



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

***LISTERIA MONOCYTOGENES: PATOGENIA E IMPORTANCIA
CLÍNICA EN HUMANOS***

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA:
VÉLEZ REYES LIZET MICHELLE**

ASESOR: Q.F.B. RAÚL GARZA VELASCO

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

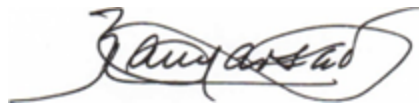
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profesor: Raúl Garza Velasco
VOCAL: Profesor: Abel Gutiérrez Ramos
SECRETARIO: Profesor: Alejandro Camacho Cruz
1er. SUPLENTE Profesor: Hugo Antonio Hernández Pérez
2° SUPLENTE: Profesora: Ana Lilia Cruces Martínez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.



ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. Raúl Garza Velasco



SUSTENTANTE:

Véllez Reyes Lizet Michelle

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN-----	1
OBJETIVOS -----	3
I. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y CLASIFICACIÓN DE <i>L. MONOCYTOGENES</i> -----	4
II. RESISTENCIA DE <i>L. MONOCYTOGENES</i> A LAS CONDICIONES DE ESTRÉS. EN LAS PLANTAS DE ALIMENTOS -----	10
Fuentes de contaminación-----	10
Respuesta de <i>Listeria</i> al estrés ambiental y su eficiente factor sigma alternativo SigB-----	12
Regulación de la respuesta al estrés -----	16
III. PATOGENIA Y PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE <i>L. MONOCYTOGENES</i> -----	21
Posible correlación entre adaptación al estrés y virulencia-----	23
Resistencia de <i>L. monocytogenes</i> al estrés dentro del organismo humano ---	26
Supervivencia del microorganismo en el estómago -----	26
Tolerancia del patógeno al estrés osmótico intestinal y a las sales biliares-----	28
Competencia entre <i>L. monocytogenes</i> y la microbiota endógena -----	30
Transición desde la tolerancia al estrés hasta la infección -----	32
Establecimiento de la infección humana por <i>L. monocytogenes</i> -----	34
Ingreso a las células eucariontes -----	37
Propagación célula-célula: importancia de la proteína ActA -----	41
<i>L. monocytogenes</i> en la sangre-----	43

Evasión de la respuesta inmunitaria del hospedero por <i>Listeria</i> -----	45
Invasión de hígado y bazo-----	46
Invasión del cerebro-----	48
Listeriosis placentaria-neonatal -----	50
IV. PATOLOGÍA ASOCIADA A <i>L. MONOCYTOGENES</i> -----	53
Listeriosis neonatal -----	53
Gastroenteritis -----	55
Neurolisteriosis en adultos-----	56
Hepatitis y abscesos hepáticos -----	58
Peritonitis-----	58
Endocarditis -----	59
Septicemia -----	60
V. TRATAMIENTO CONTRA LISTERIOSIS-----	62
Terapia con antibióticos -----	62
Terapia con bacteriocinas -----	67
Terapia con bacteriófagos -----	68
CONCLUSIONES -----	74
REFERENCIAS-----	81

INTRODUCCIÓN

L. monocytogenes es un bacilo Gram positivo que causa graves infecciones transmitidas mediante la ingestión de alimentos contaminados. Fuera de las células de su hospedero es muy móvil gracias a sus flagelos, si bien al ingresar al humano esas estructuras se van perdiendo; no obstante, el microorganismo continúa siendo móvil, dada su extraña capacidad para adquirir y polimerizar colas de actina que lo impulsan a través del citoplasma de las células eucariontes.

Adicionalmente, destaca por su elevada mortalidad que provoca entre quienes presentan infecciones sistémicas. Por fortuna, pocos enfermos desarrollan la forma fatal del padecimiento, implicando principalmente a mujeres embarazadas, recién nacidos, adultos mayores y personas inmunocomprometidas.

Este patógeno representa uno de los pocos que pueden atravesar placenta. Las mujeres embarazadas pueden experimentar cuadros semejantes a la influenza, pero si su feto es infectado, el cuadro resultante es sistémico y probablemente fatal. Las epidemias por este bacilo han tenido lugar debido al consumo de alimentos suplementados comerciales que contienen leche, aunque en algunos brotes también se han involucrado otros tipos de alimentos, que van desde vegetales y coles hasta paté y camarón.

Una de sus características asociadas a la patogenia consiste en su posibilidad de desarrollar a temperaturas de refrigeración, lo que distingue a este agente causal de muchos otros.

Evidentemente, *L. monocytogenes* no se propaga de persona a persona entre la población, lo que sólo puede ocurrir por ingestión de alimentos contaminados, los cuales, deben contener muy numerosas bacterias para causar infecciones poco peligrosas entre la población normal.

El presente trabajo describe las principales características del microorganismo, su asombrosa capacidad para sobrevivir a distintas condiciones fuera y dentro de su hospedero, los numerosos factores de patogenicidad y sus respectivos papeles en la patogenia, así como los más destacados padecimientos que provoca al humano y los agentes terapéuticos implicados.

OBJETIVOS

- Mencionar las principales características microbiológicas de *Listeria monocytogenes* y su clasificación actual.
- Señalar la capacidad de este patógeno para sobrevivir en las plantas procesadoras de alimentos y en el interior del organismo humano, destacando su potencial para adaptarse eficazmente a distintas condiciones.
- Describir los factores de virulencia de *L. monocytogenes*, asociándolos a sus respectivas funciones para lograr la supervivencia dentro de los individuos a quienes coloniza.
- Mencionar las características más notables de las diversas entidades clínicas ocasionadas por este agente causal a los seres humanos.
- Señalar los antibióticos más empleados para llevar a cabo la terapéutica de los humanos infectados y destacar la posible incorporación de los bacteriófagos como opción para combatir a las cepas multirresistentes.

I. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y CLASIFICACIÓN DE *L. MONOCYTOGENES*

Los integrantes del género *Listeria* son, predominantemente, bacilos cortos Gram positivos que miden 0.4 a 0.5 μm de ancho por 0.5 a 2 μm de largo; pueden formar cadenas cortas, e inclusive, dar lugar a filamentos de 6 a 20 μm en los cultivos viejos. No forman esporas ni presentan cápsula y la temperatura imperante determina la presencia o ausencia de sus flagelos peritricos; de hecho, en las pruebas de laboratorio se les considera móviles entre los 20 y 28°C, aunque a 37°C son prácticamente inmóviles.

Estos bacilos son facultativos, en agar sangre sus colonias suelen ser pequeñas, de 1 a 2 mm de diámetro (después de 1 o 2 días de incubación a 35°C), puntiformes, circulares, lisas, de aspecto suave, translúcidas de color azul grisáceas con una zona de β -hemólisis al ser examinadas a la luz. En agar Oxford, a las 24 horas de incubación, se observan colonias de 1 mm de diámetro, grisáceas rodeadas por un halo oscuro, posteriormente a las 48 horas se tornan oscuras con brillo verdoso de aproximadamente 2mm de diámetro, con halos negros y centros hundidos. Por otro lado, en agar PALCAM, tras 24 a 48 horas de incubación, se observan colonias pequeñas color verde grisáceo con un halo negro. El microorganismo crece bien en rangos de 0 a 50°C, aunque su desarrollo óptimo se obtiene entre los 30 y 37°C; una característica a considerarse es que a 4°C tarda en crecer algunos días.

En cuanto a sus características bioquímicas, son típicamente catalasa positiva, si bien algunas cepas aisladas de muestras clínicas llegan a dar negativa esta prueba. Son oxidasa negativa, producen ácido a partir de glucosa y de otros carbohidratos; son Voges Proskauer y rojo de metilo positivos, esculina positiva, no hidrolizan urea ni gelatina y son indol y H₂S negativos (122).

Cabe señalar que inicialmente, la especie *L. monocytogenes* se dividió en 13 serotipos, al aplicarse reacciones de aglutinación dirigidas contra sus antígenos somáticos (O) y flagelares (H); esta clasificación dejó entrever que sólo tres de esos serotipos (1/2a, 1/2b y 4b) causan más del 90% de las infecciones invasivas en humanos (98). Posteriormente, se logró una mayor caracterización y diferenciación de cada cepa mediante el desarrollo de métodos moleculares que incluyen electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y tipificación de secuencias *multilocus* (MLST) (93,101).

De hecho, al llevarse a cabo una MLST mediante la secuenciación de porciones internas de siete genes, se observó que *L. monocytogenes* se conforma por una población estructurada que consta de cuatro linajes divergentes (I-IV) y que los aislamientos pertenecen a grupos de cepas muy similares genéticamente, llamados complejos clonales (Clonal Complexes CC) (117). Cada linaje incluye serotipos específicos: el linaje I comprende a los serotipos 1/2b, 3b, 4b, 4e y 7; el II a los serotipos 1/2a, 1/2c, 3a y 3c; el III, a los serotipos 4b, 1/2a, 4a y 4c; y el linaje IV, a los serotipos

4a y 4c (93,105). En tal sentido, resulta oportuno comentar que si bien la mayoría de las cepas clínicamente relevantes pertenecen a los linajes I y II, en realidad las principales epidemias de listeriosis se asocian al linaje I y, más específicamente, al serotipo 4b (20,62,140). Por su parte, el linaje II, serotipos 1/2a, 1/2b y 1/2c, se aíslan más frecuentemente a partir de los alimentos y los linajes III y IV rara vez se aíslan, excepto cuando se trata de fuentes animales (55). Además, los linajes de *Listeria monocytogenes* se subdividen por tipificación de secuencias multilocus (MLST) en complejos clonales (CC), donde los clones del linaje I CC1, CC2, CC4 y CC6 están asociados con enfermedades humanas, mientras que los clones del linaje II CC9 y CC121 están fuertemente asociados con los alimentos y los entornos de procesamiento de alimentos (47).

Aunque la MLST proporciona genotipos y nomenclatura altamente estandarizados, lo cierto es que desafortunadamente carece del poder discriminatorio requerido para efectuar vigilancia epidemiológica (69,93). Hoy en día, la secuenciación del genoma completo (WGS) representa la herramienta de tipificación epidemiológica más eficiente para investigar brotes y realizar estudios biológicos de población con el objetivo de gestionar de manera eficaz el seguimiento del origen, vigilancia y evaluación de riesgos contra este patógeno, a modo de ejemplo, Fagerlund, A. y colaboradores realizaron la secuenciación de genoma completo a aislamientos de *Listeria monocytogenes* de entornos rurales y urbanos en Noruega donde determinaron que los clones de *Listeria monocytogenes* encontrados en ecosistemas naturales y

animales (CC91, CC11 y CC37) eran distintos de los clones que predominaban entre los aislados clínicos (CC7, CC121 y CC1) y alimentarios (CC9, CC121, CC7 y CC8) (20,47,134).

La mayoría de los estudios enfocados en la patogenicidad de *L. monocytogenes* se han llevado a cabo en las cepas de referencia EGDe, EGD y 10403S. Estas cepas pertenecientes al linaje II (EGD y 10403S a CC7 y EGDe a CC9), están subrepresentadas en los pacientes que presentan signos clínicos (11,111). Desafortunadamente, el uso recurrente de las cepas de referencia CC7 y CC9 ha ocasionado la subestimación de la biodiversidad general de *L. monocytogenes*, e inclusive, de la heterogeneidad que pudiera existir entre los mecanismos de virulencia utilizados por las cepas de los linajes I y II (36). Las cepas CC1, CC2, CC4 y CC6, todas pertenecientes al linaje I, se relacionan con casos clínicos humanos (algunos de ellos incluso sin comorbilidades inmunosupresoras), lo que sugiere que son hipervirulentas, mientras que otras como CC9 y CC121, corresponden al linaje II y se asocian principalmente a los ambientes alimentarios (90).

Las clonas hipervirulentas de *L. monocytogenes*, en especial las CC1, se aíslan con frecuencia de productos lácteos, en tanto que las hipovirulentas CC9 y CC121, abundan en los productos cárnicos (36).

Análogamente, las clonas hipervirulentas colonizan mejor el intestino, evidenciando una mayor invasión de la mucosa intestinal, en tanto que las clonas hipovirulentas se adaptan con eficacia a los entornos de procesamiento de alimentos, dada su mayor prevalencia de genes implicados en la resistencia al estrés y en la tolerancia a los desinfectantes. Curiosamente, CC1, la cual se asocia de modo relevante a la afectación clínica en humanos, también ocasiona algunos casos de rombencefalitis en rumiantes y aparece constantemente en productos derivados de la leche. Estos hallazgos sugieren que la virulencia de *L. monocytogenes* en humanos podría relacionarse de manera importante con rumiantes lácteos (41,81,90).

