crucial en el daño tisular. Esta toxina bloquea la síntesis de proteínas en las células epiteliales, lo que lleva a la apoptosis y a lesiones en el tejido intestinal. La inhibición de la síntesis proteica provoca necrosis celular, lo que contribuye a la formación de úlceras en la mucosa intestinal y a la aparición de diarrea sanguinolenta. Además, la toxina Shiga puede afectar otros órganos, especialmente los riñones, debido a la alta presencia de receptores Gb3 en el epitelio renal. Esto puede derivar en síndrome hemolítico urémico (SHU), una complicación grave caracterizada por insuficiencia renal, anemia hemolítica y trombocitopenia (Melton, 2014).

5.2. *Shigella* spp. en alimentos y plantas de procesamiento de alimentos

5.2.1 Factores que favorecen la contaminación y crecimiento de *Shigella* en los alimentos

Se ha demostrado que *Shigella* es capaz de sobrevivir en matrices alimentarias como el jugo de manzana, fresas, tomate, frutas frescas y ensaladas lo que demuestra su estabilidad en ambientes ácidos, además puede sobrevivir durante mucho tiempo en alimentos con pH neutro, en alimentos cerrados al vacío o bajo atmósferas modificadas,

a temperaturas de refrigeración, en el agua, es sensible a la temperatura de cocción y bajo ciertas condiciones puede sobrevivir en los alimentos por largos períodos de tiempo si hay una temperatura estable de 25°C, además, sobrevive a la pasteurización tradicional de la leche. Considerando su notable capacidad de supervivencia, la leche es un sustrato rico en nutrientes que permite el crecimiento de bacterias especialmente el de *Shigella* spp., la cual se mantiene viable por 72 horas a 4°C y puede proliferar a temperaturas entre 15 y 37°C en leche cruda. Se ha determinado que la fuente de contaminación con este patógeno comienza en la granja, a partir de las heces de animales. Por otro lado, las infecciones causadas por *Shigella* son usualmente por agua potable contaminada con heces fecales y estudios han demostrado que la supervivencia de este patógeno se ve influenciada por la concentración de otras bacterias, oxígeno, nutrientes y temperaturas que haya en el medio. Si es que su medio es agua limpia su tiempo de supervivencia es menor a 14 días si la temperatura es mayor a 20°C y durante semanas si la temperatura es menor a 10°C (Villalobo, 2016).

Es importante tomar en cuenta que la contaminación de los alimentos producida por *Shigella* spp. se da exclusivamente por vía fecal-oral a partir de fuentes humanas esto se debe a que el ser humano es el reservorio principal de esta bacteria, una mínima cantidad de material fecal contaminado puede desencadenar un brote a gran escala incluso si la fuente de contaminación es secundaria. Es por esto, que los manipuladores de los alimentos juegan un papel importante en la transmisión de este patógeno, esto se refleja en el incremento de brotes alimentarios en diversos entornos, como restaurantes, hogares, cárceles y escuelas, su dispersión también se ve influenciada por factores como las temperaturas de almacenamiento inadecuadas, moscas y condiciones poco sanitarias. Se ha demostrado que *S. sonnei* es capaz de sobrevivir hasta 3 horas en las manos de los manipuladores de alimentos y pueden dispersarse en el aire como aerosoles tras la descarga de un inodoro con una concentración de aproximadamente 39 bacterias por metro cúbico de aire y permanecer viable hasta por

4 días (Percival y Williams, 2013). Además de la transmisión directa por manos contaminadas, existen otras vías importantes por las que *Shigella* spp. puede ingresar y persistir en la cadena alimentaria, el uso del agua no potable o no tratada correctamente en cualquier etapa del procesamiento de alimentos es una fuente significativa de contaminación. Esto incluye el agua que se usa para el lavado de productos, la preparación de ingredientes, la limpieza de equipos o incluso el agua de riego en la producción primaria, lo que conlleva la presencia de *Shigella* spp. en frutas y verduras que luego se procesan (Centeno-Romero et al., 2021).

Por otro lado, si *Shigella* spp. ingresa a la planta de procesamiento de alimentos, tiene la capacidad de sobrevivir en superficies de contacto como equipos y utensilios si las prácticas de limpieza y saneamiento son inadecuadas, lo que puede provocar contaminación cruzada, un fenómeno en el que microorganismos patógenos se transfieren de alimentos o superficies contaminadas hacia otros alimentos o áreas limpias, lo que compromete toda la cadena de inocuidad alimentaria. *Shigella* spp. es susceptible a desinfectantes como los compuestos clorados (hipoclorito de sodio) a una concentración de 100 ppm durante al menos 30 segundos, una solución de 25 ppm de yodo a un minuto, compuestos de amonio cuaternario (QACs) de 200 ppm a un minuto (Departamento de Salud y Calidad, 2021). Sin embargo, la presencia de materia orgánica (restos de alimentos, grasas, proteínas) en las superficies puede inactivar significativamente la mayoría de los desinfectantes, formando una barrera física y química que protege a las bacterias.

Shigella spp. posee una gran particularidad, en especial *S. flexneri* de formar biopelículas en varias superficies, tanto bióticas como abióticas. Al menos el 65% de todas las infecciones se derivan de la formación de biopelículas lo que representa una gran preocupación para la industria alimentaria. Las biopelículas que se generan a partir de contaminantes brindan una barrera protectora para las bacterias viables y por consiguiente aumentan el riesgo de contaminación que se transmite por los alimentos

(Ranjbar y Farahani, 2019). El control preventivo de las biopelículas es fundamental en la industria alimentaria, dada su estrecha relación con problemas serios de salud pública derivados de la contaminación cruzada. Las biopelículas no son simplemente grupos de bacterias; son comunidades altamente organizadas encapsuladas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), actuando como un escudo protector para los microorganismos. Esta matriz se forma y fortalece mediante la comunicación intercelular, un proceso conocido como "detección de quórum" (quorum sensing). Esta comunicación les permite a las bacterias resistir la eliminación de las superficies, convirtiéndolas en un verdadero problema para la correcta higiene en las plantas de procesamiento de alimentos. A lo largo del tiempo, se han explorado diversas estrategias físicas y químicas para combatirlas, incluyendo el ultrasonido, la irradiación UV-C, el plasma de baja temperatura y el uso de antibióticos. Sin embargo, la eficacia de estos métodos es limitada en el contexto de la industria alimentaria. Esto se debe a que las biopelículas exhiben una gran impermeabilidad y una notable resistencia a las condiciones de alto estrés, lo que las hace difíciles de erradicar con los enfoques convencionales. Un desafío específico radica en el que el acero inoxidable, material comúnmente empleado en la industria alimentaria, es propenso a la adhesión bacteriana, lo que facilita la formación de biopelículas y deriva a una mayor contaminación con patógenos alimentarios (Choi et al., 2025).

