

Uso de los bacteriófagos en el sector agropecuario.

The use of the bacteriophages in the agricultural sector.

Reina Evelyn Hernández Calzadilla¹, Léonides Castellanos González²

Resumen

Los bacteriófagos se encuentran en todos los lugares donde proliferan bacterias, por lo que resultan las entidades biológicas que más amplia distribución tienen en la naturaleza. El objetivo del trabajo fue realizar una revisión bibliográfica con información actualizada sobre los bacteriófagos incluyendo algunos de sus usos en el sector agropecuario. En la información revisada se pudo apreciar el vasto potencial del uso de fagos en diferentes campos como en la biotecnología y en la bio-remediación. Se emplean como indicadores de contaminación fecal en agua y suelos, así como en la fagotipificación o identificación de bacterias. Se utilizan además como biocontrol en los alimentos, aplicándose a una diversidad de productos frescos, fruta, carnes diversas y jugos. Los fagos virulentos se pueden utilizar como agentes de control biológico contra microorganismos patógenos en animales y plantas.

Palabras clave. Virus, bacterias, bio-remediación, control biológico

Abstract.

The bacteriophages are in all the parts where bacteria proliferate, for what they are the biological entity more broadly distributed all over the world. The objective of the present work was to upgrade information on the uses of the bacteriophages in the agricultural sector. They possess a wide use potential in different fields. In the biotechnology, they can be used as indicators of fecal contamination in water and floors as well as in the identification of bacteria; they are also used as biocontrol in foods, being applied to a diversity of fresh products, fruit, diverse meats and juices; the virulent phages can be used as agents of biological control against pathogens microorganisms animals and plants.

Key words: bacteria, biological control bio-remediation, virus

Introducción.

¹ Departamento de Tecnologías Agropecuarias. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Cienfuegos.

² Centro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible (CETAS). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Cienfuegos. Email: icastellanos@ucf.edu.cu

Los bacteriófagos son virus que fueron descubiertos de forma independiente por los microbiólogos Frederick W. Twort en (1915) y Félix d'Hérelle en (1917). Este tipo de virus constituye un sistema simple y de gran abundancia en la naturaleza y constituye la última clase principal de virus en ser descubierta. En esencia, los bacteriófagos se encuentran de manera ubicua en el ambiente y en el lugar en que se encuentre su célula huésped (Tetárt et al., 2001).

La existencia de los bacteriófagos se sospechaba ya en 1896, cuando la actividad antimicrobiana contra el *Vibrio cholerae* se observó en las aguas de los ríos Ganges y Jumna en la India. A principios del siglo XX, científicos de todo el mundo fueron capaces de aislar y estudiar tales “agentes de lisis bacteriana transmisibles” por su capacidad para erradicar bacterias indeseables (no sólo en seres humanos, sino también en plantas y animales). (Lizana, 2012).

Los Bacteriófagos o fagos son las estructuras biológicas con ácidos nucleicos más abundantes sobre la tierra. Están ampliamente extendidos, incluyendo alimentos (García et al., 2010), y orígenes diversos como agua, suelo, aire además del lugar en que se encuentre su célula huésped (Kutateladze y Adamia, 2010).

Gaviria (2012) señala que son virus que infectan y se multiplican en la bacteria, llevando a la destrucción la célula hospedera con la liberación de bacteriófagos que re-infectan otras bacterias. Fueron descubiertos en las primeras décadas del siglo XX, pero su uso clínico no se extendió en países occidentales sino hasta la década del 80, debido a diferentes razones. A pesar de que se realizaron múltiples esfuerzos para generalizar su uso como agentes terapéuticos en las décadas de 1920 y 1930 fueron cayendo en el olvido por la ciencia de la época debido al descubrimiento de los antibióticos.