Los factores de virulencia de *L. monocytogenes* se encuentran dispersos a lo largo del genoma (por ejemplo, en los loci *inlA-inlB*, *bsh*, *inlC*, *lap*, entre otros) o agrupados en las islas de patogenicidad LIPI-1, LIPI-3 y LIPI-4. El locus *inlA-inlB* codifica para dos proteínas de superficie: las internalinas InlA e InlB, involucradas ambas en la internalización del patógeno a las células no fagocíticas, generalmente en sitios posteriores a donde se unen a sus receptores en la célula hospedera, E-cadherina y Met, respectivamente (80,87,88).

Por su parte, el *locus inIA-inIB*, junto con la LIPI-1, son necesarios en los pasos “clave” del parasitismo intracelular, como la adhesión, internalización, supervivencia intracelular y diseminación. Es importante destacar que aquellos genes se conservan en casi todos los aislamientos de *L. monocytogenes* y que más del 30% de los aislamientos del linaje II (frecuentemente sobrerrepresentados en los alimentos) albergan codones de paro prematuros en el gen *inIA*, lo que contribuye a la atenuación de la virulencia (70,98).

Sin lugar a duda, la genómica comparativa entre clonas hipovirulentas e hipervirulentas ha permitido el descubrimiento de nuevos factores de virulencia como LIPI-3 (solo presente en un subconjunto de cepas del linaje I) y LIPI-4. Éste está presente en *L. monocytogenes* del linaje I CC4 (un CC asociado a listeriosis materno-fetal y a neurolisteriosis en humanos) y en los linajes III y IV del patógeno (87,88,90).

Los genes de virulencia *hly* y *acta*, ubicados en la LIPI-1, también son indispensables para la virulencia del microorganismo (88). Estudios recientes de datos clínicos y epidemiológicos humanos integrados a la genómica de la población bacteriana, identificaron a *InIA*, LIPI-3 y LIPI-4 como eficazmente asociados al potencial infeccioso a nivel de la población (80). Otros genes importantes de virulencia de *L. monocytogenes* como *bsh* o *inIC* no se encuentran ubicados en islas de patogenicidad, sino dispersos por todo el genoma (45,88).

II. RESISTENCIA DE *L. MONOCYTOGENES* A LAS CONDICIONES DE ESTRÉS EN LAS PLANTAS DE ALIMENTOS

Fuentes de contaminación

La gran ubicuidad de *L. monocytogenes* en el medio ambiente también se refleja en la alta contaminación alimentaria que suele darse durante los procesos de fabricación de alimentos. El microorganismo se ha aislado a partir de ambientes naturales, granjas, suelos, agua, ensilaje, vegetales en descomposición, heces y tejidos humanos y animales, industrias de procesamiento de alimentos y productos alimenticios procesados (80,142). Aunque el medio ambiente representa el reservorio natural de *Listeria spp*, en donde vive como una saprofita muy eficaz, es claro que su incidencia en los diversos entornos aumenta con la actividad humana y animal (84).

Los entornos asociados a granjas y animales llegan a presentar una alta diversidad genética de *Listeria spp*. Además, las cepas persistentes suelen permanecer en su nicho ambiental durante varios años, lo que hace de su control cotidiano un desafío muy complicado (24).

Por lo general, los animales de granja se comportan como portadores silenciosos de *L. monocytogenes*, facilitando su diseminación, a través de las heces, tanto al medio ambiente, como hacia las granjas y la superficie de su variado instrumental (por

ejemplo, equipos de ordeña) o, más directamente, a los propios consumidores, a través de la leche y/o la carne (76,88).

Este patógeno suele llegar a las plantas industriales alimentarias por contaminación cruzada, por medio de los trabajadores, aunque también vía el transporte de animales (y de su materia fecal), alimentos crudos (leche), materiales para cultivos, suelos, forrajes y ensilaje, pudiendo persistir durante años, lustros o décadas en esas plantas de procesamiento de alimentos, lo que propicia la contaminación de los productos alimentarios durante el proceso, manipulación y envasado (24,78).

La formación de biopelículas por parte del microorganismo, su sorprendente adaptación al estrés (en especial a las bajas temperaturas), las concentraciones subletales de los desinfectantes utilizados, así como la existencia de nichos en zonas y equipos difíciles de higienizarse han sido identificados como contribuyentes “clave” de la persistencia listeriana (80,130).

Por obvio, conocer los reservorios naturales de *L. monocytogenes* ayudará a impedir su incorporación a la cadena alimentaria; asimismo, las estrategias de vigilancia que se establezcan en los entornos agrícolas y en las industrias alimentarias, promoverán una mejor comprensión de cómo es que el microorganismo se propaga entre los diversos nichos ambientales, los animales, las industrias alimentarias y los seres humanos.

Respuesta de *Listeria* al estrés ambiental y su eficiente *factor sigma alternativo*

SigB

La notable ubicuidad de *Listeria* también demuestra su sobresaliente capacidad para adaptarse a las condiciones de estrés a las que se enfrenta en los diferentes entornos. En tal contexto, *L. monocytogenes* prolifera en distintas matrices alimentarias, aun cuando se le exponga a altas concentraciones de sal, pH ácido, temperaturas de refrigeración o luz UV, persistiendo en ambientes de procesamiento de alimentos (FPEs) que, adicionalmente, se han higienizado con diversos desinfectantes (96,130).

Por otra parte, una vez que el patógeno ha sido ingerido por mamíferos, resiste el pH ácido estomacal y las serias condiciones de estrés que enfrenta en la luz intestinal, en donde predominan una alta osmolalidad, la acción antimicrobiana de la bilis y la desventajosa competencia que libra con la microbiota autóctona. Una proteína listeriana, conocida como *factor sigma alternativo* (SigB), es parcial pero especialmente responsable de esta resiliencia, en virtud de que regula a cientos de genes involucrados en la respuesta general al estrés (GSR) (58). Sin embargo, también resultan relevantes tanto la reacción bacilar hacia cada factor de estrés específico, como la relevancia de otros mecanismos reguladores independientes del SigB (25).

Por ejemplo, la propia salazón, un método común y eficaz para la conservación de alimentos, representa una posibilidad de que *Listeria* sobreviva y crezca, aunque con cierta dificultad hasta en concentraciones 3M de NaCl; la estrategia más reconocida del microorganismo para lograr su desarrollo y supervivencia bajo estas condiciones adversas, consiste en la acumulación de solutos compatibles, principalmente compuestos orgánicos hidrosolubles que aumentan la osmolalidad intracelular, impidiendo la generación de flujos de agua hacia el exterior del bacilo. Tras algún choque osmótico, el patógeno activa sus genes *gbu* y *belT*, los cuales, codifican para los transportadores de glicina-betaína y el gen *opuCA* para el transportador ABC de la carnitina (130). *L. monocytogenes* utiliza a uno u otro de dichos transportadores para adaptarse a las altas concentraciones de sal, dependiendo del osmoprotector que encuentre en la matriz alimenticia: la glicina-betaína es más abundante en las plantas y, la carnitina, en la carne (18).

L. monocytogenes es uno de los pocos patógenos transmitidos por alimentos que puede crecer a temperaturas de -0.4°C , una condición denominada psicrotolerancia (18). Lógicamente, esta característica origina que la refrigeración llegue a resultar ineficaz para restringir suficientemente la proliferación listeriana en alimentos listos para el consumo. Cabe aclarar que, en microorganismos no psicrófilos, las bajas temperaturas propician que las membranas sean menos fluidas, lo que afecta la estructura secundaria de los ácidos nucleicos; por obvio, ello altera los mecanismos de transporte y obstaculiza la expresión génica (130).

Tras un choque frío, el microorganismo reduce drásticamente su tasa de crecimiento, pero induce la producción de enzimas que participan en la síntesis de precursores de los ácidos grasos de cadena ramificada y de transportadores de glicina-betaína (*gbu*), carnitina (*opuC*) y oligopéptidos (*OppA*). Todos ellos suelen contribuir al mantenimiento de la fluidez de la membrana bacteriana y aumentan la absorción de solutos compatibles (65,130).

Además, la inducción de helicasas y de la proteína de choque frío CspA promueve la síntesis de proteínas a bajas temperaturas, merced a la estructura secundaria del ARN. Por lo que respecta a otros dos genes *csp*, homólogos adicionales de *Listeria* (*cspB* y *cspD*), ambos se regulan negativamente a temperaturas bajas, lo que sugiere la participación de algunas proteínas de choque frío en ciertas funciones fisiológicas y la adaptación al frío (65,95).

Además de contender con los métodos clásicos de conservación de alimentos, *L. monocytogenes* debe sobrevivir a los procedimientos que emplean agentes antimicrobianos en alimentos o FPEs, se trate de agentes rutinarios de limpieza o de desinfección. Por ejemplo, cuando la sanitización de la planta no cubre todas las superficies de trabajo en forma homogénea, se generan gradientes de concentración de biocidas a lo largo de los FPEs, permitiendo que los microorganismos colonicen algunos nichos (o sitios de refugio) en donde existen concentraciones subinhibitorias de los agentes antibacterianos utilizados (85,99).

Esta condición permite, entre otros, el desarrollo de tolerancia frente a los compuestos cuaternarios de amonio (QAC), los cuales figuran entre los desinfectantes más comunes y efectivos. Los mecanismos de tolerancia a los QAC incluyen la expresión de bombas de eflujo codificadas en elementos genéticos móviles, aunque también resulta muy efectiva la formación de biopelículas por parte del microorganismo (85,99,121).

De hecho, la mayoría de las clonas de *L. monocytogenes* presenta el *locus bcrABC*, el cual, codifica precisamente para una bomba de eflujo que confiere tolerancia al cloruro de benzalconio, uno de los QAC ampliamente utilizado; lo anterior, independientemente del serotipo de las listerias y de la fuente de la cual se hayan aislado. Es importante aclarar que la adquisición de bombas de eflujo por parte del patógeno representa una gran ventaja para tolerar la acción de los QAC, pero también corresponde a un importante mecanismo de resistencia contra diversos antibióticos comúnmente empleados en la clínica (99,139).

Por otra parte, debe tomarse en cuenta que las actividades industrial y agrícola suelen propiciar una acumulación tóxica de metales pesados en el ambiente. Sin embargo, un rasgo frecuente de *L. monocytogenes* consiste en su alta tolerancia al cadmio (Cd) y al arsénico (As), gracias -otra vez- a las bombas de eflujo codificadas por elementos genéticos móviles que pueden encontrarse tanto en el cromosoma como en los plásmidos. La resistencia al Cd suele ser mayor en las cepas aisladas a partir de alimentos (1/2a y 1/2b) y en las que persisten en los FPEs, en todas las cuales también

es común la tolerancia al cloruro de benzalconio. Por otro lado, la resistencia al As es mucho más frecuente en el serotipo 4b y, en particular, entre las clonas asociadas a brotes de listeriosis. Empero, no se ha logrado establecer el mecanismo que conduce al aumento de la tolerancia al Cd y As, en cepas persistentes y altamente virulentas, respectivamente (99,102).

Regulación de la respuesta al estrés

Si bien la reacción de *Listeria* a cada tipo de estrés ya se ha venido estudiando, en realidad las respuestas al estrés implican una extensa reprogramación celular con efectos pleiotrópicos poco comprendidos todavía. Por ejemplo, los análisis transcriptómicos recientes que involucran a distintas cepas de *L. monocytogenes* sometidas a condiciones ácidas (pH de 3.0), han mostrado una mayor expresión de genes pertenecientes a los sistemas GAD y ADI (glutamato descarboxilasa y arginina desaminasa, respectivamente) (18,31,67).

Esta percepción también es aplicable al estrés provocado por bajas temperaturas, alta osmolalidad, compuestos cuaternarios de amonio y sales biliares (39). Los análisis efectuados revelan una coincidencia significativa cuando se trata de los genes implicados en otras funciones: la quimiotaxis y la movilidad, la absorción de nutrientes y el metabolismo de fuentes alternativas, así como la biosíntesis y modificación de la pared celular. Tal como ocurre en otros microorganismos, los diferentes tipos de estrés

parecen inducir en *L. monocytogenes* una respuesta común, aunque con resultados multifacéticos, conocida como *respuesta general al estrés* (GSR) (53).

En tal contexto, la inducción de la GSR se desencadenaría a partir de algún tipo de estrés en particular, confiriéndole al patógeno protección cruzada contra otras condiciones de estrés (130).

Cabe subrayar que la GSR es regulada fundamentalmente por el *factor sigma alternativo* SigB y que la unión de éste al *core* de la ARN polimerasa induce una reprogramación transcripcional que abarca hasta 300 genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos y aminoácidos, la modificación de la envoltura celular, biosíntesis flagelar, homeostasis del pH, osmorregulación, resistencia a los antibióticos y *quorum sensing* (58,130).