5.2.2. Detección de *Shigella* en alimentos

De acuerdo al manual analítico bacteriológico (BAM, por sus siglas en inglés) las muestras de alimentos para la detección de *Shigella* spp. deben enriquecerse en caldos suplementados con 0,5 – 3 µg/ml de novobiocina para inhibir bacterias Gram-negativas y debe ser en condiciones anaerobias entre 42 – 44°C durante 20 horas; después se siembra en agar MacConkey y se incuba a 35°C por 20 horas. Una vez que se obtuvo crecimiento se hace una serie de pruebas bioquímicas a las colonias lactosa-negativas para verificar si se trata de *Shigella*, se comprueba la no producción de H₂S, actividad

ureasa, motilidad y lisina descarboxilasa, y utilización de citrato; finalmente se realizan pruebas de identificación de serotipos. Se usan medios selectivos y diferencias como MacConkey, Salmonella-Shigella, EMB (eosin-metileno) o XLD (xilosa, lisina-desoxicolato), en donde las colonias negativas para la fermentación de lactosa se consideran potencialmente aislamientos de *Shigella*, a los cuales se hace análisis en agar TSI (triple azúcar-hierro) o Kigler -hierro y adicionalmente aglutinación frente a anticuerpos específicos (Andrews y Jacobson, 2023).



Figura 2. Colonia de *Shigella* en medio Agar Mac Conkey. Demostración de las características morfológicas de las colonias de *Shigella*, se presenta como colonias incoloras, translúcidas y con bordes definidos (Rahaman et al., 1975).

Sin embargo, el tiempo y los recursos que representan hacer este tipo de pruebas tradicionales, han cobrado importancia las técnicas de biología molecular, en donde los blancos de PCR son los genes *ipaH* y plásmidos de virulencia. No obstante, estos genes y plásmidos también se encuentran presentes en STEC (*E.coli* productora de la toxina Shiga) y no facilitan la diferenciación entre las cuatro especies de *Shigella*. Por lo tanto, se han desarrollado enfoques más avanzados para su detección en los que se busca específicamente los genes característicos de los serotipos O de *Shigella*, adicionalmente, se han diseñado ensayos de inmunoafinidad para identificar *S. dysenteriae* tipo 1 directamente en muestras de heces y ensayos inmunoabsorbentes

que usan anticuerpos monoclonales para reconocer las proteínas Ipa de la bacteria (Bintsis, 2017)

5.3 Bacteriófagos, una solución prometedora

5.3.1 Características generales de los bacteriófagos

Los bacteriófagos, conocidos comúnmente como fagos, fueron descubiertos por primera vez en 1915 por William Twort, mientras que fueron investigados, estudiados y caracterizados por Felix d'Herelle en 1917; quien identificó que los fagos poseen un efecto inhibitorio sobre las bacterias. Los bacteriófagos son virus que infectan y se replican exclusivamente dentro de las células bacterianas lo que produce la destrucción de estas, son omnipresentes en el medio ambiente, están presentes en el agua, el suelo y varios productos alimenticios, y se los conoce también como el agente etiológico más abundante del planeta. Poseen una diversidad en morfología, tamaño y organización genómica. Sin embargo, todos los fagos comparten una estructura básica: un genoma de ácido nucleico, puede ser ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN) y puede ser bicatenario o monocatenario, además se encuentran envueltos en una capa protectora de proteínas, conocida como cápside. Pese a que varían en tamaño y complejidad, la mayoría de los fagos tienen un tamaño que oscila entre 20 y 200 nanómetros (nm) y aunque la microscopía electrónica ha revelado cientos de tipos de fagos, algunos poseen una apariencia distintiva de “cabeza”, “patas” y “cola”, es importante destacar que los fagos carecen de movilidad propia y se desplazan hacia sus objetivos por movimiento browniano, y sus colas les permiten penetrar las paredes celulares de las bacterias y así insertar su ADN en el citoplasma hospedador (Endersen y Coffey, 2020).

La persistencia y viabilidad de los fagos frente a factores externos no está determinada por su proximidad estructural o miembros de una misma familia, y potencialmente pueden depender de otros factores o variables como la temperatura, el

pH, la salinidad y los iones. Si existe un daño en las estructuras internas del fago como la pérdida de lípidos o el daño del ADN, así como la cabeza, cola y envoltura pueden llevar a la inactivación del fago. Los fagos que poseen una cápside grande con diámetro de 100 nm pueden llegar a sobrevivir más que los fagos de cápside pequeña con un diámetro de 60 nm.

La temperatura juega un papel muy importante en la supervivencia de un fago. Por ejemplo, en el ciclo lisogénico, hay factores como la unión a la bacteria, su penetración, la multiplicación y la duración de la fase latente que están estrechamente influenciados por la temperatura. Si hay una temperatura inferior a la óptima, solo una pequeña cantidad del material genético del fago podrá infiltrarse en la célula huésped. Por consiguiente, muy pocos fagos van a poder multiplicarse (Jończyk et al., 2011). Se descubrió que las altas temperaturas pueden alargar la fase latente de un fago, además, la temperatura puede afectar la viabilidad, la velocidad y la capacidad de almacenamiento de los bacteriófagos. Pese a que algunos fagos logren sobrevivir en entornos extremos como las aguas termales a una temperatura que varía entre 40 a 90 °C, estudios han demostrado que hay fagos que persisten incluso a 0°C. Sin embargo, también existen fagos que pueden ser vulnerables a temperaturas excesivamente altas, por ejemplo, si se hierve un fago a 105°C, puede desintegrar sus partículas en un 68 y 70%. De hecho, hay tratamientos térmicos que son usados para inactivar fagos en lodos y aguas residuales (Biosca y Álvarez, 2017).

La temperatura para almacenar un fago es el factor más crítico para lograr mantener su actividad. Por ejemplo, los fagos CP-51 de *Bacillus cereus* son sensibles a bajas temperaturas, pero presentan estabilidad a temperatura ambiente, pese a que almacenar a un fago a temperatura ambiente puede no ser factible a largo plazo. En contraste, los fagos con cola son los más resistentes cuando se los almacena, existen algunos tipos como T7, T5 Y T4 que permanecen viables por 10 o 20 años a 4 °C. Si bien es cierto que los fagos generalmente resisten la congelación y descongelación es

importante tomar en cuenta que, si se hacen exposiciones repetidas y a corto plazo pueden llegar a ser perjudiciales, porque deterioran las partículas virales con cada repetición. Para una conservación prologada, la temperatura debe ser inferior a -80°C y no es recomendable almacenar fagos por debajo de -20°C , ya que la formación de cristales de hielo a estas temperaturas puede llegar a destruirlos (Jones et al., 2020).