Un papel muy importante jugó la Asociación Médica Americana, la cual recomendó que se pudiera dejar todo tipo de tratamiento a través de bacteriófagos. Este rechazo se produjo por razones tales como el desconocimiento de la biología de los bacteriófagos para ese entonces, el diseño erróneo de los protocolos experimentales y la falta de controles adecuados en los diferentes experimentos realizados (Luria et al., 1943). Con el empleo generalizado de los antibióticos para combatir infecciones, durante casi cuarenta años se abandonó en occidente cualquier tipo de investigación sobre el uso de bacteriófagos como agentes terapéuticos, aunque se usaron de forma extensa para análisis genéticos y para establecer las bases de la biología molecular.

En la década de 1980, se empezaron a usar los bacteriófagos en animales de experimentación en los países occidentales. En este sentido, los trabajos de Smith y Huggins (1987) en la década del 80 se pueden considerar como un punto de inflexión, al retomar de nuevo la importancia de los bacteriófagos en la terapia animal, porque de los mismos se habían obtenido resultados muy esperanzadores.

Los bacteriófagos sirven como herramienta para la modificación genómica bacteriana y para la construcción de vacunas a nivel terapéutico. Además se usa en terapias alternativas para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias. Este uso es sustentado por investigadores y científicos a través de estudios rigurosos. En estos estudios se han aislado bacteriófagos y posteriormente se han caracterizado de forma específica, para usarse de acuerdo al interés investigativo. Debido a la adaptación de

patógenos multirresistentes a los antibióticos se están retomando los estudios sobre fagoterapia (Bruttin y Brussow, 2005).

El objetivo de esta investigación fue realizar una revisión bibliográfica con información actualizada sobre los bacteriófagos incluyendo algunos de sus usos en el sector agropecuario.

Virus de bacterias

Los virus son moléculas de DNA o RNA rodeadas por una envoltura proteica que necesitan células viables para poder replicarse. Los virus utilizan la maquinaria metabólica de las células para sintetizar su material genético y proteínas de la envoltura. Existen distintos tipos de virus que pueden infectar células procariontes o células eucariontes. Los bacteriófagos o fagos son virus que se reproducen en células procariontes. El genoma de los fagos puede ser RNA simple cadena (MS2, Q β), RNA doble cadena (ϕ 6), DNA simple cadena (ϕ X174, fd, M13) o DNA doble cadena (T3, T7, lambda, T5, Mu, T2, T4). Estos ácidos nucleicos pueden contener bases inusuales que son sintetizadas por proteínas del fago. En los T-pares el genoma no contiene citosina sino 5'- hidroximetilcitosina, mientras que en otros tipos de fago alguna de las bases esta parcialmente sustituida (Alfaró et al., 2014).

Los bacteriófagos son un grupo extremadamente común y diverso de virus. Son la forma más común de entidad biológica en los medios acuáticos. En los océanos hay hasta diez veces más de estos virus que de bacterias (Wommack , 2000) y alcanzan niveles de 250 millones de bacteriófagos por milímetro cúbico de agua marina.

A pesar de que los fagos son virus simples a nivel estructural y genético, han resultado muy útiles para el estudio de varios fenómenos moleculares. Los conocimientos alcanzados en las investigaciones realizadas con fagos constituyeron la base del desarrollo de la biología molecular y el número de la progenie liberada puede llegar hasta 200 nuevas partículas fágicas por bacterias lisadas (Santiago, 2004).

El hecho de descubrir virus que pueden infectar y destruir bacterias fue recibido con optimismo para usos terapéuticos (Rojas, 2006). Los fagos son de naturaleza diversa, dentro de sus características se pueden mencionar que éstos pueden ser más resistentes que su bacteria huésped a variaciones en el medio ambiente, son parásitos obligados intracelulares, no tienen metabolismo intrínseco y requieren la maquinaria metabólica de su célula huésped para soportar su reproducción (Wagenaar et al., 2005). Los fagos más abundantes en la naturaleza pertenecen a los caudovirales que representan el 95% de todos los fagos reportados (Santiago, 2004).