La actividad del SigB es controlada por un mecanismo de encendido-apagado por moléculas aliadas, regulado a través de efectos opuestos de fosforilación y desfosforilación de la importante proteína RsbV (de Regulador de SigB V). Es decir, en condiciones libres de estrés, la unión de SigB a la RNA polimerasa es evitada por el factor anti-sigma RsbW, cuya disponibilidad depende (a su vez) del estado de fosforilación del factor anti-anti-sigma RsbV. El RsbV no fosforilado se une al RsbW con alta afinidad, lo que genera la liberación de SigB. Sucesiva o cíclicamente, RsbW fosforila a RsbV, lo cual disocia el complejo, permitiendo que el RsbW se una a SigB y lo inactive.

El equilibrio señalado es desplazado por la aparición de estrés, condición en la que el macrocomplejo proteico denominado estresosoma, activa a una proteína que desfosforila a RsbV, lo que deja a SigB libre para unirse a la RNA polimerasa (58).

Los principales hallazgos sobre la regulación de SigB son los siguientes:

1. El estresosoma está compuesto por tres proteínas RsbR, RsbS y RsbT.
2. En condiciones libres de estrés, RsbT permanece secuestrado dentro del *core* del complejo.
3. Diferentes tipos de estrés conducen a la fosforilación de RsbR y RsbS por la cinasa RsbT mediante mecanismos aún desconocidos.
4. El anterior evento de fosforilación da lugar a la liberación de RsbT desde el *core* del estresosoma, iniciando corriente abajo la cascada de activación de SigB.
5. La liberación de RsbT activa a la fosfatasa RsbU.
6. RsbU desfosforila al RsbV, que entonces se une a RsbW, provocando así la liberación de SigB.
7. El microorganismo desencadena la GSR dependiente de SigB, después de su exposición a diversas condiciones ambientales.

El estresosoma actúa como un verdadero centro de integración ante cualquier señal de estrés, ya que traduce múltiples variables de estrés en la activación del SigB. Las observaciones han mostrado que el estresosoma conforma un *core* o núcleo pseudo-icosaédrico que soporta a ciertas estructuras parecidas a torres; de esta manera, los

dominios *core* del RsbR y de las subunidades RsbS integran las señales, mientras que los dominios RsbR de las “torres” actúan como sensores de estrés. Reportes recientes apuntan hacia una crítica fosforilación del componente del RsbR *core* y la localización subcelular de la cinasa RsbT, como eventos esenciales en la transmisión de señales de estrés ácido u osmótico. Sin embargo, el mecanismo molecular de transducción de señales por parte del estresosoma aún no se ha logrado elucidar (58,63).

Una excepción reside en el sensor de luz UV, la cual se utiliza para dar muerte a las bacterias presentes en los productos frescos. El RsbL (Lmo0799) es un parálogo del RsbR (componente principal del estresosoma), el cual, muestra un dominio de voltaje ligero de oxígeno (LOV) que se une al mononucleótido de flavina (FMN). La irradiación de luz UV induce un entrecruzamiento entre FMN y RsbL, lo que desencadena un cambio conformacional que activa la transducción de señales desde el estresosoma. Los ciclos de oscuridad y luz UV inducen una respuesta adaptativa dependiente del RsbL. Este singular efecto confiere una mayor supervivencia listeriana, pues aporta al microorganismo una alta resistencia a las especies reactivas del oxígeno (ROS), las cuales se inducen tras la exposición de los productos alimentarios a la luz UV (39,58).

La detección de estrés por parte de *Listeria* también llega a depender de sistemas de dos componentes (TCS). Estos son sensores y módulos de transducción de señales en bacterias, que constan de un sensor transmembranal histidina-cinasa (HK) y un regulador análogo de respuesta en el citoplasma.

En *L. monocytogenes* se han descrito 16 TCSs y su participación en la adaptación al estrés ha sido extensamente estudiada (109). Un ejemplo es el modelo LisR-LisK que contribuye a la supervivencia del patógeno a las condiciones ácidas, al aumento de la osmolaridad, al crecimiento a temperaturas bajas y a la tolerancia a los antibióticos. Sin embargo, aún se desconocen los mecanismos moleculares por los cuales las bacterias detectan estas señales de estrés. La actividad de LisRK aumenta en respuesta al estrés en la envoltura celular bacteriana. Dada la participación de LisRK en la adaptación a numerosas fuentes diferentes de estrés, sería lógico pensar que todas ellas podrían afectar a la envoltura celular. Por ejemplo, dado que la membrana plasmática se torna más rígida al disminuir la temperatura, la alteración de la fluidez membranosa podría representar una señal fría que active a LisRK (4,26,99).

En resumen, aunque SigB resulta esencial en la capacidad de *L. monocytogenes* para adaptarse a distintas condiciones adversas, incluidos el choque osmótico y el pH ácido, resulta obvio que los mecanismos independientes del propio SigB también son necesarios en cuanto a la especificidad e intensidad involucrados en cada respuesta. Por tal motivo, sería de gran utilidad aclarar la contribución relativa de los mecanismos reguladores dependientes e independientes del SigB. Por el momento, se sabe que la eliminación del gen *sigB* reduce la supervivencia del patógeno cuando es sometido a un bajo estrés osmótico, aún en presencia de solutos compatibles. Por el contrario, cabe subrayar que a 4°C la inducción de transportadores de osmolitos como *opuCA* ocurre aún en ausencia del SigB. Ello demuestra que aún falta mucho por avanzar en esta asignatura (25,58).

III. PATOGENIA Y PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE *L. MONOCYTOGENES*

Si bien la gravedad de la listeriosis humana depende de la virulencia de la cepa bacteriana involucrada, otros factores “clave” para la recuperación de las personas enfermas incluyen a la dosis de bacterias ingeridas, la diversidad de antecedentes genéticos de cada población, la salud general, el estado del sistema inmunitario del individuo y cualquier otro factor predisponente individual (29,127).

A la fecha no se dispone de datos epidemiológicos concluyentes para establecer el nivel de contaminación implicado en cada brote de listeriosis alimentaria. No obstante, la dosis infectiva de *L. monocytogenes* se ha estimado en 10^7 a 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) en personas sanas y de solo 10^5 a 10^7 UFC en individuos de alto riesgo (17,73).

Es importante señalar que los brotes recientes han demostrado que una distribución generalizada de productos contaminados con *L. monocytogenes* no resulta suficiente para provocar que la mayoría de los consumidores enferme, si los niveles de contaminación son bajos y se toman medidas para impedir el crecimiento microbiano (121). En este sentido, la cantidad de células del microorganismo presentes en la materia fecal humana no necesariamente coincide con la gravedad de la enfermedad involucrada (56).

Esta clase de estudios, junto con datos ligados a brotes ocurridos en EUA e Italia, indican que el origen de la forma más leve de gastroenteritis febril en hospederos inmunocompetentes requiere de la ingestión de varios millones de bacterias (89,127). Por otro lado, es obvio que las poblaciones altamente susceptibles pueden desarrollar manifestaciones clínicas muy severas después de ingerir productos con bajos niveles de contaminación (23).

Para controlar la transmisión de *L. monocytogenes* a través de los alimentos, las agencias reguladoras en el mundo han obligado a las industrias alimentarias a desarrollar programas de análisis de riesgos en puntos críticos de control, al tiempo que controlan y supervisan estrictamente que los alimentos no se encuentren contaminados (2,46,121).

Aunque la regulación sanitaria se refiere por igual a todas las cepas de *L. monocytogenes*, se ha comprobado plenamente que las consideradas hipervirulentas (CC1, CC2, CC4 y CC6) se asocian más a menudo a casos clínicos y a pacientes con baja o ninguna comorbilidad inmunosupresora; mientras tanto, se ha confirmado ampliamente que las cepas menos virulentas (CC9 y CC121) poco se relacionan con infecciones clínicas (47,90).

La severidad del padecimiento, la incertidumbre asociada a la probable dosis mínima infectiva y las diferencias entre la virulencia de las distintas cepas, recomiendan a los grupos de alto riesgo (inmunodeprimidos, ancianos y mujeres embarazadas) evitar la

ingestión de alimentos que pudieran contener altas cantidades de *L. monocytogenes*. En cuanto al resto de la población, la propuesta consiste en manipular cuidadosamente los alimentos de alto riesgo y almacenarlos a bajas temperaturas por periodos cortos.

Posible correlación entre adaptación al estrés y virulencia

Lógicamente, la exposición de *L. monocytogenes* a varias condiciones de estrés da lugar a diversos cambios fenotípicos en la bacteria, cuya duración es prolongada aún después de que desaparece el factor desencadenante. De hecho, parece evidente que la preexposición a condiciones subletales de estrés facilitarían la adaptación a desafíos posteriores (130,138). En tal sentido, el uso de medidas tradicionales para la conservación de alimentos y/o una ineficaz o incompleta inactivación de los contaminantes alimentarios y de los FPEs podrían representar cierto inconveniente para la salud del hospedero humano.

Lo anterior implica que esta ventaja del patógeno no estaría restringida a la neutralización de algún estrés específico, sino que promovería un efecto protector más general. A este respecto, las variantes fenotípicas estables que se han aislado después de su exposición a condiciones de acidez (pH de 3.5 durante 90 minutos), han mostrado una menor tasa de crecimiento aunque, al mismo tiempo, una mayor resistencia a otros factores adversos. No obstante, la secuenciación del genoma completo de estas variantes sólo ha evidenciado mutaciones en el gen *rpsU*, que

codifica para la subunidad ribosomal 21S (77,91). Este cambio podría explicar la lenta tasa de crecimiento en estas variantes tolerantes al estrés múltiple, aunque los hallazgos también sugieren que se trata de una compensación que propicia el ahorro de energía y facilita la generación de recursos dirigidos a garantizar la tolerancia hacia casi cualquier tipo de estrés (77,116).

Por otro lado, el estrés al que se enfrenta el patógeno en el ambiente de procesamiento de alimentos puede originar alguna actividad residual del SigB dentro del hospedero, proporcionándole al patógeno protección cruzada contra el ambiente adverso del estómago, la acción de las sales biliares y la alta osmolalidad intestinal. Cabe señalar que, al parecer, SigB también representa el principal regulador de los genes de respuesta al estrés en el tracto gastrointestinal (GI); lo anterior es consistente con el hecho de que las listerias mutantes que carecen del *factor sigma* resultan poco peligrosas al administrarse por vía oral a cobayos, aunque muy virulentas al inyectarse por vía intravenosa (51,141).

Sin embargo, aún no es clara la existencia de algún vínculo directo entre la mayor capacidad para adaptarse a condiciones de estrés en los alimentos/FPEs y la mayor virulencia de *L. monocytogenes*. La comparación de las distintas tolerancias al estrés entre subtipos aislados a partir de alimentos o de casos clínicos ha proporcionado resultados contradictorios (66,94).

Además, las comparaciones genómicas han mostrado que los genes involucrados en la tolerancia al cloruro de benzalconio, utilizado como desinfectante de superficies en FPEs, así como otros genes de resistencia al estrés, se encuentran más comúnmente en cepas hipovirulentas del linaje II (36).

Esta correlación inversa sugiere una adaptación divergente hacia los diferentes nichos ambientales: mientras las cepas del linaje II desarrollan una mayor resistencia al estrés que enfrentan en las plantas procesadoras de alimentos, las cepas del linaje I se adaptan mejor a las condiciones internas del hospedero. De cualquier modo, es necesario mantener la discusión sobre el tema, puesto que las condiciones de estrés podrían influir de forma diferente respecto de la virulencia de las distintas cepas. Por ejemplo, los aislados clínicos del serotipo 4b (linaje I) almacenados a bajas temperaturas, llegan a mostrar una mayor invasión de células Caco-2 y una mayor patogenicidad en embriones de pollo, que las listerias mantenidas bajo condiciones óptimas de crecimiento. Ello no suele ocurrir con el serotipo 1/2a (linaje II), relacionado con más frecuencia a las empresas que procesan alimentos (1,19).

En otras palabras, una gran capacidad para tolerar diversas condiciones de estrés no parece representar un rasgo crítico para la hipervirulencia, aunque es posible que la previa exposición al estrés en el medio externo pudiera proteger al patógeno contra las condiciones adversas del tracto GI del hospedero y representar una señal que contribuya al despliegue de características virulentas.

Resistencia de *L. monocytogenes* al estrés dentro del organismo humano

Supervivencia del microorganismo en el estómago

Al ingerirse alimentos contaminados, *L. monocytogenes* llega inicialmente al estómago, siendo éste la primer barrera fisicoquímica antimicrobiana del hospedero, dado su bajo pH de 1 a 2. Evidentemente, se obtienen mayores tasas de aislamiento del patógeno en las heces de pacientes tratados prolongadamente con antagonistas de los receptores H₂ y/o con inhibidores de la bomba de protones. De cualquier manera, el microorganismo cuenta con diferentes sistemas para regular su pH intracelular, lo que le permite sobrevivir al pH estomacal, así como a la acidez de determinados tipos de alimentos (79,86).