El pH o la acidez del entorno es otro factor importante que impacta la supervivencia y actividad de los fagos. Si bien se han encontrado 24 tipos de fagos activos en ambientes muy ácidos como el chucrut a un pH de 3.5, la estabilidad de un fago si varía significativamente según el pH. Estudios han demostrado que el fago T7 posee una estabilidad óptima para su almacenamiento prolongado en un pH entre 6 y 8. Además, a un pH 7, este fago es más activo y pierde solo el 20% de su actividad en un tampón de fosfato. En contraste, se vuelve inestable a pH 4, perdiendo la mayor parte de su infectividad en 96 horas, y a un pH 3 pierde completamente su actividad, mientras que un pH superior a 10 va a eliminar casi por completo su actividad en 24 horas (Ranveer et al., 2024). Esto subraya la necesidad de mantener condiciones de pH controladas para asegurada la viabilidad y eficacia de las preparaciones a base de fagos.

Finalmente, la salinidad y la presencia de iones también influyen en la estabilidad de los fagos. Se ha documentado que el estrés osmótico puede inactivar a los bacteriófagos. Por ejemplo, se ha demostrado que fagos de *Pseudomonas* que se encuentran adaptados a ambientes psicrófilos, ambientes con temperaturas bajas que varían desde -20 a 20°C , resistieron menos en soluciones concentradas de cloruro de sodio y azúcar. Se observó que la viabilidad del fago ps1 cayó un 99% en una solución de NaCl de 4 mol/L, mientras que el fago wy solo experimentó una reducción del 26%. Por otro lado, en soluciones de sacarosa de 2mol/L también disminuyeron su supervivencia, en el fago ps1 fue de 50% mientras que la de wy fue de 48%. Pese a que estos fagos específicos muestren esta sensibilidad, se han encontrado diversos fagos

que sobreviven en ambientes marinos a diferentes niveles de salinidad. Investigaciones demuestran la estabilidad de cinco fagos marinos en varios medios salinos inorgánicos, pero sorprendentemente todos los fagos aislados de este medio mostraron una mayor inactivación en un medio enriquecido con 0,5% de NaCl que en otros medios, lo que sugiere que los fagos pueden ser más activos en concentraciones de sal similares a los de su hábitat natural (Xu et al., 2023).

Más allá de las características de sensibilidades ambientales que poseen los fagos, es crucial comprender la naturaleza intrínseca que poseen estos virus. Los bacteriófagos como todos los virus son considerados parásitos intracelulares obligados, lo que significa que carecen de maquinaria propia metabólica para poder replicarse y, por lo tanto, obligatoriamente requieren de una célula huésped específica para llevar a cabo su ciclo de vida. Por lo general, infectan solo una especie bacteriana o incluso cepas específicas dentro de una misma especie. La especificidad que poseen los fagos se debe a que las proteínas presentes en las estructuras de la cola o la cápside, reconocen y se unen a los receptores específicos de la célula bacteriana huésped y su espectro hospedador, la variedad de bacterias que un fago específico es capaz de infectar y replicarse en ellas, que posee un bacteriófago se basa en el reconocimiento y la unión eficaz que pueden tener a las moléculas receptoras en la superficie celular (Endersen y Coffey, 2020). Una vez que el bacteriófago se une a un huésped susceptible, utiliza una de las dos estrategias de replicación que posee: lítica, virulenta o lisogénica, de acción moderada.

En el ciclo de replicación lítica, el fago posee la capacidad de adherirse a la bacteria huésped susceptible e introduce su genoma en el citoplasma de la célula huésped. Luego, secuestra a la maquinaria celular de la bacteria incluyendo enzimas y ribosomas para fabricar sus propias proteínas y así replicar su material genético y las proteínas de la cápside. Los recursos de la célula huésped se convierten de manera

rápida en genomas virales y proteínas de la cápside, que son ensambladas en múltiples copias del fago original. En las últimas etapas del ciclo, el fago expresa genes que codifican enzimas líticas como las holinas y las endolisinas. Las holinas se encargan de crear poros en la membrana citoplasmática bacteriana y permiten que las endolisinas degraden la pared celular de peptidoglicano para alcanzar su objetivo que es la lisis activa o pasiva de la célula huésped y de esta manera liberar una nueva progenie de bacteriófagos listos para infectar a otras células, lo que permite una rápida propagación de la infección en la población bacteriana (Loessner, 2005).

En contraste, en el ciclo de replicación lisogénica el fago templado es capaz de elegir entre la vía de crecimiento lisogénica o lítica. Estos virus al igual que los fagos líticos, se unen a una bacteria susceptible e introducen su genoma, esta forma integrada del virus en el ADN celular es denominada provirus o profago. Sin embargo, el fago no toma el control inmediatamente para su replicación, sino que su genoma se integra en el cromosoma bacteriano o se mantiene como un elemento episomal, un elemento episomal es un factor genético extracromosómico que puede integrarse al cromosoma bacteriano o replicarse independientemente en el citoplasma. De esta forma, se replica y se transmite a las células bacterianas hijas sin destruirlas. Los genomas de fagos integrados se conocen como profagos, y las bacterias que los albergan se denominan lisógenos. Es crucial señalar que, bajo ciertas condiciones ambientales cambiantes

como estrés, estos profagos pueden activar un ciclo de replicación lítica y proceder a destruir a su huésped (Gamachu y Debalo, 2022).

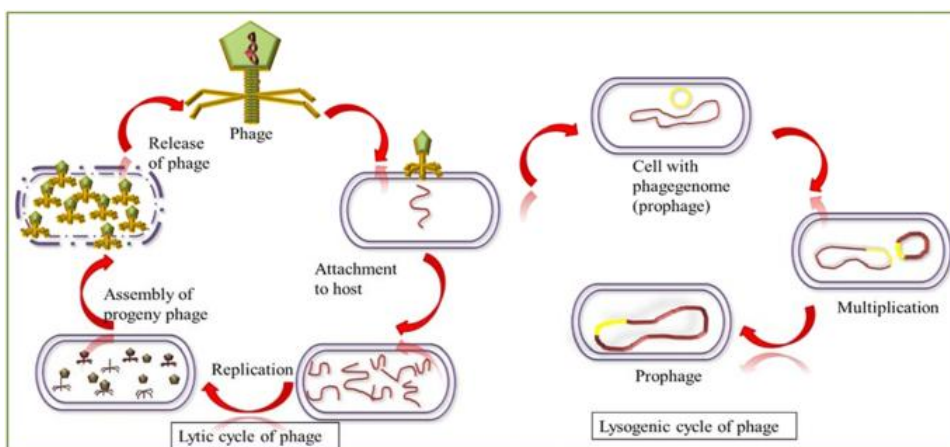


Figura 3. Ciclo de vida de los bacteriófagos. Diagrama que ilustra las principales estrategias de replicación de los fagos: ciclo lítico y ciclo lisogénico (Ranveer et al., 2024).