Los fagos se recogen en una filogenia análoga a la de los seres vivos. Sin embargo, la falta de datos no permite una clasificación tan extensa, de manera similar a lo que pasa con los virus de eucariotas. Los bacteriófagos se clasifican en 10 familias taxonómicas conocidas como: *Corticoviridae*, *Cytoviridae*, *Inoviridae*, *Leviviridae*, *Microviridae*, *Myoviridae*, *Pooviridae*, *Plasmaviridae*, *Siphoviridae* y *Tectiviridae* y dependen del grupo de bacterias que son capaces de infectar. Aunque se conocen un buen número de

bacteriófagos los más conocidos y utilizados son el fago lambda, el fago Phi6, el T4, uno de los más grandes con 200x 100 nm, o el T7 (Contreras, 2014).

Los fagos son virus altamente específicos que usan las células bacterianas de sus huéspedes como fábricas para sus propias replications y tienen la habilidad de desplegar péptidos o proteínas sobre sus superficies, lo cual se conoce como exposición de fagos. La exposición de Fagos puede ser usada como una herramienta poderosa para clasificar por afinidad de reactivos para todo tipo de objetivo, desde pequeñas moléculas hasta proteínas e incluso células. Esto se debe a que los fagos son específicos a su huésped, y sólo pueden infectar especies o incluso cepas específicas. La tipificación mediante fagos es útil para diferenciar aislados bacterianos y puede ser usada para identificar y caracterizar cepas asociadas a epidemias. (IALIMENTOS, 2011).

Interacción fago-bacteria

Los fagos tienen diferentes formas de actuar y en algunos casos se puede observar que las bacterias desarrollan distintos mecanismos de resistencia a la infección. Estos mecanismos son es complicados y difícil de explicar, ya que están actuando los dos microorganismos y no se sabe con exactitud cual de los dos es el que esta desarrollando la resistencia por un lado y la actividad lisogénica por el otro.

Los sistemas más ampliamente estudiados son aquellos de las bacterias ácido lácticas; principalmente *Lactococcus* dada su importancia en la industria alimenticia. Sobre la base del punto de acción del sistema de resistencia en el ciclo lítico del fago, se han descrito cuatro grupos de mecanismos: interferencia adsorción del fagos, prevención de la inyección del DNA del fago, restricción /modificación e infección abortiva (Breeuwer et al., 2003). Estos autores señalan que si se sigue el ciclo infectivo de un fago lítico en el tiempo midiendo la cantidad de partículas virales como unidades formadoras de placa (UFP/mL), se puede observar que después de la etapa de adsorción del fago a la superficie de la bacteria, existe una etapa en que no se detecta acumulación de partículas virales al interior de ésta, esta etapa se conoce como “eclipse” y se caracteriza por una activa síntesis de ácidos nucleicos, en esta etapa son imprescindibles las proteínas codificadas por genes tempranos del fago .

Los mecanismos por los que se rige el proceso de fagotipia son conocidos desde hace años. Comprende cuatro etapas que suelen repetirse en la mayor parte de los casos y que inician con la infección de la bacteria por el fago y culminan con la destrucción de las bacterias que actúan como hospedadoras. Previamente, se da la destrucción de los fagos inservibles y la amplificación de los que resultan útiles para el proceso en el interior de las bacterias (Sulakvelize et al., 2004). El proceso de infección podría facilitar nuevas estrategias terapéuticas para enfermedades víricas y bacterianas. Esta especificidad virulenta de los fagos ofrece perspectivas biológicas, como instrumento para identificar cepas bacterianas específicas así como el biocontrol o preservación de alimento (Welkos et al., 1974).

La capacidad de actuar como agentes bactericidas se debe a su ciclo de vida. Los fagos pueden realizar dos tipos de ciclo de desarrollo: lítico o lisogénico. Únicamente

aquellos fagos capaces de realizar un ciclo lítico producen la eliminación eficaz de las bacterias, por lo que son los que se utilizan en la terapia fágica (García et al., 2015).