El sistema glutamato descarboxilasa (GAD) del bacilo importa moléculas de glutamato (mediante un antiportador GadT), a las que después convierte en ácido γ -aminobutírico (GABA), mediante su glutamato descarboxilasa (GadD). La descarboxilación del glutamato intracelular consume un protón, lo que eleva el pH intracelular; secuencialmente, el antiportador GadT transporta al GABA fuera de la célula bacteriana, a cambio de glutamato, lo que resulta muy relevante para que el patógeno soporte la acción de los ácidos fuertes de los fluidos gástricos sintéticos, e inclusive, para que logre sobrevivir a la propia inoculación oral del microorganismo en ratones.

Se han identificado cinco genes *gad*: dos transportadores (*gadT1-2*) y tres enzimas (*gadD1-3*) (74,80,122).

En las cepas EGD-e, pertenecientes al cepario de un laboratorio y aisladas en 1924, SigB juega un papel crucial para que la bacteria logre su adaptación al estrés ácido y regule la transcripción de *gadT2*, *gadD2* y *gadD3*, tras la exposición a un pH de 4.5 durante 1 h (137). Otras interesantes diferencias se han observado en la expresión de los genes *gad* entre los aislamientos del linaje II; por tal motivo, resultaría de gran utilidad determinar la regulación en los aislamientos clínicos de brotes de listeriosis, para detectar si el funcionamiento del sistema GAD se relaciona con la virulencia de las cepas (74).

Un segundo mecanismo utilizado por el patógeno para lograr la homeostasis de su pH interno consiste en la participación del sistema arginina desaminasa (ADI). En el citosol microbiano, la arginina se convierte en ornitina gracias a la acción de tres enzimas codificadas por el operón *arcABC*; a continuación, un antiportador ligado a la membrana y codificado por *arcD* exporta una molécula de ornitina de la célula e importa una molécula de arginina; este cambio genera amoníaco (NH₃), el cual se asocia secuencialmente a un protón para producir NH₄⁺, lo cual aumenta el pH citoplásmico (126,130). Los genes *arcABC* se activan tras la exposición al ácido en presencia de arginina; por ello, las mutantes carentes de ArcB crecen más lentamente a pH de 4.8 y muestran una menor supervivencia en el fluido gástrico sintético (27).

Se ha logrado identificar a un presunto regulador transcripcional ArgR, aunque su influencia sobre los genes ADI en función del pH y su interdependencia con SigB aún no se han logrado comprobar (28,59,126).

Tolerancia del patógeno al estrés osmótico intestinal y a las sales biliares

El intestino presenta condiciones de osmolalidad moderadamente altas para *L. monocytogenes*, que aumentan a medida que el patógeno avanza por el tracto gastrointestinal (GI). Como en el caso del estrés osmótico que enfrenta en los alimentos, el patógeno incrementa su captación de solutos compatibles sobre expresando los transportadores de membrana BetL, Gbu y OpuC. La acumulación de glicina betaína está mediada por BetL y Gbu, mientras que la carnitina esta mediada por OpuC (130). Al parecer, otras proteínas listerianas con actividad osmoprotectora, son: la prolina sintetasa (ProAB), que promueve la acumulación de prolina; la guanosina tetra y pentafofato (p)ppGpp sintetasa RelA, reguladora de la respuesta estricta, encargada de desviar recursos del crecimiento y división bacteriana hacia la síntesis de aminoácidos para promover la supervivencia; la chaperona de ARN Hfq; y las proteasas HtrA y ClpC, enzimas que contribuyen a la degradación de proteínas mal plegadas (21).

Dado que la mayoría de estas moléculas enzimáticas también se encuentra involucrada en la respuesta a otros factores de estrés, como la acidez y las

temperaturas bajas, es posible que su inducción ocurra previo al proceso de invasión intestinal, lo que implicaría una acción de protección cruzada contra el estrés al interior del hospedero (58,130).

En cuanto a la bilis, ésta corresponde a una mezcla compleja de ácidos biliares, colesterol, fosfolípidos y biliverdina, lo que conforma un real fluido antimicrobiano. Los ácidos biliares primarios producidos en el hígado se concentran en la vesícula biliar y, posteriormente, son liberados vía el colédoco hacia el duodeno (durante la digestión); al ingresar a la célula del microorganismo, ocasionan la oxidación del contenido de su citosol, el despliegue y agregación de sus proteínas y la afectación de su membrana celular (32). *L. monocytogenes* puede colonizar la vesícula biliar murina, ya que el pH de la bilis (de 7 a 8) no es bajo como el del intestino delgado (de 5.5). Por lo tanto, la vesícula biliar podría actuar como reservorio para la replicación extracelular del patógeno y su posterior diseminación hacia el intestino (40).

La hidrolasa de las sales biliares (Bsh) representa uno de los principales factores listerianos de tolerancia a la bilis (99,130). Cabe señalar que las hidrolasas Bsh, también son elaboradas por la microbiota intestinal, observándose que descomponen las sales biliares y que su máxima expresión ocurre en el duodeno, donde la bilis adquiere su pH más bajo. Además, el transportador de membrana BilE funciona como un sistema de exclusión de bilis (99).

SigB, el regulador general de la respuesta al estrés, así como el factor regulador pleiotrópico (PrfA), este último el principal regulador de la virulencia del patógeno, modulan positivamente a los genes *bsh* y *bilE* (45,72). Este hecho sugiere que el contacto del patógeno con la bilis desencadena alguna señal de preparación para la vida intracelular y representa un factor crítico involucrado en el cambio de la expresión génica (57).

Competencia entre *L. monocytogenes* y la microbiota endógena

El intestino representa un entorno complejo en el cual *L. monocytogenes* debe adaptarse a diversas condiciones adversas y coexistir con la microbiota intestinal del hospedero. Dicha microbiota aporta al tracto intestinal la denominada *resistencia a la colonización*, cuyo objetivo primordial consiste en proteger a los tejidos intestinales contra el libre establecimiento de bacterias patógenas. Los mecanismos empleados por la microbiota incluyen la competencia por los nutrientes, la maduración y entrenamiento del sistema inmunitario y la mejora del mantenimiento de la barrera intestinal vía la síntesis de ácidos grasos de cadena corta. Las bacterias enteropatógenas, sin embargo, han desarrollado eficaces estrategias para superar la *resistencia a la colonización*, como el desarrollo de vías metabólicas alternas que incluyen al catabolismo de la etanolamina, la producción de bacteriocinas y la inducción de la respuesta inflamatoria en el intestino (123).

Para estudiar el papel de la microbiota del hospedero contra la infección por *L. monocytogenes*, se han llevado a cabo numerosos trabajos en ratones que carecen de microbiota intestinal, a los que se han inoculado dos especies de *Lactobacillus* previo al reto oral con el patógeno. Las observaciones realizadas indican que la anticipada colonización con *Lactobacillus* induce cambios transcriptómicos, tanto en el hospedero como en el patógeno, resultando en una limitada diseminación de este último (99). Otras bacterias benéficas eficaces contra las listerias incluyen a diversas especies de *Clostridium* ya que, en ratones que carecen de microbiota intestinal, la pre-inoculación con *Clostridia* impide la colonización listeriana del lumen intestinal y su posterior diseminación sistémica (10). En este último estudio, los autores subrayan la importancia que tiene una microbiota intestinal diversificada (equilibrada), así como un tratamiento probiótico preventivo en las personas inmunodeprimidas y mujeres embarazadas.

Tras la administración oral de *L. monocytogenes* en ratones carentes de microbiota intestinal pre-inoculados con *Lactobacillus*, el patógeno aumenta sus niveles de enzimas involucradas en la vía del catabolismo de la etanolamina, lo que le permite aprovechar una fuente alterna de nitrógeno y eludir la competencia metabólica impuesta por los comensales (123). Además, *L. monocytogenes* produce bacteriocinas, tales como la listeriolisina S (LLS) y Lmo2776, proteínas que matan o impiden el crecimiento a las bacterias competidoras vecinas.

A este respecto, la LLS está codificada en la isla de patogenicidad LIPI-3, presente en algunas cepas del linaje I (de origen clínico) y su sobreexpresión ocurre en clonas que colonizan el intestino, en donde se manifiesta como bacteriocina (82,123).

La inoculación de clonas de *L. monocytogenes* que expresan la LLS propicia una reducción cuantitativa de los géneros *Allobaculum* y *Prevotella*, lo que explicaría la mayor persistencia del patógeno respecto de las cepas carentes del gen *lls*. Por su parte, la bacteriocina Lmo2776, presente en el linaje I y en algunas cepas del linaje II, también actúa *in vitro* contra *Prevotella* en los intestinos humano y murino.

Sorprendentemente, las mutantes con defectos en el gen *lmo2276* se diseminan mejor hacia el hígado y el bazo; además, se considera que la reducción selectiva de *Prevotella* podría evitar procesos inflamatorios que facilitarían el desarrollo de infecciones persistentes de mayor duración (124).

Transición desde la tolerancia al estrés hasta la infección

El factor de transcripción sigma (SigB) representa el regulador central en la adaptación a las condiciones adversas en entornos externos al hospedero, pero en menor grado también lo hace dentro del organismo humano; adicionalmente, también parece regular ciertos genes de patogenicidad.

Sin embargo, el principal regulador transcripcional de la virulencia de *L. monocytogenes* es el denominado *factor regulador pleiotrópico A* (PrfA), cuyo gen se encuentra ubicado en la LIPI-1. En este contexto, llama la atención que el gen *prfA* se transcriba a partir de tres promotores, uno de los cuales es regulado directamente por SigB (50).

Adicionalmente, SigB modula la transcripción de los genes de las internalinas (*inIA* e *inIB*), esenciales para la invasión del epitelio intestinal (130). Esta representa otra causa de que frecuentemente se establezca que la previa exposición al estrés "prepara" al patógeno para llevar a cabo la invasión. Una vez dentro de la célula hospedera, PrfA se convierte en el regulador predominante de los factores de virulencia que permiten la replicación intracelular y la propagación bacteriana hacia las células vecinas. Antes de este punto de la infección, podría señalarse que tiene lugar la transición desde el dominio del SigB hasta una fase claramente liderada por PrfA (50).

El PrfA induce la transcripción de la LIPI-1, lo que lo confirma como el principal regulón de virulencia. Cabe recordar que la LIPI-1 incluye al gen *prfA*, pero también a los genes de virulencia que codifican para la listeriolisina O (*hly*), la fosfolipasa A (*plcA*), la fosfolipasa B (*plcB*), la proteína inductora del ensamblaje de actina (*actA*) y una metaloproteínasa de zinc (*mpf*) y OrfX (*orfX*). Así mismo, PrfA regula la expresión de los genes que codifican para la hidrolasa Bsh (que neutraliza el efecto de las sales biliares), así como los de las internalinas A, B y C (*InIA*, *InIB*, *InIC*) (45,50,80).

Establecimiento de la infección humana por *L. monocytogenes*

Una vez que *L. monocytogenes* ha sido ingerida y llega al intestino del hospedero, su objetivo secuencial consiste en traspasar la barrera epitelial entérica, con este fin el bacilo emplea tres rutas principales: i) transcitosis, invadiendo principalmente las células caliciformes y, en menor medida, a los enterocitos localizados en la punta de las vellosidades; ii) translocación paracelular, involucrando a la proteína de adhesión de *Listeria* (LAP); y iii) a través de las células M de las placas de Peyer (115).

En la primer ruta, la invasión microbiana de las células epiteliales requiere de la unión de la internalina InIA (unida a la pared celular) a su receptor E-cadherina; ésta representa la proteína transmembranal adherente que mantiene unidos a los enterocitos humanos. Al unirse la cadherina a la InIA, se agrupa y se fosforila; posteriormente, la maquinaria endosómica de clatrina (de las células entéricas) es reclutada en esa región de la membrana, a fin de reordenar al citoesqueleto, implicando la polimerización de los filamentos de actina por parte del complejo Arp2/3 del enterocito. Esta secuencia de eventos resulta en la internalización del patógeno. La InIB también puede participar en la invasión, aunque al parecer resulta prescindible en las células epiteliales del intestino (97).

Debido a que existen diferencias específicas de especie en la secuencia de aminoácidos de la E-cadherina, diversos modelos de adhesión e internalización

listeriana *in vivo* han debido ser contruidos y adaptados para permitir la interacción entre la InIA y la E-cadherina; por ejemplo: ratones transgénicos que expresan E-cadherina humana; ratones *knock-in* con E-cadherina humana y cepas de *L. monocytogenes* con “InIA murinizada” (*inIA^m*) (42).