5.3.2 Ventajas y limitaciones del uso de bacteriófagos

La especificidad innata que poseen los bacteriófagos para infectar y matar a sus bacterias objetivo, además de su ubicuidad en el medio ambiente y el ser seguros para los seres humanos y animales, los hacen posicionarse como candidatos valiosos para usarlos en la industria alimentaria, como controladores contra patógenos. Últimamente, se han utilizado comercialmente una serie de productos hechos a base de bacteriófagos contra bacterias patógenas en alimentos como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y serovares de *Salmonella*. Esto pone como evidencia la confianza que ponen las industrias en estas soluciones biológicas, que cuentan con certificación GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) para controlar patógenos que perjudican al ser humano en la industria alimentaria. Además, existen empresas comerciales que fabrican productos a base de bacteriófagos que cuentan con la aprobación de la FDA como Microos Food Safety, Intralytix, Passport Food Safety, Phagelux y FINK TEC GmbH. La mayoría de estos productos contienen fagos naturales o fagos aislados del entorno que no se encuentran genéticamente modificados, y no contienen aditivos ni

preservantes, comúnmente son soluciones acuosas que están hechas a base de fagos purificados y concentraciones bajas de sales. Algunos de estos productos cuentan con certificaciones Kosher y Halal, y se encuentran disponibles para usarlos en alimentos orgánicos. En contraste con otras estrategias que se usan para la seguridad alimentaria, el costo que se emplea para aplicar bacteriófagos en los alimentos es muy bajo, puede variar entre 1 a 4 centavos por libra de alimento descontaminado, por otro lado, un tratamiento de irradiación y de alta presión hidrostática (HPP) puede costar entre 10 y 30 centavos por libra (Moye et al., 2018).

Es de amplio conocimiento que el uso de antibióticos en diversas producciones alimentarias agrícolas debe ser estrictamente regulado para evitar una resistencia bacteriana que eventualmente se extiende en entornos clínicos. Los antibióticos usados comúnmente como las tetraciclinas, el cloranfenicol, los aminoglucósidos y el cloranfenicol, resultan menos efectivos en bacterias multirresistentes a los antibióticos, lo que causa problemas en la industria médica. Cada año, la resistencia de las bacterias que causan enfermedades en los seres humanos cobra la vida de casi 700.000 individuos a nivel mundial, y se estima que las muertes podrían aumentar en más de 10 millones de muertes para el año 2050 (Baque Tóala et al., 2025). Ante este panorama, es crucial buscar nuevos fármacos para combatir la continua lucha contra la resistencia antimicrobiana. Para los expertos que buscan alternativas a los antibióticos, el mayor obstáculo es la presencia de Genes de Resistencia a los Antibióticos (ARG), los cuales confieren a las bacterias inmunidad contra los tratamientos tradicionales. Frente a este escenario, los bacteriófagos se posicionan como una opción biológica prometedora, incluso frente a bacterias altamente resistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, que pueden llegar a provocar enfermedades mortales. La ventaja de usar fagos reside en su gran capacidad para destruir a las bacterias mediante la ruptura o lisis celular en infecciones resistentes como las asociadas a la fibrosis quística. Sin embargo, una limitación en este sentido es que

las bacterias pueden desarrollar resistencia incluso a los fagos, por lo tanto, es esencial evaluar la susceptibilidad de cada bacteria a un fago específico antes de iniciar un tratamiento con estos virus.

Por otro lado, las endolisinas; también conocidas como lisinas, lisozimas de fagos, o enzimas muralíticas o mureolíticas, son una gama de enzimas hidrolasas de peptidoglicano codificadas por bacteriófagos y se sintetizan al final del ciclo de multiplicación por células infectadas con fagos. Particularmente las hidrolasas de peptidoglicano, han surgido como una fuente muy prometedora de agentes biológicos activos, por la capacidad que poseen para actuar de manera directa en la pared de la célula bacteriana, específicamente sobre los enlaces presentes en la capa de peptidoglicano; lo que da como resultado la degradación de la capa rígida de mureína y libera viriones que fueron ensamblados recientemente mediante lisis. Estas enzimas son útiles para combatir infecciones graves y eliminar contaminantes no deseados en alimentos, mediante el proceso denominado lisis desde dentro, ya que las endolisinas trabajan conjuntamente con proteínas llamadas holinas, estas proteínas se encargan de crear agujeros o poros en la membrana citoplasmática de la bacteria, una pared que da integridad y rigidez a la célula bacteriana, para que las endolisinas puedan atravesar la membrana y lleguen a su objetivo que es la pared de peptidoglicano (Loessner, 2005). Por ejemplo, la endolisina LysH5 mostró ser efectiva contra *S.aureus* en la leche de vaca y redujo la cantidad de colonias en 8 logaritmos (Nazir et al., 2023).

Sin embargo, el biocontrol de fagos presenta también desventajas y limitaciones. Un ejemplo, es que las preparaciones de fagos necesitan almacenarse bajo refrigeración en temperaturas entre 2 a 8 °C, si la cadena de frío se interrumpe hay un riesgo de pérdida de producto y podría volverse ineficaz. Por otro lado, si se emplea a los fagos junto con desinfectantes químicos, a menudo es indispensable aplicarlos por separado, esto se debe a que existen productos químicos agresivos que pueden

neutralizar las partículas de fagos, reduciendo así la efectividad del biocontrol. Además, se sabe que los fagos poseen una alta especificidad natural y pese a que es efectiva contra patógenos alimentarios específicos, puede convertirse en una limitación si el alimento se encuentra contaminado con múltiples bacterias patógenos. Una preparación de fagos dirigida a un solo tipo de patógenos no va a lograr eliminar a los otros contaminantes que estén presentes.

Otra gran desventaja en el uso de fagos es especialmente el empleo de bacteriófagos lisogénicos o templados en el control de contaminantes alimentarios, porque permite o facilita la transferencia de material genético de una bacteria a otra, lo que puede ocasionar la transferencia de genes potencialmente virulentos o de resistencia a antibióticos, transformando una bacteria dañina en una más patógena, y comprometiendo así la inocuidad alimentaria. Por esta razón, se debe evitar su uso en tratamientos para el control de patógenos. Por otro lado, una bacteria puede presentar inmunidad a la superinfección, esto se da cuando la célula bacteriana se encarga de proteger a un profago dentro de su genoma y así adquiere una resistencia a la infección por fagos comparables o casi relacionados. Además, la replicación y liberación del fago puede verse afectada por la liberación de sustancias que impiden su adhesión al patógeno bacteriano, además, la bacteria puede ocultar, modificar, bloquear o eliminar al receptor y el fago no podría unirse ni infectar eficazmente. Finalmente, los bacteriófagos pueden ser una amenaza en algunos procesos industriales como la fermentación, un ejemplo es la producción de lácteos o cerveza, ya que si se da una contaminación con fagos en estas industrias puede llevar a la destrucción total de un lote, y puede ocasionar grandes pérdidas económicas (Ranveer et al., 2024).