Diferentes usos de fagos en el sector alimentario

Los bacteriófagos pueden encontrarse dondequiera que se tengan bacterias, existen incluso en el cuerpo humano, asociados con la flora microbiana. Una característica importante de ellos, es su elevada especificidad; generalmente un bacteriófago puede atacar sólo a una especie bacteriana, o incluso a una cepa determinada dentro de una especie en particular. Su descubridor, Félix D'Herelle, observó que cuando se presentaban epidemias de cólera en la India, la recuperación de los pacientes coincidía con la aparición de fagos contra *Vibrio cholerae* (bacteria causante del cólera) en sus deyecciones, percatándose con ello del potencial de los bacteriófagos para contrarrestar el efecto de los patógenos bacterianos; fue así como nació la terapia fágica. Desde entonces, los fagos han sido estudiados como herramienta para tratar infecciones bacterianas. Su aplicación en la agricultura no es nueva, y frente al grave problema que representa la resistencia bacteriana a los antibióticos, el uso de bacteriófagos para el control de fitopatógenos se presenta como una alternativa innovadora. Esta nueva alternativa ofrece una elevada especificidad con respecto al blanco al que atacará, baja toxicidad tanto para los seres humanos como para el ambiente y además son agentes que pueden autoamplificarse y evolucionar (Serrano et al., 2013).

La inocuidad alimentaria y del agua son una preocupación mundial y es fácil ver los efectos devastadores de la contaminación de alimentos en las noticias del mercado de casi todas las regiones, está en juego el mercado mundial. Son cientos de millones de dólares en productos alimenticios que se están retirando y descartando debido a la contaminación, la infección humana, la enfermedad y la muerte (Atterbury et al., 2003).

La lucha contra los microorganismos patógenos mediante el uso de fagos se propuso poco después del descubrimiento de éstos, aproximadamente hace 90 años. Con el descubrimiento de los antibióticos se redujo la investigación sobre la terapia por fagos. Hoy en día, el problema cada vez mayor es la resistencia de antibióticos por parte de las bacterias (en este caso patógenas) reavivando así el interés en la terapia de fagos, y relativamente en poco tiempo el concepto fue ampliado a la esfera de la inocuidad alimentaria (Hagens et al., 2007).

Entre los avances en el uso de fagos se puede mencionar el desarrollo de nuevos fagos con potencial lítico específicos contra bacterias patógenas que se requiere como agente para la descontaminación de productos alimenticios y la sanitización del ambiente de fabricación. Esto se puede lograr cuando se obtiene una cantidad efectiva de al menos un fago o en forma de coctel (Breeuwer et al., 2003).

Una característica de los fagos que se ha aprovechado son las enzimas de polimerasa de polisacárido que se segrega durante la inserción del fago-bacteria. Las enzimas degradan la cápsula bacteriana y permite que los fagos se unan a los receptores de la membrana externa (Hughes et al., 1998). Esta característica ha atraído el interés por su aplicación para el control de la formación de biofilm, añadiendo fagos a las superficies de trabajo en las que se manipulan alimentos. Este campo es emergente y se conoce como biología sintética que pretende diseñar y construir sistemas biomoleculares

utilizando fagos contra microorganismos patógenos, de la misma forma, en algunos alimentos se podría eliminar un patógeno por simple competencia. La gran ventaja de un sistema de estas características viene dado por la alta especificidad de los fagos hacia bacterias específicas (Dougherty, 2007).

Las investigaciones donde se han utilizando fagos se centran en el tratamiento de variedades entéricas de *Salmonella* y de infecciones respiratorias en ganado y aves de corral. Algunas investigaciones han demostrado la incursión de bacteriófagos que se usan en productos alimenticios (Greer, 2005).

Los fagos se han empleado para combatir microorganismos de importancia en alimentos como la *Listeria monocytogenes* y el *Enterobacter sakazakii* (Rodríguez, 2006). Estos microorganismos se utilizan también contra las bacterias patógenas, en particular resistentes a múltiples medicamentos, por ejemplo, son adecuados para luchar contra las cepas de *Staphylococcus* tales como *S. aureus* y *S. epidermidis* (Nelly et al., 2002).

Existen las bacterias patógenas resistentes a diferentes antibióticos que pueden estar presentes tanto en los alimentos, como en las áreas donde se procesan los mismos. También se encuentran en diferentes áreas de asistencia de salud pública que incluye los implantes quirúrgicos, aditamentos metálicos y plásticos, dispositivos médicos, superficies de azulejos y vidrio entre otros.