La segunda ruta para cruzar el epitelio intestinal ocurre en la punta de las vellosidades e inicia por la interacción entre la *proteína de adhesión de Listeria* (LAP) y su receptor en las células del hospedero, la proteína de choque térmico 60 (Hsp60). LAP corresponde a una alcohol-acetaldehído deshidrogenasa y la Hsp60 a una chaperona ubicada en las vellosidades ileales de ratón, que se localiza en el dominio apical de la membrana plasmática. Esa unión de LAP a la Hsp60 da como resultado la activación de la molécula de los enterocitos conocida como Factor Nuclear kappa B (NF- κ B), que desencadena la secreción de las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- α , así como la activación de la cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK). Esta última promueve la redistribución celular de ocludina, claudina-1 y E-cadherina, originando la distorsión de las uniones herméticas, cambio que debilita la capa epitelial, permitiendo la translocación paracelular de *L. monocytogenes*, desde la luz intestinal hasta la lámina propia (42,43,99).

Cabe señalar que la vía LAP-Hsp60 podría representar el principal mecanismo empleado por el patógeno para cruzar la barrera epitelial durante las primeras etapas (12-48 h) de la infección, aunque posteriormente (desde las 48 h) la vía InIA/E-

cadherina se tornaría más relevante, merced a la nueva distribución de la E-cadherina (42,43).

La tercer vía para atravesar el epitelio intestinal implica a las placas de Peyer, que corresponden a folículos linfoides asociados a regiones del epitelio enriquecidas por células M; éstas corresponden a fagocitos naturales que captan antígenos de la luz intestinal y los transfieren a macrófagos presentadores de antígeno presentes en ese tejido linfoide. Evidentemente, este proceso ayuda a desencadenar la respuesta inmunitaria intestinal específica contra el patógeno invasor (97).

En ratones, la invasión de células M por *Listeria* depende de InlB y no de InlA. Resulta interesante que *L. monocytogenes* también expresa una InlA murinizada (InlA^m) que provoca una mayor invasión de células M, lo que podría explicarse por el hecho de que dicha InlA^m interactúa con la E-cadherina murina, pero también con la N-cadherina de las células M. Sin embargo, los modelos de infección murina que utilizan InlA^m tienen el inconveniente de que la InlA promueve la invasión de células M de una manera distinta, e inclusive, desencadena respuestas inmunitarias diferentes (97,99).

Ingreso a las células eucariontes

L. monocytogenes es capaz de proliferar dentro de las células fagocíticas y no fagocíticas. La previa interacción de InIA e InIB con sus respectivos receptores conduce a la internalización listeriana dentro de un fagosoma asociado al sistema membranoso (108).

Una vez que el patógeno ha ingresado a las células del hospedero mediante endocitosis o fagocitosis mediada por receptores, produce factores de virulencia codificados en su LIPI-1, como PrfA, PlcA, LLO, PlcB y OrfX. Estos permiten a los bacilos escapar del fagosoma implicado, proliferar en el citosol y propagarse hacia las células adyacentes (97,99).

La listeriolisina O (LLO) es codificada por el gen *hly* y puede actuar como citolisina (de hecho es una hemolisina); se une al colesterol para originar grandes y numerosos poros en la membrana fagosómica, es una determinante esencial de *L. monocytogenes* que media su escape de las vacuolas. Evidentemente, *L. monocytogenes* utiliza diversas estrategias para garantizar que la actividad de LLO se limite a los compartimentos endosómicos; una de ellas se fundamenta en el pH ácido de los endosomas y fagosomas: a bajo pH, LLO se dimeriza aunque permanece activa; empero, al pH del citosol, se agrega y se degrada (105).

LLO, el principal factor que ocasiona la destrucción de la membrana lisosómica, incluye un segmento de 26 aminoácidos cerca de su extremo N terminal, conocido como “secuencia similar a PEST”, ya que se trata de un péptido rico en prolina (P), ácido glutámico (E), serina (S) y treonina (T); esta secuencia interactúa con el componente AP2 de la maquinaria endocítica dependiente de clatrina, lo que parece promover la rápida eliminación de LLO de la membrana plasmática, dejando como su único “blanco” a los fagosomas. Finalmente, las óxido-reductasas ubicadas en los compartimentos fagosómicos no reductores, evitarían la inhibición de la glutationilación de la cisteína presente en la “secuencia similar a PEST”, manteniendo muy escasa la actividad de LLO en el citosol, cabe destacar que LLO se vuelve inactivo por S-glutationilación (105).

Este proceso permitiría a *L. monocytogenes* destruir la membrana fagosómica, liberarse y sobrevivir en el citosol eucarionte, evitando salir al espacio extracelular para no ser reconocida por el sistema inmune del hospedero. A tal respecto, las mutantes que expresan una LLO desprovista de la “secuencia similar a PEST” manifiestan una mucha menor virulencia (99).

La actividad de LLO está respaldada por múltiples opciones del regulador de la expresión génica de *hly*. Al margen del control transcripcional de *hly*, mediado por PrfA, el gen *hly* ARNm se regula post-transcripcionalmente, a través de la restricción de codones en la región del ARN codificante de PEST y la formación de una estructura

secundaria que bloquea el sitio de unión al ribosoma; ambos factores tienen que ver directamente con la represión traduccional de LLO en el citosol (104).

Al margen del determinante papel de LLO en el escape listeriano del fagosoma, estudios recientes han relacionado a esta molécula con muchas otras funciones de las células hospederas, sugiriendo su posible participación en procesos nucleares como modificación de histonas y respuesta al daño del ADN, e inclusive, a la modulación de la respuesta inmune, la alteración de la dinámica mitocondrial y la permeabilización lisosómica. Dado el aparente efecto pleiotrópico de LLO sobre la biología de la célula hospedera, resultaría interesante determinar cómo influyen las alteraciones inducidas por dicha molécula en la evolución y resultado de la enfermedad (60,97).

Cabe agregar que, en virtud de que la LLO representa un antígeno dominante para las células T, actualmente se estudia en ratones, eliminando su sitio de reconocimiento del colesterol (a fin de que pierda su actividad para formar grandes poros), daría lugar a un importante candidato vacunal que origine una vasta respuesta inmune celular y humoral (107).

La formación de poros por parte de LLO se complementa con: i) la acción de las fosfolipasas A y B (codificadas por *plcA* y *plcB*) y ii) la secreción de una lipoproteína dependiente del PrfA, denominada lipoproteína A codificante de feromona peptídica (PplA) (99,105,114). Resulta interesante señalar que las fosfolipasas también inhiben

el flujo autofágico de las células infectadas, impidiendo la eliminación de *L. monocytogenes* (92).

Lógicamente, durante el ciclo intracelular del patógeno, diversos factores de la célula hospedera también desempeñan un papel importante en la modulación de la infección; por ejemplo, la detección de patógenos intracelulares desencadena la señalización inmunitaria innata, restringiendo la infección bacteriana. (108,113).

L. monocytogenes puede residir dentro de los fagosomas, ya sea en un estado de crecimiento lento y/o sin desarrollar. En los macrófagos de ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID), los cuales carecen de inmunidad adaptativa, el patógeno se multiplica dentro de grandes compartimentos denominados fagosomas dilatados que contienen a *Listeria* (SLAPS). Estos corresponden a fagosomas no ácidos y no degradativos generados de manera dependiente de la autofagia, que mantienen a las listerias produciendo bajas cantidades de LLO. Recientemente, la microscopía fluorescente en vivo de células epiteliales infectadas reveló que un subconjunto del microorganismo permanece dentro de los fagosomas a largo plazo, en donde puede proliferar tan rápido como en el citosol. Además, se ha demostrado que tras varios días de infección, las cepas cambian de un estilo de vida móvil activo a una etapa de persistencia dentro de las vacuolas de las células epiteliales. Tras su diseminación intercelular, el bacilo disminuye gradualmente su producción de proteína inductora de ensamblaje de actina ActA, lo que detiene la polimerización de esta proteína contráctil sobre la superficie bacteriana y provoca que

los bacilos intracelulares queden atrapados en fagosomas que contienen *Listeria* (LisCVs) (103). Las listerias endofagosómicas reducen su exposición a los antibióticos durante el tratamiento de la enfermedad, afectando el período terapéutico de la listeriosis y/o la transmisión de este patógeno entre los individuos asintomáticos (13).

Propagación célula-célula: importancia de la proteína ActA

El gen *actA* es regulado durante el crecimiento intracitoplásmico del patógeno, y la proteína ActA interacciona con el complejo eucarionte Arp2/3, promoviendo la polimerización de la actina y la diseminación del patógeno célula a célula (99,130). La microscopía electrónica ha permitido observar esta estructura de actina polimerizada, denominada “cola de cometa de actina” debido a su aspecto en las imágenes. ActA imita estructuralmente al factor promotor de la nucleación elaborado por el hospedero (concretamente la del dominio C-terminal de la familia de las proteínas WASp) por lo que puede activar directamente al complejo Arp2/3. El reclutamiento y activación de este último (por parte de ActA) promueve la ramificación de los filamentos de actina y propicia la polimerización de esta proteína, lo que a su vez impulsa a las listerias por todo el citoplasma. Otros patógenos como *Shigella* o *Burkholderia* utilizan estrategias similares de movilidad intercelular (15,54). Las forminas, otro tipo de nucleadores de actina producidos por el hospedero, originan la formación de protuberancias que incluyen a las membranas de las células eucariontes vecinas (54). Esas protrusiones contienen a las listerias que penetrarán en las células epiteliales adyacentes. La

eficiente diseminación célula a célula también requiere del factor de virulencia Internalina C, que disminuye la tensión cortical entre las células vecinas, facilitando la formación y elongación de la protuberancia (99). Finalmente, LLO daña la membrana de la célula hospedera en la protuberancia, dada su actividad de formación de poros. Otra estrategia aprovecha la eferocitosis por macrófagos. En este proceso, la actividad de LLO promueve la exposición de la cara exoplásmica de fosfatidilserina de las vesículas que contienen *Listeria* generadas, que constituyen señales de *cómeme* que promueven la fagocitosis por macrófagos (33).

Una vez que *L. monocytogenes* se ha diseminado célula a célula, se localiza dentro de una vacuola o fagosoma de doble membrana originada a partir de las células “donadora” y “receptora” de listerias. En los macrófagos murinos primarios, las fosfolipasas del patógeno participan en la disolución de la membrana interna del fagosoma, mientras LLO se dirige a la membrana externa originada en la célula receptora. En las células epiteliales LLO es prescindible, ya que las fosfolipasas son suficientes para mediar la propagación continua célula a célula. Estos datos sugieren que, durante la infección, la propagación de *L. monocytogenes* hacia órganos distantes podría ocurrir en ausencia de LLO (87).

Además de mediar la movilidad intracelular y la propagación célula a célula, la ActA proporciona ventajas adicionales para el patógeno. En las células epiteliales, la polimerización de actina (impulsada por ActA) evita el reconocimiento autofágico de *L. monocytogenes* y enmascara la superficie bacteriana con factores del hospedero.

Además, la movilidad basada en la actina permite el escape listeriano de las membranas autofágicas iniciales en el citosol de los macrófagos. Durante la infección *in vivo*, la ActA también es fundamental para la agregación del invasor en la luz intestinal, evento que facilita la persistencia del patógeno dentro del ciego y en la luz del colon, e inclusive, su secuencial eliminación en las heces (87,130).

Como se puede inferir, varias vías del hospedero son secuestradas por *L. monocytogenes* para controlar su ingreso a los epitelios, llevar a cabo la ruptura vacuolar, adquirir movilidad intracelular y diseminarse célula a célula. Esfuerzos futuros podrían descifrar los centros de señalización de las células eucariontes que son intervenidos por el microorganismo, lo que descubriría nuevos “blancos” de acción para el desarrollo de fármacos anti-*Listeria*.

L. monocytogenes en la sangre

En los individuos inmunocomprometidos, *L. monocytogenes* generalmente atraviesa la barrera epitelial del intestino hacia la lámina propia, e inclusive, suele diseminarse posteriormente a través de la linfa y la sangre hacia el hígado y el bazo. La parte principal de la carga microbiana es extracelular en el tracto GI, sin embargo, una pequeña proporción de bacterias intracelulares resulta crucial para una eficiente propagación microbiana hacia ganglios linfáticos mesentéricos, bazo e hígado (130).

En cobayos, la diseminación del patógeno hacia el hígado ocurre a través de 2 rutas: la primera, va desde el intestino hacia el hígado vía la vena porta, a partir de las 4 horas posteriores a su ingestión. La segunda se considera indirecta, ya que parte desde el intestino, vía los ganglios linfáticos mesentéricos, hacia la circulación sanguínea, seguida por la diseminación sistémica del microorganismo; esta ruta conduce a la colonización de hígado y bazo (133).