5.3.3. Aplicación de bacteriófagos contra *Shigella* spp. en alimentos y superficies

Para el control de patógenos en alimentos, los fagos líticos son el foco principal de interés por su capacidad para destruir activamente la bacteria huésped. Las familias de fagos Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae son las más comúnmente identificadas con actividad lítica contra *Shigella* spp. La diversidad de fagos que se encargan de infectar a *Shigella* es similar a los fagos que infectan a *E.coli*, debido a que estas dos bacterias comparten una estrecha relación evolutiva como se describió en el apartado 4.1.1, en específico las especies de *E.coli* productoras de la toxina Shiga (STEC) y *S dysenteriae* tipo 1 poseen en común la producción de toxinas Shiga, las cuales están codificadas por fagos. En base a esta relación, se asume que los fagos de estos dos tipos de bacterias compartirán composiciones genéticas similares y propiedades fisicoquímicas. Se han descrito fagos de *Shigella* que poseen características morfológicas y genómicas parecidas a los fagos T4, fagos que infectan exclusivamente a *E.coli* (Goodridge, 2013).

Los fagos de *Shigella* han sido aislado tanto de aguas residuales sin tratar, ríos contaminados, y de muestras fecales de humanos y otros animales, especialmente en países de desarrollo en donde la disentería a causa de *Shigella* es prevalente. Por ejemplo, Jun et al. (2016) aislaron un fago similar al T4 del río Gap en Corea y probaron que infectaba específicamente a *S. sonnei*. Este fago SP18, fue caracterizado y clasificado filogenéticamente como un fago tipo T4. Aunque este fago logró lisar a *S. sonnei*, no infectó a *S.boydii* o *S. flexneri*. SP18 posee un genoma de 170 pb y reveló una estrecha relación con el fago JS98, aislado de heces humanas, los dos fagos están vinculados a los fagos T4.

Por otro lado, un estudio reciente demostró que el uso de fagos es eficaz para reducir a *Shigella* en productos avícolas. Zhang et al., (2013) investigaron la capacidad

de tres fagos específicos de *Shigella* para inhibir su crecimiento en pollos listos para el consumo. Los fagos usados como el SF-A2 se aisló de un pollo con especias y sólo infectó al serotipo 2a de *S. dysenteriae*, mientras que los dos fagos restantes SD-11 y SS-92 fueron aislados de efluentes de granjas porcinas y fueron específicos para *S. dysenteriae* y *S. sonnei* respectivamente. Algunas de las muestras de pollos especiados se inocularon con especies individuales de *Shigella* a una concentración de 1×10^4 UFC/g, mientras que el resto de muestras se inocularon con un cóctel de *S. flexneri* 2a, *S. dysenteriae* y *S. sonnei* a una concentración de 3×10^4 UFC/g. Por otro lado, los fagos fueron añadidos individualmente o en cócteles a concentraciones de 1×10^8 PFU/g o 3×10^8 PFU/g, respectivamente. Los autores observaron que, si se usa una concentración más alta de fagos 3×10^8 PFU/g, da como resultado una mayor reducción de las bacterias. El cóctel de fagos logró disminuir la cantidad de bacterias hasta en 2log/g después de 48 horas de incubación, y no se detectó a *Shigella* spp. después de 72 horas. Estos resultados demuestran que los fagos específicos de *Shigella* tienen la capacidad de reducir o eliminar por completo y de manera eficaz a este patógeno en productos listos para el consumo humano (Zhang et al., 2013).

Diversos estudios respaldan la existencia de fagos específicos para cada serogrupo principal de *Shigella*, o cócteles diseñados para un amplio espectro. Se sabe que este patógeno se encuentra en alimentos como frutas y verduras, esto se presenta como un desafío particular, ya que este tipo de alimentos no pueden ser sometidos a tratamientos térmicos ni a métodos de desinfección agresivos, que provocarían la pérdida de sus cualidades organoléptica como la textura, el sabor y el aroma. Aunque existen agentes desinfectantes para frutas y verduras, comúnmente el cloro ha sido el más utilizado. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el cloro no es lo suficientemente potente para eliminar patógenos en productos frescos, en las concentraciones habituales <200 ppm, sobre todo en verduras de hoja verde. Es importante tomar en cuenta que, la eficacia del cloro puede verse comprometida en

ambientes donde la suciedad y la materia orgánica se desprenden durante el lavado, ya que esta materia puede neutralizar el efecto antimicrobiano del cloro. Debido a estas limitaciones se resalta la búsqueda constante de soluciones como los fagos para controlar patógenos (Magnone et al., 2013).

Una gran preocupación en el desarrollo de estos agentes biológicos es la posible aparición de variantes bacterianas resistentes a los fagos (Costa et al., 2019). Para superar este desafío y ampliar su espectro de acción, la estrategia predominante implica el uso de cócteles de fagos, es decir, combinaciones de dos o más fagos (Oliveira et al., 2021). Esta aproximación es ventajosa porque cada fago en la mezcla puede interactuar con receptores distintos en la superficie bacteriana o emplear diferentes mecanismos de lisis (Kifelew et al., 2020), lo que reduce significativamente la probabilidad de que la bacteria desarrolle resistencia a todos los componentes simultáneamente. Estos cócteles, al ofrecer una mayor diversidad de interacciones huésped-fago, demuestran una eficacia superior en comparación con las preparaciones de un solo fago (Sadekuzzaman et al., 2017). De hecho, diversos estudios, incluidos los de Islam et al. (2019) y Bhat (2021), han documentado la notable capacidad bactericida de los cócteles de fagos contra diversos patógenos relevantes en la industria alimentaria. La formulación de cócteles polivalentes promueve las especificidades individuales de cada fago para ofrecer un control más potente y resiliente contra la emergencia de resistencia bacteriana.

Por ejemplo, para especies como *Shigella boydii*, aunque es menos común que otras especies en ciertas regiones, la necesidad de fagos específicos es igualmente reconocida. La diversidad serológica dentro de *S. boydii* impulsa la búsqueda de fagos con rangos de huésped amplios o la inclusión de múltiples fagos específicos para los diferentes serotipos en cócteles. Un ejemplo del cóctel que incluye un fago para esta especie es el cóctel de cinco fagos ShigActive BC (BC3) desarrollado por Intralytix, está

actualmente en proceso de ser aprobado por la FDA como un producto GRAS, para ser usado en alimentos y combatir a especies de *Shigella* spp. Estudios han demostrado que la combinación de este cóctel con una desinfección con agua potable, brinda una estrategia de dos pasos eficaz para desinfectar los alimentos. En donde se produjo una inactivación general, logrando reducir las bacterias por debajo del límite de detección de 1 log UFG/ g (Magnone et al., 2013). Otro cóctel comercial destacado es ShigaShield™ desarrollado también por Intralytix, el cual fue aprobado para su uso en ciertos contextos. Soffer et al., (2017) demostraron su eficacia en la descontaminación de diversos productos alimenticios (carne, frutas, verduras) al lograr una reducción significativa de *Shigella* (1 log o 90%) con varias dosis, ilustrando cómo la combinación de fagos específicos de especie puede lograr una acción de amplio espectro para aplicaciones en la seguridad alimentaria.