En el laboratorio de la Universidad Politécnica del Estado de Morelos se han aislado bacteriófagos que destruyen específicamente a *R. solanacearum*. En uno de ellos se ha caracterizado y secuenciado su genoma al 100% y se está analizando para determinar si cumple con las características adecuadas para funcionar como agente de control biológico, lo cual incluye, entre otras cosas, que no se integre al genoma bacteriano y que siempre destruya a la bacteria que infecta. Adicionalmente, se realizan ensayos sobre su estabilidad en el ambiente, su capacidad para proteger a las plantas de jitomate frente al reto bacteriano. También se usa en ensayos para escalar su producción del matraz al biorreactor, hasta purificarlo y mantenerlo en un vehículo en el que sea estable y en el que pueda aplicarse en el campo. Se espera culminar con un producto que ayude a los productores de jitomate a obtener mejores cosechas, alineadas con el desarrollo sustentable y más competitivas en el mercado mundial al reducir el uso de agroquímicos, muchos de los cuales están prohibidos en diversos países (Serrano et al., 2013).

En los últimos años, las empresas dedicadas a la biotecnología comenzaron a desarrollar productos utilizando fagos específicos para eliminar las bacterias que causan enfermedades transmitidas por alimentos ETA's. En septiembre de 2006, la administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica incluye a los fagos en la categoría de "aditivos alimentarios", para reducir la presencia de la bacteria *Listeria monocytogenes*. La empresa Intralytix, Inc. sostiene que su "coctel" de seis diferentes fagos reduce la probabilidad del desarrollo de estas bacterias patógenas y el Departamento de Agricultura (USDA) aprobó posteriormente un producto a base de fagos de la compañía *OmniLytix Company* diseñado para ser rociado con la finalidad de reducir la presencia de *E. coli* (Strauch et al., 2007).

Los métodos de detección usando bacteriófagos pueden permitirle a los productores de alimentos detectar rápidamente cualquier patógeno bacteriano presente en sus

productos. Estos métodos también proveen un medio efectivo para reducir significativamente o prevenir la contaminación de alimentos con bacterias patogénicas específicas (Ialimentos, 2011).

Se estima que las enfermedades causadas por *Salmonella* generan un gasto de 100 millones de dólares anuales a los productores de cerdo. Reportes de epidemias humanas de salmonelosis asociadas con el consumo de cerdo son raras, pero los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE.UU. (CDC por sus siglas en inglés) estiman que los brotes alimentarios de salmonelosis de todas fuentes afectan 1,4 millones de consumidores anualmente.

McLaughlin y Brooks (2008) crearon y adaptaron métodos para recoger, aislar e identificar fagos que atacan y matan las cepas de *Salmonella*, la cual causa enfermedades en ganado, mascotas y humanos, pero los huéspedes a menudo no muestran señales de enfermedad, complicando los intentos de detección y control. Estos autores examinaron la especificidad bacteriana de huésped de los fagos encontrados en el estiércol del cerdo y usando la microscopía electrónica, clasificaron los fagos según sus tamaños y formas únicas. Información sobre su estudio ayudará a los científicos a comprender mejor la ecología microbiana dentro de las lagunas de desperdicios de cerdo. Ellos usarán los fagos que ahora han sido caracterizados para desarrollar nuevos métodos para controlar la salmonella.

Se ha utilizado bacteriófagos en forma de coctel que podían reducir la incidencia de *Salmonella* en productos a base de carne de pollos (canal y piel) (Goode et al., 2003) en semillas germinadas, dulce de frutas cortadas (Higgins et al., 2005) y pavos procesados. En la piel de pollo la reducción de *Salmonella* se debió al incremento en el número de fagos por agente patógeno utilizando una multiplicidad de infección (MI) de 100 a 1000 (Strauch et al., 2007).

La referida terapia fágica también se ha usado para curar enfermedades infecciosas como en el caso de aves infectadas evitando la colonización de *Salmonella*, así como su utilización en el tratamiento de aguas residuales (McLaughlin et al., 2008).