El patógeno puede circular libremente en la sangre, o bien, asociarse a fagocitos mononucleares y leucocitos polimorfonucleares, si bien estudios *in vitro* han mostrado que los leucocitos sanguíneos pueden matar/destruir a una parte de las células ingeridas del patógeno.

Resulta interesante que mientras SigB media la activación de genes de virulencia en la luz intestinal, PrfA controla la transcripción de esos mismos genes en la sangre. De hecho, al exponerse al plasma, las mutantes SigB⁻ muestran una supervivencia muy pobre en comparación con la lograda por las cepas de tipo salvaje (112).

Al parecer, *L. monocytogenes* remodela su superficie celular al encontrarse en el torrente circulatorio, ya que altera selectivamente la cantidad de sus proteínas superficiales. Durante su estadio en el torrente circulatorio, se detectan niveles elevados de Lmo0514 e InIA, dos proteínas de superficie unidas covalentemente al peptidoglicano; bajo estas condiciones, es posible que Lmo0514 se requiera para sobrevivir. Por el contrario, otras proteínas de superficie, como la internalina I, se

regulan a la baja después de la exposición microbiana al torrente circulatorio. En el modelo de ratón, la intensa replicación de *L. monocytogenes* en hígado y bazo, conduce a una bacteriemia secundaria caracterizada por la combinación de listerias intracelulares y extracelulares; es precisamente durante esta fase que el patógeno ingresa al sistema nervioso central (112). En otras palabras, la remodelación de la pared celular podría explicar la supervivencia del patógeno al efecto bactericida de la sangre y del plasma, e inclusive, su llegada a órganos tales como el cerebro o la placenta.

Evasión de la respuesta inmunitaria del hospedero por *Listeria*

Como ocurre generalmente durante la etapa temprana de la infección, *L. monocytogenes* se enfrenta a la inmunidad innata del hospedero; evidentemente, por sí sola, esta clase de respuestas puede controlar a un limitado número de bacterias, restringiendo el crecimiento del patógeno en mamíferos resistentes. Más adelante, el organismo del hospedero desencadena toda una respuesta específica de células T que promueve la eliminación de la infección y la adquisición de memoria inmunológica (38,99).

En virtud de que las afecciones involucradas se asocian a fuertes respuestas inmunitarias, *L. monocytogenes* ha debido desarrollar mecanismos para tratar de evadir, e inclusive, de modular, las defensas del hospedero. Un importante ejemplo de

lo anterior consiste en la movilidad basada en actina, para propagarse de una célula a otra, evitando el medio extracelular; obviamente, esto explica por qué las células T citotóxicas CD8⁺ son indispensables para lograr la eliminación bacteriana (38). Otra estrategia se basa en la InIC secretada por *Listeria* en las células infectadas; esta molécula interacciona con la cinasa IκB (IKKα) evitando la activación de NF-κB y, en consecuencia, altera la expresión de citocinas e impide el reclutamiento de neutrófilos en el sitio de infección (68). Por otro lado, la modificación de la pared celular de *Listeria*, mediada por las peptidoglicano-desacetilasas (PgdA) y acetiltransferasas (OatA), confiere resistencia a la lisozima, una enzima ubicua del sistema inmunitario innato que degrada el peptidoglucano de la pared celular, y juega un papel clave en la evasión de otras defensas innatas del hospedero (22). Lógicamente, la plena elucidación de estas estrategias ayudaría a la identificación de vulnerabilidades de *Listeria* que permitieran evitar su diseminación sistémica.

Invasión de hígado y bazo

Las células de Kupffer, fagocitos profesionales del hígado, suelen experimentar muerte celular necrótica en los estadios tempranos de la infección por *L. monocytogenes*. La muerte de estas células conduce a una inflamación microbicida tipo 1, seguida por una reparación hepática. Esta última consiste en el reclutamiento masivo de monocitos en el hígado, en donde ocurre su diferenciación a macrófagos para reemplazar a las células de Kupffer muertas (14).

Los hepatocitos pueden promover el reclutamiento de los monocitos a través de la secreción de quimiocinas CCL2 y CXCL1, dependientes de TLR2, lo que resulta en la formación de microabscesos y en una mayor fagocitosis del microorganismo al que limita su propagación. *L. monocytogenes* requiere de su InIB para invadir los hepatocitos; de hecho, ratones infectados por vía intravenosa con cepas que carecen de una InIB funcional, denotan una carga microbiana reducida en el hígado (99).

Por lo que se refiere al bazo, el sistema inmunitario innato controla a *L. monocytogenes* en las primeras etapas de la infección, a través de neutrófilos, células dendríticas y macrófagos. No obstante, en las fases posteriores las células T CD8⁺ son responsables de provocar la muerte de las células que han sido infectadas por el patógeno. Tras la infección, las células dendríticas (CDs) CD8 α ⁺ de la periferia migran a través del sistema linfático hacia los órganos linfoides, para participar en la respuesta adaptativa. La maduración de las CDs ocurre al migrar; sin embargo, las CDs también pueden actuar como reservorios de listerias, en donde éstas evaden la respuesta inmunitaria innata y pueden acceder al sistema reticuloendotelial. En este sentido, los ratones *Batf3* (-/-) que carecen de CDs CD8 α ⁺, muestran una reducida carga bacteriana en el bazo; bajo estas condiciones, el tráfico de *L. monocytogenes* hacia la vaina linfoide periarteriolar (desde la zona marginal) suele verse afectado, lo que mantiene a las bacterias en la zona marginal para originar su eliminación de manera más eficiente (110).

Invasión del cerebro

A la fecha aún existen numerosos aspectos sobre la neurolisteriosis que continúan siendo poco conocidos; no obstante, las revisiones especializadas que han abordado la invasión del cerebro por *L. monocytogenes* establecen que esta especie patógena es la única de su género que infecta al sistema nervioso central (SNC) en humanos y rumiantes domésticos. Los mecanismos involucrados incluyen el transporte axonal retrógrado y el cruce de la barrera hematoencefálica (BHE) (6).

En cuanto al transporte axonal retrógrado, éste ocurre a través de dos rutas diferentes: i) la que utiliza a los nervios craneales, principalmente al trigémino, después de cruzar el epitelio oral; y ii) la que aprovecha al epitelio olfativo. En el primer caso, los nervios craneales se infectan después de que el patógeno ingresa a través de lesiones en la mucosa de la cavidad orofaríngea. Este mecanismo es más probable en rumiantes, aunque algunos casos raros sugieren que también puede ocurrir en humanos; consecuentemente, el microorganismo induce rombencefalitis, casi exclusivamente en los animales afectados. La segunda puerta de entrada alternativa y ruta de infección para la neurolisteriosis neonatal, se asocia a la invasión del epitelio olfativo durante el nacimiento, especialmente cuando el recién nacido entra en mucho contacto con la vagina de la madre (6,99).

Una vez que *L. monocytogenes* alcanza el torrente circulatorio puede cruzar la BHE o barrera del líquido cefalorraquídeo; suele permanecer como extracelular, libre y/o asociada a la superficie de las células circulantes; evidentemente, puede reconocer receptores ubicados en la superficie de las barreras y cruzarlas. Las bacterias que cruzan la BHE se llegan a asociar a leucocitos, utilizándolos como “engaño” para acceder al SNC; esta ruta hematológica es probablemente la más frecuente en humanos que adquieren meningitis o meningoencefalitis (6).

En el acceso al SNC, los factores de virulencia de *Listeria* son determinantes, aunque sólo algunos mecanismos moleculares han podido definirse. Al respecto, tres factores de virulencia cuyos genes se ubican en la LIPI-1, desempeñan un papel importante durante la infección cerebral: PlcB, LLO y ActA (6,111).

De hecho, en un modelo *in vitro* de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo, basado en células de papiloma del plexo coroideo humano, se ha observado que el patógeno invade estas células (expresando tanto E-cadherina como Met) de manera dependiente de la InIA e InIB. La eliminación experimental de una u otra internalina conduce a una disminución en la invasión, lo que sugiere una función interdependiente de ellas durante la invasión de las células epiteliales del plexo coroideo. Cabe señalar la posibilidad de que también se requieran otras internalinas, como la InIF o InIL, para lograr la colonización del cerebro (6,68).

Los aislamientos del patógeno que pertenecen a las clonas CC1, CC4 y CC6 (linaje I) son hipervirulentos y, sobre todo, neurotrópicos, a diferencia de las cepas de referencia del linaje II: EGDe (CC9) y 10403S (CC7). Algunos estudios han demostrado que la inactivación de la LIPI-4 presente en CC4 reduce la invasión cerebral, sin afectar la colonización de otros tejidos, por lo que investigaciones posteriores podrían enfocarse a elucidar el mecanismo de acción involucrado en la colonización del SNC (90).

Listeriosis placentaria-neonatal

La infección fetal es una afección grave que implica parto prematuro, aborto, sepsis, afectación del sistema nervioso central o incluso la muerte. Las mujeres embarazadas tienen una probabilidad 18 veces mayor, en comparación con las mujeres no embarazadas, de infectarse con LM después de ingerir alimentos contaminados, en parte por la inmunidad reducida de las células T (136).

El proceso de entrada no está completamente dilucidado, pero todo parece indicar que las bacterias pueden cruzar el endotelio de los vasos sanguíneos maternos y luego pasar al sistema circulatorio fetal de las vellosidades placentarias. En las mujeres embarazadas a quienes coloniza, *L. monocytogenes* suele atravesar la barrera placentaria e infectar al feto, a través de dos vías principales: (i) la propagación célula a célula a partir de fagocitos maternos infectados; y (ii) la infección de trofoblastos por bacterias que circulan libremente en la sangre. La preferencia por alguna de estas vías

probablemente dependa de la dosis infecciosa y de la carga bacteriana en el hígado y el bazo (99).

Estudios *in vivo* realizados en jerbos, un roedor cercano a los humanos en cuanto a la afinidad de los receptores de E-cadherina y c-Met, revelan que la InIA e InIB contribuyen en cierta medida a la invasión placentaria, si bien las cepas que carecen de estas internalinas también llegan a infectar al feto. Este hallazgo apoya la idea de que la invasión placentaria residual procede de los fagocitos maternos y demuestra la coexistencia de ambas vías (68).

En el humano, la barrera placentaria está compuesta por células epiteliales de origen fetal, denominadas citotrofblastos, las cuales se fusionan para originar los sincitiotrofblastos, estas células que están en contacto directo con la sangre materna pueden ser invadidas por *L. monocytogenes* (99).

Los sincitiotrofblastos presentan E-cadherina y c-Met en la superficie pero, a diferencia de los enterocitos, no cuentan con la actividad intrínseca de PI3-K para la internalización del microorganismo. En los sincitiotrofblastos, la unión de la InIB a c-Met promueve la activación de PI3-K, ya que ésta es necesaria para el reordenamiento del citoesqueleto; a su vez, éste es indispensable para que ocurra la internalización bacteriana. Por lo tanto, la actividad constitutiva de PI3-K en los enterocitos origina que la InIB no sea esencial para atravesar la barrera intestinal. Por su parte, la InIP, otra proteína de la familia de las internalinas parece ser crítica para la invasión

placentaria: la InIP se une a la afadina humana, una proteína citosólica asociada a las uniones célula a célula, lo que conduce a cambios en la cara basal de las células epiteliales y promueve la transcitosis bacteriana entre las monocapas de células epiteliales (48).

Es importante mencionar que las altas tasas de listeriosis materno-fetal humana suelen relacionarse con complejos clonales hipervirulentos (CC) particulares, identificándose a la InIA y a la LIPI-4 como relevantes factores de virulencia. De hecho, la expresión de la InIA se asocia más a los aislamientos materno-neonatales que a los de bacteriemia. Por su parte, la eliminación de la LIPI-4 en algunos experimentos produjo una disminución de listeriosis placentaria y listeriosis neuroinvasiva en ratones, sin llegar a afectar la colonización de otros tejidos (90).

Se espera definir en el futuro otros pasos fundamentales del proceso de infección, los mecanismos moleculares y celulares que permiten la colonización intestinal, así como el cruce de la barrera hematoencefálica y la barrera placentaria.