Por otro lado, *Shigella flexneri* se caracteriza especialmente por su habilidad para desarrollar biopelículas, estructuras que se forman en superficies vivas e inanimadas. Estas biopelículas son la manera más predominante que usan los microorganismos para presentarse en la naturaleza y en las instalaciones industriales. Se presume que al menos el 65% de las infecciones por el consumo de alimentos contaminados se producen por la formación de biopelículas, además, este biofilm brindan una barrera protectora a las bacterias y aumentan el riesgo de que los alimentos se contaminen. Debido a los problemas de salud vinculados a la contaminación cruzada, es imprescindible evitar la formación de estas biopelículas.

En este contexto, un estudio reciente realizado por Choi et al. (2025), ilustra la aplicación de bacteriófagos para combatir la formación de biopelículas de *Shigella flexneri* en superficies críticas para la seguridad alimentaria, como el acero inoxidable. La investigación propuso diseñar un cóctel de fagos de *Shigella* capaz de ofrecer una acción antibacteriana tanto rápida como sostenida. Se aisló y caracterizó dos fagos de

S. flexneri, denominados S2_01 y S2_02, procedentes de muestras de aguas residuales. Ambos demostraron actividad lítica contra varias especies de *Shigella*. El análisis morfológico de estos fagos, realizado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), fue fundamental para su clasificación: el fago S2_01 reveló una cabeza alargada de aproximadamente 89 nm de diámetro y una cola contráctil de 44 nm, seguida de una no contráctil de 194 nm (Choi et al., 2025). La presencia de una cola contráctil es una característica morfológica distintiva de la familia Myoviridae, que pertenece al orden Caudovirales. Esta clasificación es coherente con otros fagos Myoviridae conocidos por su potente capacidad lítica, como el fago T4 de *E. coli* (Wang et al., 2022).

La evaluación individual de la actividad lítica de los fagos S2_01 y S2_02 reveló perfiles complementarios: S2_01 mostró una eficacia antibacteriana más prolongada, mientras que S2_02 exhibió una acción bactericida inicial más veloz. Con el fin de optimizar una lisis tanto rápida como duradera, se formuló un cóctel que combinaba S2_01 y S2_02 en una proporción de 1:9. Este cóctel demostró ser altamente efectivo no solo contra un amplio espectro de patógenos transmitidos por alimentos, incluyendo múltiples especies de *Shigella*, sino que su fortaleza principal se manifestó en el control de biopelículas. En pruebas realizadas en microplacas de poliestireno, el cóctel logró reducir la formación de biopelículas de *Shigella flexneri* hasta en un 79.29% y desestabilizar biopelículas ya establecidas en un 42.55% en un periodo de 24 horas. Lo que es aún más relevante para la aplicación industrial, el cóctel también fue efectivo en superficies de acero inoxidable tipo 304, donde consiguió una inhibición de la biopelícula de hasta 23.42% y una disrupción de hasta 19.89%. Además, se observó una supresión significativa del crecimiento de las células planctónicas de *S. flexneri*, bacterias individuales que flotan libremente en un medio líquido, sin adherirse a una superficie ni formar una comunidad organizada. El control efectivo tanto de las biopelículas como de estas células planctónicas es crucial para brindar una estrategia integral de seguridad

alimentaria. La capacidad del cóctel para dismantelar biopelículas no solo se debe a la lisis directa de las bacterias, sino también a la acción de enzimas líticas fágicas, como las endolisinas, que degradan la matriz polimérica extracelular (EPS) que confiere protección a la biopelícula. Al debilitar esta estructura, las bacterias quedan más expuestas al ataque de los fagos y son más vulnerables a las prácticas de limpieza y desinfección (Harper et al., 2014).

5.3.4 Desinfección de plantas: bacteriófagos vs. métodos convencionales

Para emplear bacteriófagos en la seguridad alimentaria es imprescindible seleccionar aquellos que presentan características claves como la alta virulencia, es decir, una capacidad de lisis eficiente, un amplio rango de huésped dentro de una especie patógena para abarcar diferentes cepas, estabilidad en diversas condiciones ambientales (pH, temperatura, humedad, presencia de materia orgánica) y, especialmente, la ausencia de genes que codifiquen toxinas o factores de virulencia, o que puedan mediar en la transferencia horizontal de genes, fagos líticos obligados que no puedan entrar en ciclo lisogénico ni transferir genes no deseados. Encontrar estas características permitirá que el biocontrol por fagos sea no solo seguro y eficaz, sino también capaz de ser implementado a gran escala en la industria, abriendo una nueva frontera en la lucha contra las enfermedades transmitidas por alimentos y la resistencia antimicrobiana. Su naturaleza biológica les confiere una seguridad intrínseca para el cuerpo humano, sumada a su peculiar habilidad para replicarse en presencia del patógeno y ejercer una rápida acción bactericida (Del Rio et al., 2021). De hecho, organismos reguladores como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) ya han reconocido la seguridad de productos fágicos específicos, otorgándoles la designación "Generalmente Reconocidos como Seguros" (GRAS), lo que valida su potencial para aplicaciones a escala industrial (Byun et al., 2022).

Los métodos tradicionales de desinfección en la industria alimentaria se basan fundamentalmente en el uso de agentes químicos como compuestos clorados (hipoclorito de sodio), compuestos de amonio cuaternario (QACs), yodóforos y ácidos peracéticos. Estos desinfectantes actúan a través de diversos mecanismos, incluyendo la desnaturalización de proteínas, el daño a la membrana celular y la inactivación de enzimas vitales, lo que conduce a la muerte bacteriana. Son efectivos para la reducción rápida de la carga microbiana en superficies limpias y bajo condiciones controladas. Sin embargo, su eficacia se ve comprometida significativamente por la presencia de materia orgánica, la cual puede reaccionar con el desinfectante y reducir su concentración efectiva o crear una barrera física que impide el contacto directo con los microorganismos. Además, el problema de la formación de biopelículas es un desafío constante para los desinfectantes tradicionales (Soffer et al., 2017). Las biopelículas protegen a las bacterias encapsuladas, disminuyendo la penetración del desinfectante y permitiendo la supervivencia de los patógenos. El uso continuo de ciertos desinfectantes también ha generado preocupación por el desarrollo de resistencia bacteriana, así como por la corrosión de equipos y el potencial de dejar residuos químicos, lo que exige rigurosos procedimientos de enjuague (ARCSA, 2017).