Su función como receptores “sensores” ofrece ventajas sobre métodos que se basan en anticuerpos: su eficiente inmovilización, la posibilidad de usar diferentes métodos de detección debido al fácil etiquetado y la fácil regeneración de su funcionalidad luego de la inmovilización. Además, las proteínas de los fagos pueden ser modificadas; específicamente se puede intensificar su estabilidad y afinidad, lo cual facilita su funcionalidad en nano partículas y en superficies. Estas ventajas permiten a las proteínas recombinantes de fagos cumplir con los requerimientos de sensibilidad y estabilidad necesarias para la detección de patógenos bacterianos y contaminantes de alimentos en sus matrices naturales. Reemplazar anticuerpos por proteínas de fagos en pruebas de diagnóstico disponibles comercialmente permite el desarrollo de ensayos capaces de detectar incluso bajos niveles de contaminación mediante bacterias peligrosas (Ialimentos, 2011)

Conclusiones.

Por lo descrito anteriormente, se puede apreciar el amplio potencial del uso de fagos en diferentes campos. En la biotecnología, los bacteriófagos se pueden emplear como indicadores de contaminación fecal en agua y suelos así como en la fagotipificación o identificación de bacterias. Se utilizan además como biocontrol en productos alimenticios, aplicándose a una diversidad de productos frescos, fruta, carnes diversas y jugos. Los fagos virulentos se pueden utilizar como agentes de control biológico contra microorganismos patógenos en seres humanos, animales y plantas.

Referencias bibliográficas.

- Alfaro, J G. (2014). Bacteriófagos más importantes. Colegio Americano de San Carlos SC. Published in: Ciencia.
Disponible en www.slideshare.net Visitado 27- 5-2015.
- Atterbury, R., Connerton, P., Dodd, C. H., Rees, C., Connerton, I. (2003). Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to a reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol* 69 (10): 6302–6306.
- Breeuwer, P., Boissin-Delaporte, C., Joosten, H., Lardeau, A. (2003). Isolated phages and their use as disinfectant in food or for sanitation factory environment. *Patente Europea EP 1533 369 A1*.
- Bruttin A, Brussow H. (2005); Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 49:2874-2882.
- Contreras, R. (2014). ¿Qué son los bacteriófagos?
<http://biologia.laguia2000.com/virus/que-son-los-bacteriofagos#ixzz3bGccRQ4q>.
Visitado 27-5-2015.
- Dougherty, E. (2007). Team builds viruses to combat harmful 'biofilm' A big step forward for synthetic biology. Massachusetts institute of technology. Disponible en <http://web.mit.edu/newsoffice/2007/biofilm-0706.html>. Visitado 26-5-2015.
- Flores, A. (2006). Virus bacteriófagos como una manera nueva de controlar *Salmonella*

- García P, Martínez B, Gutiérrez D, Rodríguez L y Rodríguez A (2015). *ALBEITAR*. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC).
- García, P., Rodríguez, I., Rodríguez, A. y Martínez, B. 2010. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. Trends in Food Science & Technology, 21, 373-382.
- Gaviria, A. (2012) .Técnicas para aislamiento de bacteriófagos específicos para E.Coli *MVZ Córdoba. Volumen 17(1)*. 2852-2860
- Greer, G. (2005). Bacteriophages control of foodborne bacteria. Journal of Food Protection 68(5):1102-1111.
- Goode, D., Allen, V. M., Barrow, A. (2003). Reduction of experimental Salmonella and Campylobacter contamination of chicken skin by application of lytic Appl Environm Microbiol. 69 (8):5032–5036.
- Hagens, S. y M.J. Loessner.(2007). Application of bacteriophages for detection and control of foodborne pathogens. Appl. Microbiol Biotechnol. 76 (3):513-519.
- Hernández, A. (2007) Aislamiento, caracterización y detección precoz de bacteriófagos de *Streptococcus thermophilus* en la industria Láctea.[Tesis doctorado en ciencias]. Oviedo: Universidad de Oviedo.
- Higgins, J. P., Higgins, S. E., Guenther, K. L., Huff, W., Donoghue, A. M., Donoghue, D. J., Hargis, B. M. (2005). Use of a specific bacteriophage treatment to reduce Salmonella in poultry products. Poultry Science, 84(7):1141-1145.
- Hughes, K. A., I. W. Sutherland y M. V. Jones. (1998). Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. Microbiology (144): 3039-3047.
- IALIMENTOS*. (2011). El poder de los bacteriófagos en la industria de alimentos. 24. Disponible en www.revistaialimentos.com.co/ediciones/ediciones-2011/edicion-24/especial-inocuidad-en-colombia/el-poder-de-los-bacteriofagos-en-la-industria-de-alimentos.htm. Visitado 28-5-2015.