IV. PATOLOGÍA ASOCIADA A *L. MONOCYTOGENES*

Listeriosis neonatal

Lo relativo a los síndromes clínicos asociados a listeriosis humana se ha elucidado recientemente. La listeriosis neonatal se definió en recién nacidos desde la anterior Alemania del Este. La descripción de la listeriosis temprana fue seguida por casos de meningitis neonatal que suelen aparecer posteriormente, ya en la etapa postparto. Es decir, la meningitis neonatal por *Listeria monocytogenes* parece tener el tercer lugar en el mundo desarrollado, después de la debida a los estreptococos del grupo B y a *Escherichia coli*. A tal respecto, cabe tomar en cuenta que los antibióticos empleados para prevenir o tratar la infección por *Streptococcus* del grupo B reducen los casos de listeriosis neonatal. En países menos desarrollados, la meningitis por bacterias Gram negativas como *E. coli* o *Salmonella* es más común, aunque también ocurre la meningitis por *Listeria* (127,136).

La listeriosis neonatal tiene características como prematurez, sepsis al nacer, fiebre, una difusa erupción cutánea maculopapular y evidencias de implicación hepática como ictericia. El grado de mortalidad de este tipo de listeriosis es muy alto, aún con tratamiento, siendo también común la muerte fetal. En este caso, la autopsia suele mostrar corioamnionitis en los restos de placenta y granulomas en múltiples órganos, especialmente en el hígado y bazo de los infantes infectados. Las primeras

descripciones en Alemania del Este caracterizaban al síndrome global como granulomatosis infantiséptica (127).

Las madres de estos infantes pueden ser asintomáticas o presentar síntomas como fiebre, dolor de cabeza, diarrea, mialgias u otros síntomas relacionados con el aparato digestivo, siendo el primero la manifestación clínica más común. Sin embargo, las consecuencias de la infección del feto o recién nacido son muy graves e incluyen parto prematuro, neumonía y meningitis. El diagnóstico de la infección por listeria depende principalmente del hemocultivo. Los resultados de pruebas adicionales, incluido el aumento de glóbulos blancos, el frotis vaginal o la tinción de Gram, también podrían ser útiles (88,136).

La listeriosis neonatal se divide en: enfermedad de inicio temprano y de inicio tardío. La primera se manifiesta como bacteriemia, neumonía y rara vez meningitis, mientras que la segunda se presenta como meningitis en lugar de sepsis.

La sintomatología de la meningitis debida al patógeno incluye fiebre, irritabilidad, fontanelas protuberantes y meningismos, se presenta una o dos semanas después del nacimiento, sin que la madre haya presentado problemas durante el embarazo o la liberación del recién nacido. El síndrome clínico dicta la realización de una punción lumbar y el líquido cefalorraquídeo (LCR) revela la presencia del microorganismo, previa tinción de Gram (en la mitad de los casos) y los cultivos también suelen ser

positivos. El LCR muestra una cuenta alta de leucocitos, proteínas elevadas y una baja concentración de glucosa (127).

Gastroenteritis

Un síndrome de gastroenteritis febril ha sido descrito para *Listeria*, con síntomas iniciales como fiebre, diarrea acuosa y/o dolor abdominal; su frecuencia es mayor en los grandes brotes debidos a listeriosis por consumo de alimentos contaminados (88).

Aunque en algunos enfermos ha ocurrido sepsis posteriormente, los síntomas primarios son diarrea, fiebre, fatiga, calosfríos y mialgias, a las 24 h de la infección. Este periodo de incubación es considerablemente más corto que el de 3 a 4 semanas de las formas más frecuentes de listeriosis invasiva (127).

En 1997, se reportó un brote de gastroenteritis febril que se asoció al consumo de leche contaminada con *L. monocytogenes*, donde el 75% de personas que la consumieron presentaron los síntomas anteriormente mencionados. Ese mismo año, ocurrió el mayor brote documentado en 1566 en Italia donde estudiantes de dos escuelas primarias en Italia desarrollaron la enfermedad tras consumir alimentos de sus respectivas cafeterías proporcionadas por un mismo proveedor (9).

Las mujeres embarazadas parecen ser las que presentan sepsis en los brotes y, aunque los coprocultivos suelen resultar negativos, las pruebas serológicas se han empleado para detectar este síndrome y, desde luego, para definir la extensión de las epidemias (127).

Neurolisteriosis en adultos

En 1918, se obtuvo el primer aislamiento de *L. monocytogenes* a partir de líquido cefalorraquídeo proveniente de un soldado que falleció de meningitis causada por este patógeno. La infección en SNC se manifiesta en humanos como meningitis y meningoencefalitis, seguidas de rombencefalitis y abscesos cerebrales (35).

La meningitis se define como inflamación de las membranas protectoras que recubren el SNC a nivel del parénquima cerebral y médula espinal; la meningoencefalitis es la inflamación del cerebro asociada con meningitis donde la infección de las meninges ocurre gracias a la capacidad de *L. monocytogenes* por cruzar la barrera hematoencefálica. Por otro lado, la rombencefalitis se caracteriza por una disfunción progresiva del tronco encefálico (60).

L. monocytogenes es una causa poco común de meningitis en adultos, ocurre principalmente en personas de edad avanzada e inmunosuprimidas, destacando principalmente dos formas clínicas: la primer forma clínica consiste en una meningitis

subaguda caracterizada por la triada clásica conformada por fiebre, rigidez de nuca así como estado mental alterado, y cefaleas; el microorganismo suele no aparecer en las tinciones del LCR y las cuentas de leucocitos resultan menores a otros casos de meningitis por otros agentes etiológicos, siendo diagnosticada erróneamente como de origen viral. El inicio del cuadro puede tardar varios días, a diferencia de las meningitis por *Streptococcus pneumoniae* o *Neisseria meningitidis*, principales agentes causantes de meningitis, que inician abruptamente (16).

La segunda forma de listeriosis del SNC en adultos, es una rombencefalitis donde los primeros 4 a 10 días se presentan síntomas inespecíficos tales como fiebre, cefalea, malestar general, náuseas y vómito, pero posteriormente los enfermos desarrollan anomalías de los nervios craneales, acompañadas por una disfunción cerebelar, en el 90% de los casos, que incluye ataxia, hemiparesia y defectos hemisensoriales. El diagnóstico suele realizarse mediante cultivos de LCR y sangre; las imágenes obtenidas por resonancia magnética son muy representativas y frecuentemente demuestran los típicos multiabscesos en el cerebelo y el diencefalo. La mortalidad en este punto es aproximadamente del 51%, a pesar del tratamiento, sin embargo, los sobrevivientes tienden a desarrollar secuelas neurológicas en el 61% de los casos (3,60).

Hepatitis y abscesos hepáticos

Si bien la afectación hepática por *L. monocytogenes* es muy poco frecuente, se ha descrito como agente causal de hepatitis aguda y abscesos hepáticos, estos últimos con pronóstico desfavorable sobre todo cuando no son drenados. Los factores predisponentes incluyen cirrosis y trasplante de hígado, aunque la hepatitis por *Listeria* también puede ocurrir en individuos aparentemente sanos (135).

La hepatitis aguda cursa con fiebre e ictericia, acompañados por cultivos positivos de sangre con el microorganismo. Comúnmente, el diagnóstico resulta indeterminado; el deceso puede sobrevenir y las biopsias de hígado revelan la presencia de microabscesos, e inclusive, pueden aparecer granulomas similares a los que se observan en la enfermedad neonatal. La mortalidad alcanza a alrededor del 50% de los afectados y los exámenes post-mortem también revelan abscesos en otros órganos, a pesar del tratamiento (127).

Peritonitis

L. monocytogenes también puede ser causa de episodios aislados de peritonitis, en pacientes inmunocomprometidos, adultos mayores y principalmente en enfermos que se someten a diálisis peritoneal, en cuyo caso el microorganismo se llega a observar

tanto en los dializados como en hemocultivos; la sintomatología implica dolor abdominal progresivo, fiebre, náuseas, vómito y diarrea (12).

Esta complicación realmente es rara, con menos de 50 casos reportados en la literatura médica, pero *Listeria* también puede ocasionar peritonitis espontánea a los enfermos con enfermedad hepática avanzada, siendo esta una complicación infecciosa potencialmente mortal en pacientes con ascitis ocasionada por cirrosis hepática (132).

En este sentido, el diagnóstico se establece por un recuento elevado de polimorfonucleares en líquido ascítico ≥ 250 células/mm³ y un cultivo bacteriano positivo en líquido ascítico (127).

Endocarditis

La endocarditis infecciosa (EI) es una complicación rara de esta infección bacteriana, y solo alrededor del 8% de infecciones por *L. monocytogenes* lo desarrollan, puede seguir a una bacteriemia originada en el intestino, afectando más frecuentemente a las válvulas que presentan anomalías. Sin embargo, esta entidad clínica llega a presentarse principalmente en válvulas protésicas y nativas, cursando cuadros clínicos que van desde infección en éstas hasta compromiso sistémico. Las válvulas mitral y aórtica suelen ser las más afectadas (5).

Septicemia

La sepsis, bacteriemia o septicemia causada por este patógeno y sin involucramiento del SNC, representa un tercio de la listeriosis invasiva. Aunque sus síntomas son inespecíficos incluyen fiebre y calosfríos; como ya se mencionó para las mujeres embarazadas, este padecimiento es confundido frecuentemente con pielonefritis o influenza. En las mujeres no embarazadas, la afección se presenta en pacientes con cáncer, trasplante de órganos u otras condiciones con inmunocompromiso (100,127).

La mortalidad en las infecciones invasivas por *L. monocytogenes* sigue siendo alta a pesar del tratamiento antibiótico adecuado, se reporta una tasa de mortalidad superior al 20%. En estos casos, las características son inespecíficas y mimetizan septicemias por otros microorganismos Gram positivos y Gram negativos (100).

En resumen, la listeriosis es una de las enfermedades más graves transmitidas por alimentos contaminados aunque relativamente rara, donde los principales síntomas incluyen fiebre, cefaleas, diarrea y dolores musculares hasta meningitis y septicemia en su forma invasiva. *L. monocytogenes* afecta principalmente a embarazadas, personas inmunocomprometidas, pacientes con edades extremas (neonatos y adultos mayores), así como personas con comorbilidades. Si bien la listeriosis puede tener un curso limitado en personas inmunocompetentes, en grupos de alto riesgo tiende a presentarse en su forma invasiva siendo estas principalmente meningitis, meningoencefalitis o sepsis con una alta tasa de mortalidad. En la actualidad, España,

Francia y Polonia notifican el mayor número de casos que requieren hospitalización debido a esta enfermedad y en general en Europa la listeriosis presenta una tendencia a la alza en España desde 1997 (119).

V. TRATAMIENTO CONTRA LISTERIOSIS

Terapia con antibióticos

Por lo general, el tratamiento de elección contra la listeriosis suele consistir en un antibiótico β -lactámico como ampicilina, combinado frecuentemente con un aminoglucósido, ya que se ha demostrado que existe sinergia entre la ampicilina o penicilina y gentamicina, así como con el cotrimoxazol, siendo estos esquemas los de mayor selección (127).

Sin embargo, es importante considerar que los antibióticos más efectivos (penicilina y ampicilina) sólo tienen actividad bacteriostática contra *L. monocytogenes*, por lo que las defensas del paciente juegan un papel fundamental en los padecimientos ocasionados por esta bacteria (120).

Por lo que se refiere a los agentes antimicrobianos de segunda línea, recomendados en caso de alergia a los β -lactámicos, o bien, en ciertos estados de la enfermedad, son: trimetoprim/sulfametoxazol, eritromicina y vancomicina, aunque macrólidos, linezolid, tetraciclinas o rifampicina también representan alternativas útiles (34,64).

Por otro lado, *L. monocytogenes* muestra resistencia a las cefalosporinas, empleadas como tratamiento de síndromes de sepsis inespecíficos, así como para el tratamiento

empírico de meningitis bacteriana, por lo cual la terapia específica para listeriosis llega a retrasarse en algunos pacientes. La duración del tratamiento aun no es clara, ya que depende de las manifestaciones clínicas del paciente, no obstante, la terapia con ampicilina y gentamicina por 2 a 3 semanas suele ser suficiente (127).

J. Rodríguez sugiere mantener la sinergia gentamicina-ampicilina durante 7 días, para continuar con ampicilina hasta que los cultivos resulten negativos y se haya verificado susceptibilidad hacia esta última. El tiempo del tratamiento para infecciones invasivas sin meningitis puede ser de 10 a 14 días, pero los cuadros de meningitis por *L. monocytogenes* implican 21 días de terapia, con aumento en la dosis de ampicilina hasta 300 mg/Kg/día (200-400 mg/kg/día), en 4 a 6 dosis diarias. Este periodo se extiende en casos de endocarditis o rombencefalitis; por otro lado, en el caso de bacteriemia, la duración es de dos semanas, de acuerdo con la evolución clínica. Después de este lapso, se han reportado recurrencias en los pacientes inmunocomprometidos. Cuando la listeriosis es un diagnóstico probable, el uso de ampicilina o vancomicina (cuando existe hipersensibilidad a la penicilina), destacan para el tratamiento de elección contra *L. monocytogenes* hasta que el diagnóstico se confirma a través de cultivos (127).