Los bacteriófagos ofrecen una alternativa diferente para la desinfección y el control de patógenos. La principal ventaja de los fagos es su alta especificidad. A diferencia de los desinfectantes de amplio espectro que eliminan tanto bacterias patógenas como beneficiosas, los fagos actúan de manera selectiva, dirigiéndose únicamente a su huésped bacteriano específico. Esta selectividad es particularmente importante en entornos donde se desea preservar una microbiota natural o donde la alteración del equilibrio microbiano podría llevar a la proliferación de otros patógenos. Por otro lado, los fagos poseen la capacidad única de replicarse en el sitio de la infección. Una vez aplicados, se multiplican exponencialmente a medida que infectan y lisan a sus bacterias objetivo, lo que significa que una pequeña aplicación inicial puede

resultar en una reducción significativa y sostenida de la carga bacteriana, amplificando su efecto antimicrobiano a lo largo del tiempo. Este mecanismo los distingue de los agentes químicos, que se agotan con el uso (Garvey, 2022).

Esta propiedad de replicación que poseen los fagos es especialmente valiosa para el manejo de biopelículas persistentes, estructuras bacterianas complejas altamente resistentes a los desinfectantes. Los fagos pueden penetrar la matriz polimérica extracelular (EPS) de la biopelícula y eliminar las células encapsuladas. Además, sus enzimas líticas también contribuyen a la disgregación de la propia matriz, facilitando la eliminación de la biopelícula y previniendo su reformación. Desde el punto de vista de la seguridad y el impacto ambiental, los fagos son agentes biológicos naturales, generalmente reconocidos como seguros para humanos y animales, y no dejan residuos químicos tóxicos en las superficies o alimentos, lo que los convierte en una opción más sostenible y ecológica (Ranveer et al., 2024).

7. CONCLUSIONES

1. Los bacteriófagos que se emplean en el control de *Shigella* spp. son virus líticos capaces de destruir activamente a las células bacterianas. Se destacan por su increíble especificidad para atacar únicamente a especies de *Shigella*, sin afectar a otros microorganismos o a las características organolépticas de los alimentos, especialmente en productos frescos que son sensibles al calor o a tratamientos químicos agresivos. La resistencia que poseen los fagos a ciertas condiciones ambientales como rangos específicos de temperatura, salinidad y pH, y la capacidad de replicación en los sitios de infección, son características clave que los convierten en herramientas eficaces en diversas matrices alimentarias y superficies de procesamiento de alimentos. Además, se logró evidenciar que los bacteriófagos contra este patógeno son fagos virulentos, que poseen un amplio espectro dentro de las especies de *Shigella* y que no presentan genes de virulencia o un ciclo lisogénico, así se garantiza la eficacia y seguridad de las soluciones basadas en fagos.
2. Los bacteriófagos ofrecen ventajas especiales frente a los métodos de desinfección químicos tradicionales. A diferencia de desinfectantes como el cloro o compuestos de amonio cuaternario que pueden presentar ineficacia en presencia de materia orgánica y no son selectivos, los fagos actúan con alta especificidad sobre *Shigella* sin afectar a la microbiota no patógena. La capacidad que presentan los fagos para penetrar y desorganizar a las biopelículas incluso en superficies como el acero inoxidable, supera las limitaciones que poseen los desinfectantes químicos en estos escenarios. Además, al ser de origen biológico natural no dejan residuos químicos tóxicos, lo que los posiciona como una opción más segura y ambientalmente amigable en las plantas de procesamiento de alimentos.

3. Entre las ventajas que presentan los bacteriófagos se encuentran la seguridad que brindan para los humanos y animales, su eficacia contra cepas bacterianas que son resistentes a antibióticos y su bajo costo de aplicación en comparación con otras tecnologías. Además, el uso de cócteles de fagos es una estrategia clave para ampliar el espectro de acción y así mitigar el desarrollo de resistencia. Sin embargo, también existen limitaciones importantes como la posible incompatibilidad con desinfectantes químicos agresivos, la necesidad de mantener una cadena de frío para asegurar su viabilidad, y el riesgo de que las bacterias adquieran resistencia a los fagos. Es de vital importancia evitar el uso de fagos lisogénicos por la transferencia de genes indeseables.
4. El avance de los bacteriófagos se ve reflejado por la existencia de múltiples productos basados en fagos, aprobados por organismos reguladores como la FDA que designan a los bacteriófagos como “Generalmente Reconocido como Seguro” (GRAS), y que ya están siendo usados contra patógenos alimentarios como *E.coli*, *L. monocytogenes* y *Salmonella*, además de que los mismos productos cuentan con certificaciones Kosher y Halal para su uso en alimentos orgánicos, resalta la confianza y la gran aceptación de estas soluciones biológicas.

8. REFERENCIAS

- Andrews, W. H., & Jacobson, A. (2023). Bacteriological Analytical Manual Chapter 6: Shigella. *U.S. Food and Drug Administration*, 136(March), 1–7.
- ARCSA. (2017). Instructivo Externo. *Agencia Nacional de Regulación Control y Vigilancia Sanitaria*, 3–11. https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/09/IE-B.3.0-PTC-02_IE-B.3.0-PTC-02_Inscripcion-de-productos-terminados-de-uso-y-consumo-humano-que-contengan-cannabis-no-psicoactivo-o-canamo.pdf
- Baque Tóala, D. S., Bernabé Soria, L. J., Buenaventura Alcívar, K. D., & Mina Ortiz, J. B. (2025). *Bacteriófagos como alternativas a los antibióticos : aplicaciones clínicas y desafíos Bacteriophages as alternatives to antibiotics : clinical applications and challenges*. 83–93.
- Barrantes, K., & Achí, R. (2009). Interacciones celulares en el proceso de invasión de Shigella sp. *Rev Panam Infectol*, 11(2), 56–61.
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529–563. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>
- Biosca, E. G., & Belén Álvarez, Y. (2017). *Bacteriófagos, Objetivos de Desarrollo Sostenible y Salud Global*.
- Centeno-Romero, M., Chacón-Arrieta, G., Vega-Aguilar, J. A., Gonzalez-Torres, A., & Leitón-Jiménez, J. (2021). Revisión sistemática de literatura. *Revista Tecnología En Marcha*. <https://doi.org/10.18845/tm.v34i2.4982>
- Chisavo, A. A., & Hussler, J. (2020). Control biológico de Enterobacterias en aguas residuales mediante bacteriófagos líticos : revisión bibliográfica. *Universidad de Los Andes, Bogotá D.C., Colombia*, 1–11. https://www.google.com/url?client=internal-element-cse&cx=008899433174443356507:lk_cqr5hqlq&q=https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/45009&sa=U&ved=2ahUKEwjFzcLpxd7vAhV3HbkGHbLHBoEQFjAAegQIARAB&usg=AOvVaw2ztV6vzRxMqQr4xyAVIXaa
- Choi, J., Park, S., & Chang, Y. (2025). Development and application of a bacteriophage cocktail for Shigella flexneri biofilm inhibition on the stainless steel surface. *Food Microbiology*, 125(August 2024), 104641. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104641>
- Departamento de Salud y Calidad. (2021). *Prevención Y Control De*. 51(1), 109–119.
- Endersen, L., & Coffey, A. (2020). The use of bacteriophages for food safety. *Current Opinion in Food Science*, 36, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.006>
- Garvey, M. (2022). Bacteriophages and Food Production: Biocontrol and Bio-Preservation Options for Food Safety. *Antibiotics*, 11(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101324>
- González-Torralba, A., & Alós, J. I. (2015). Shigellosis, the importance of hygiene in prevention. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(3), 143–144. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.11.001>
- Goodridge, L. D. (2013). Bacteriophages for managing Shigella in various clinical and non-clinical settings . *Bacteriophage*, 3(1), e25098. <https://doi.org/10.4161/bact.25098>