- Kutateladze, M. y Adamia, R. (2010). Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol* 28: 591-5.
- Lindqvist, H. (1998). Bacteriophage and gene transfer. *APMIS (Suppl 84)*:15-8.
- Lizana, F. (2012) BACTERIOFAGOS: ¿demasiado bueno para ser verdad? Blog de Farmacia. MEDICAMENTOSO. Visitado 28-5-2015.
- Luria, E., Delbrück, M., Anderson, F. (1943); Electron microscope studies of bacterial viruses. *J. Bact* , 46:57-77.
- Mancera, A., Vázquez, J., Heneidi, A. (2004). Fagotipificación de aislamientos de *Salmonella enteritidis* obtenidos de aves en México, *Técnica Pecuaria en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.* 42(2):287-294.
- Midia*. (2015). Los bacteriófagos en el control de salmonella en las aves y sus productos. 2 (01). Disponible en www.tecnologiaavipecuariadigital.com/midiav2/2015/01/bacteriofagos-control-salmonella-aves-productos. Visitado 28-5-2015.
- McLaughlin, M. R., Brooks. J. (2008). EPA worst case water microcosms for testing phage biocontrol of *Salmonella*. *USDA-ARS. J. of Environmental Quality.* 37:266–271.
- Nelly, M., Mcgeer, A., Willey, B. M. (2002). Antibacterial therapy for multi-drug resistant bacteria. Patente US2002/0001590.
- Rodríguez Jerez., J.J. (2006). Virus como aditivos, alimentarios. Disponible en: <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2006/10/04/25221.php>
- Rojas M. (2005). Bacteriófagos específicos para *Rhodobacter Sphaeroides*: Aislamiento, caracterización y potenciales transductores [Tesis doctorado en ciencias]. Oviedo: Universidad de Oviedo.
- Santiago, N. (2004). Los bacteriófagos en la biología molecular pasada y actual

en Revolución combinatoria. *Elfos. Scientiae. Cuba.* pp: 41-55

Serrano, R., Hernández, J., Guillén R, (2013). Virus para proteger el Jitomate. *Revista*

Hypatia N.48.

Smith, H., Huggins, M., Shaw, K. (1987). The control of experimental *Escherichia coli*

diarrhoea in calves by means of bacteriophage s. *J Gen Microbiol*; 133: 1111- 26.

Sonea, S. (1987) Bacterial viruses, prophage, and plasmids, reconsidered. *Ann N Y AcadSci* ; 503:251-60.

Sulakvelize, A., Glenn, M., Alavidze, Z., Pasternack G., Brown, T. (2004). Method and

device for sanitizations using bacteriophages. United Status Patente US

6699701B1.

Strauch, E., Hammerl, J. A., Hertwig. S. (2007). Bacteriophages: New tools for safer

food?. *Journal of Consumer Protection and Food Safety.* 2:138–143

Tetárt F., Desplats C., Kutateladze, M., Monod, C., Ackermann, H., Krich H. (2001).

Phylogeny of the major head and tail genes of the wide ranging T4Type bacteriophages. *J Bact (Oimimj9)*; 183:358-66.

Wagenaar, J., Van Bergen, M., Mueller, M., Wassenaar, T., Carlton, R. (2005). Phage

therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. *Vet Microbio*; 109:275–283.

Welkos, S., Schreiber, M., Baer. H. (1974). Identification of *Salmonella* with the O-1

bacteriophage. *Appl Microbiol.* 28:618-622.

Recibido: 18/02/2014

Aprobado:28/05/2014