- Harper, D. R., Parracho, H. M. R. T., Walker, J., Sharp, R., Hughes, G., Werthén, M., Lehman, S., & Morales, S. (2014). Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics*, 3(3), 270–284. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030270>
- Jończyk, E., Kłak, M., Międzybrodzki, R., & Górski, A. (2011). The influence of external factors on bacteriophages-review. *Folia Microbiologica*, 56(3), 191–200. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0039-8>
- Jones, H. J., Shield, C. G., & Swift, B. M. C. (2020). The Application of Bacteriophage Diagnostics for Bacterial Pathogens in the Agricultural Supply Chain: From Farm-To-Fork. *PHAGE: Therapy, Applications, and Research*, 1(4), 176–188. <https://doi.org/10.1089/phage.2020.0042>
- Jorquera, D., Galarce, N., & Borie, C. (2015). El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: Bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista Chilena de Infectología*, 32(6), 678–688. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000700010>
- Jun, J. W., Giri, S. S., Kim, H. J., Yun, S. K., Chi, C., Chai, J. Y., Lee, B. C., & Park, S. C. (2016). Bacteriophage application to control the contaminated water with *Shigella*. *Scientific Reports*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep22636>
- Llanos-Chea, A., Citorik, R. J., Nickerson, K. P., Ingano, L., Serena, G., Senger, S., Lu, T. K., Fasano, A., & Faherty, C. S. (2019). Bacteriophage Therapy Testing Against *Shigella flexneri* in a Novel Human Intestinal Organoid-Derived Infection Model. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 68(4), 509–516. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002203>
- Loayza, K. (2013). *Características clínicas, epidemiológicas y tratamiento de la diarrea aguda causada por Shigella sp. en niños hospitalizados en el Servicio de pediatría del Hospital III Goreneche Arequipa, 2007-2012*. 2007–2012. <https://core.ac.uk/download/pdf/198127799.pdf>
- Loessner, M. J. (2005). Bacteriophage endolysins - Current state of research and applications. *Current Opinion in Microbiology*, 8(4), 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.002>
- Mena Cantero, A., & Valdés Sedeño, R. (2010). Conocimientos sobre shigellosis y su manejo epidemiológico en personal médico TT - Knowledges on shigellosis and its epidemiological management in medical staff. *Rev. Cuba. Med. Gen. Integr*, 26(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252010000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Monar Basantes, S. P., Cedeño Cajas, G. M., Vega Villacis, S. D., & González Ramírez, L. C. (2023). Síndrome diarreico asociado a *Salmonella* spp., y *Shigella* spp., en niños atendidos en un hospital pediátrico de la provincia de Chimborazo - Ecuador. *Anatomía Digital*, 6(4.3), 650–666. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i4.3.2827>
- Moye, Z. D., Woolston, J., & Sulakvelidze, A. (2018). Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses*, 10(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/v10040205>
- Nazir, A., Xu, X., Liu, Y., & Chen, Y. (2023). Phage Endolysins: Advances in the World of Food Safety. *Cells*, 12(17), 1–24. <https://doi.org/10.3390/cells12172169>
- Organización Panamericana de la Salud. (2022). Alerta epidemiológica emergencia y diseminación de *Shigella sonnei* con resistencia extrema a los antibióticos, riesgo potencial para Latinoamérica y el Caribe. *Organización Mundial de La Salud*, 6(1),

1–6.

- Peñafiel Altamirano, D., Escobar Aguilar, S., Gómez Usiña, J., Manzanilla Miranda, C., & Cruz Quintana, S. (2023). Detección de *Shigella* spp. en muestras de carne de pollo que se expende en el cantón Ambato. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(5), 644–655. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i5.745>
- Ranjbar, R., & Farahani, A. (2019). *Shigella*: Antibiotic-resistance mechanisms and new horizons for treatment. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3137–3167. <https://doi.org/10.2147/IDR.S219755>
- Ranveer, S. A., Dasriya, V., Ahmad, M. F., Dhillon, H. S., Samtiya, M., Shama, E., Anand, T., Dhewa, T., Chaudhary, V., Chaudhary, P., Behare, P., Ram, C., Puniya, D. V., Khedkar, G. D., Raposo, A., Han, H., & Puniya, A. K. (2024). Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. *Npj Science of Food*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00245-8>
- Rodríguez-Guerrero, E., Herrera-León, S., Gómez-Vicente, E., Navarro-Marí, J. M., & Gutiérrez-Fernández, J. (2023). Shigellosis attended in the emergency department of a regional hospital in southeastern Spain: from their presence to multiresistance. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 36(3), 282–290. <https://doi.org/10.37201/req/121.2022>
- Schroeder, G. N., & Hilbi, H. (2008). Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134–156. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-07>
- Shrivastava, S. R., Shrivastava, P. S., & Ramasamy, J. (2018). World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *JMS - Journal of Medical Society*, 32(1), 76–77. https://doi.org/10.4103/jms.jms_25_17
- Soffer, N., Woolston, J., Li, M., Das, C., & Sulakvelidze, A. (2017). Bacteriophage preparation lytic for *Shigella* significantly reduces *Shigella sonnei* contamination in various foods. *PLoS ONE*, 12(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175256>
- Varela, Z. S., Lavalle, L. P., & Alvarado, D. E. (2016). Bacteria causing of foodborne diseases: An overview at Colombia. *Salud Uninorte*, 32(1), 105–122. <https://doi.org/10.14482/sun.32.1.8598>
- Xu, Z., Ding, Z., Zhang, Y., Liu, X., Wang, Q., Shao, S., & Liu, Q. (2023). Shelf-life prediction and storage stability of *Aeromonas* bacteriophage vB_AsM_ZHF. *Virus Research*, 323(130), 198997. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198997>
- Zerpa L, R. (2011). Agentes etiológicos de diarea: bacterias y parásitos importantes en niños y adultos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28(1), 152–155. <https://doi.org/10.1590/s1726-46342011000100025>
- Zhang, H., Wang, R., & Bao, H. (2013). Phage inactivation of foodborne shigella on ready-to-eat spiced chicken. *Poultry Science*, 92(1), 211–217. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-02037>