En cuanto a las infecciones del sistema nervioso central, se sugiere emplear dexametasona y fenitoína como posibles complementos terapéuticos.

Durante el embarazo, la listeriosis es 13 a 20 veces más común en comparación con la población en general, y los regímenes recomendados difieren de acuerdo con la sintomatología de la mujer; si es asintomática, no se establece tratamiento médico, pero debe continuarse con la supervisión de posibles síntomas hasta por 2 meses. Por el contrario, si la paciente es sintomática, los antibióticos de primera elección son ampicilina o amoxicilina intravenosa. Como alternativa en mujeres alérgicas a la penicilina, se recomienda la combinación de trimetoprim y sulfametoxazol intravenosos (75,135).

En los recién nacidos, las complicaciones más comunes de listeriosis son sepsis generalizada y meningitis. Cabe señalar que la listeriosis neonatal se divide en: enfermedad de inicio temprano y de inicio tardío.

La enfermedad de inicio temprano ocurre dentro de la primera semana que sucede al parto, generalmente a causa de una infección intrauterina; por lo regular se asocia a partos prematuros, en cuyo caso el tratamiento recomendado es ampicilina o amoxicilina intravenosa 100-300 mg/Kg/día, de cuatro a seis dosis, con gentamicina o penicilina G intravenosa (bencilpenicilina) durante 2 semanas (75).

Por su parte, la enfermedad de inicio tardío ocurre después de 2 semanas o más y probablemente el microorganismo se haya adquirido durante el paso del bebé por el canal del parto o por transmisión vertical o nosocomial; su tratamiento consiste en

ampicilina o amoxicilina intravenosa 100-300 mg/Kg/día, en cuatro a seis dosis, penicilina G intravenosa durante 3 semanas, junto con gentamicina intravenosa (75).

Las proteínas de unión a penicilina (PBP) de *L. monocytogenes*, las cuales están implicadas en la construcción de la pared celular bacteriana, son el objetivo fundamental de los antibióticos. La ampicilina inhibe preferentemente a las proteínas PBP1 y PBP2, presenta buena actividad inhibidora contra PBP3 y PBP4, y su afinidad es menor hacia la PBP5. La resistencia a la ampicilina es poco común en *L. monocytogenes*, involucrando a menos del 0.1% de los aislamientos. El objetivo “clave” de la ampicilina es la PBP3 (PBPB1) presente en todas las cepas de *Listeria*; sin embargo, ésta no es afectada por las cefalosporinas (particularmente cefotaxima y ceftazidima), lo que sugiere la existencia de resistencia intrínseca a las cefalosporinas (7).

Algunos mecanismos que proporcionan resistencia a *L. monocytogenes* son su capacidad de intercambiar determinantes de resistencia con otras especies, sobresaliendo los casos de subpoblaciones persistentes, la formación de biopelículas, bombas de eflujo y adaptación al estrés ambiental (87).

En el primer caso, el microorganismo es capaz de intercambiar determinantes de resistencia a través de conjugación con otras bacterias, como el plásmido pIP501 de *Streptococcus agalactiae* que confiere resistencia a macrólidos, lincosamidas,

cloranfenicol y estreptograminas; así mismo, el pAM Beta I (pAM β 1) de *Enterococcus faecalis* confiere resistencia a eritromicina (88,129).

En cuanto al segundo mecanismo (formación de células persistentes), este ocurre cuando una fracción de la población celular que se encuentra en estado latente (sin división), mejora su resistencia ante antibióticos bactericidas y las condiciones ambientales extremas, protegiendo al patógeno de la defensa del hospedero durante periodos prolongados, lo que podría explicar la ausencia temporal de síntomas clínicos de listeriosis hasta que transcurren varios días después de la infección. Por otra parte, la formación de biopelículas produce una población de células bacterianas unidas entre sí o a una superficie, englobadas por una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), tales como proteínas, polisacáridos y ADN extracelular. Bajo estas condiciones, las bacterias también incrementan su tolerancia a los compuestos cuaternarios de amonio (87).

Las bombas de eflujo del tipo Lde generalmente se asocian a resistencia a fluoroquinolonas, incluida la ciprofloxacina; la bomba de eflujo MdrL se encarga de la eliminación de agentes antimicrobianos y metales pesados de la célula del patógeno; finalmente, las MdrM y MdrT permiten tanto la persistencia como la replicación del patógeno dentro del tracto gastrointestinal, contrarrestando los efectos bactericidas de la bilis del hospedero (87).

En las últimas décadas, la consabida aparición de bacterias multirresistentes ha reducido la utilidad práctica de buena parte de los antibióticos, lo que ha conducido a la comunidad científica a buscar nuevas alternativas para el establecimiento de la terapia.

Terapia con bacteriocinas

Actualmente, aparecen algunos trabajos en los que se evalúa el poder de las bacteriocinas bacterianas. Principalmente, se han venido estudiando las bacteriocinas de las bacterias lácticas, en especial la nisina producida por *Lactococcus lactis*, para tratar de controlar a los agentes causales multirresistentes (52).

Las bacteriocinas, pequeños péptidos inhibidores sintetizados en los ribosomas o proteínas complejas que muestran un espectro variable de actividades antimicrobianas, suelen ser efectivas contra cepas Gram positivas y se han analizado para ser utilizadas en la conservación de los alimentos. Aunque el empleo de la nisina no se ha aprobado como terapia para el humano, diversos trabajos *in vitro* han demostrado su eficacia terapéutica, en particular cuando se realiza el control de cepas multirresistentes (8,52).

Ciertamente, los estudios han mostrado la emergencia de cepas resistentes a nisina después de la exposición; sin embargo, dados los interesantes resultados

proporcionados por esta bacteriocina para su futuro uso clínico, será importante elucidar los mecanismos de resistencia y el desarrollo de estrategias que puedan evitar la tolerancia hacia ella (8).

Terapia con bacteriófagos

Otra opción bajo estudio consiste en el empleo de bacteriófagos o fagos; en este caso, se emplean partículas de fagos estrictamente líticos a fin de reducir o eliminar las infecciones bacterianas. A pesar de que el tema no es nuevo, se está redescubriendo su importancia, ya que representaría un método terapéutico seguro, debido a que se trata de entidades biológicas desprovistas de maquinaria metabólica que carecen de afinidad por las células eucariotas (61).

Los bacteriófagos son virus capaces de destruir bacterias en forma específica y fueron descubiertos en 1915 por Frederick Twort y Félix d'Hérelle; son las entidades “biológicas” más numerosas en la Tierra (aproximadamente 10^{31} en la biosfera), se encuentran en ambientes extremos, así como en el océano, el suelo y el cuerpo humano (118). Dado que se trata de una parte inherente al microbioma humano, generalmente se toleran bien cuando son empleados como agentes terapéuticos (125). Se replican utilizando el sistema de replicación de su hospedero bacteriano, destruyen a la célula hospedera (llevando a cabo el ciclo lítico) o residen en el genoma bacteriano (en estado lisogénico) (118). También se les puede diferenciar por su

tamaño y forma icosaédrica, filamentosa y compleja; sus ácidos nucleicos son de varios tipos, incluyendo al ADN monocatenario (ssDNA), ADN bicatenario (dsDNA), ARN monocatenario (ssRNA) o ARN bicatenario (dsRNA) (125).

La utilidad de los fagos como agentes antibacterianos deriva de dos propiedades: i) los viriones de los fagos consisten en proteínas y ácido nucleico, son no xenobióticos y tienden a ser relativamente inertes dentro del cuerpo, excepto cuando muestran bioactividad durante sus interacciones con las bacterias diana. En consecuencia, las concentraciones tóxicas mínimas tienden a ser más altas que las concentraciones efectivas mínimas y, por lo tanto, su aplicación al cuerpo tiende a no generar efectos secundarios; y ii) los mecanismos de actividad antibacteriana del fago son eficaces, constan de múltiples mecanismos y no se cree que se superpongan en términos de sus objetivos moleculares con los de los antibióticos existentes (131).

Los fagos tienen bajo o nulo impacto sobre la microbiota, ya que están altamente especializados en ciertas especies o cepas. Por el contrario, el uso de los antibióticos puede ser perjudicial para los microbiomas, implicando consecuencias negativas para la salud. Sin embargo, una ventaja de los antibióticos sobre los fagos es su amplio espectro de actividad, pero ello se puede emparejar empleándose cocteles de fagos como agentes terapéuticos para incrementar su espectro de acción (49,118).

La preocupación sobre el uso de fagos dentro del contexto clínico respecto de su potencial para codificar factores de virulencia bacterianos se elimina al emplearse

fagos líticos profesionales, evitándose hospederos que porten genes o profagos indeseables y no empleando ingredientes en los medios de crecimiento que puedan contener toxinas o contaminantes peligrosos.

Los fagos líticos se replican a través del ciclo lítico, en el cual el fago infecta a la célula bacteriana mediante el empleo de la maquinaria hospedera de replicación y traducción; después se lisa a la bacteria, liberándose nuevas partículas del fago (71). En otras palabras, se adsorben en la membrana de la bacteria hospedera interactuando con los receptores bacterianos e inyectan su material genético a través de la pared celular. Durante la interacción, la cápside del fago permanece fuera de la célula, mientras que el material genético viral puede localizarse en el citoplasma, donde emplea la maquinaria replicativa del hospedero para producir más viriones, que luego se liberan mediante la lisis de la bacteria (49).

Aunque durante décadas el posible uso terapéutico de los bacteriófagos ha sido eclipsado por el empleo de los antibióticos, la aparición de bacterias multirresistentes está por detener la utilidad práctica de éstos. De acuerdo con la organización “Phages for Global Health”, se estima que en el año 2050 fallecerán diez millones de personas a consecuencia de la resistencia antimicrobiana (106).

Por otra parte, se reconoce cada vez más que el microbioma desempeña un papel modulador central en el desarrollo de numerosas enfermedades, de manera que la comprensión del papel de la microbiota intestinal en la salud y los padecimientos

humanos los ha colocado en la mira de la comunidad científica como una posible alternativa en el tratamiento de patologías ocasionadas por bacterias (44).

Los antibióticos ofrecen un medio eficaz para controlar las enfermedades causadas por patógenos bacterianos, empero, suelen matar indiscriminadamente afectando la microbiota intestinal. Además, las bacterias han desarrollado o están desarrollando resistencia a los antibióticos, lo que implica importantes desafíos en el ámbito clínico (30).

En comparación con los antibióticos, los fagos están dirigidos contra cepas específicas dentro de una especie determinada o un número limitado de especies relacionadas estrechamente, lo que los hace un medio prometedor de erradicación bacteriana sin afectación colateral a la microbiota; cabe destacar que son incapaces de infectar y replicarse en las células eucariotas y que la potencial resistencia bacteriana surgiría de manera diferente. En consecuencia, pueden eliminar bacterias multirresistentes que los antibióticos disponibles no podrían erradicar y que la aparición de resistencia a ambos agentes terapéuticos sería mutuamente excluyente, permitiendo el establecimiento de tratamientos complementarios fagos-antibióticos (37,128).

El posible uso preventivo o terapéutico de fagos líticos contra *Listeria monocytogenes* representa un enfoque atractivo para mejorar las defensas intestinales naturales contra ésta y/o como complemento al tratamiento con antibióticos.

Para una eficacia óptima, los fagos administrados por vía oral primero deben pasar por varios entornos hostiles durante el paso gastrointestinal (GI), incluido el pH bajo en el estómago, enzimas pancreáticas y las sales biliares en el intestino delgado. Dichos factores pueden reducir la estabilidad de los fagos, destruirlos o disminuir su actividad.

La farmacocinética de las preparaciones de fagos administrados por vía oral aún no está completamente elucidada, podría ser muy variable entre diferentes fagos y muy afectada por las condiciones del tracto gastrointestinal, incluyendo la composición de la microbiota. Además, existe gran escasez de datos sobre el impacto del paso GI en la viabilidad de los fagos dirigidos contra *Listeria*, así como de su capacidad para lisar las bacterias diana en el tracto GI después de dicho paso.

Con el objetivo de encontrar una manera óptima de administrar el tratamiento con bacteriófagos H. Ling y colaboradores sugieren como estrategia el empleo de liposomas cargados positivamente para encapsular a los bacteriófagos a fin de protegerlos del ácido gástrico, prolongar sus tiempos de retención intestinal debido a la carga positiva de su superficie, y aumentar la posibilidad de captación celular a través de endocitosis o fusión de membranas debido a su tamaño y una vez que los fagos activos se transportan al citoplasma del huésped, puedan inactivarlo (83).

En un trabajo realizado por Rasmus Riemer Jakobsen y cols., los fagos investigados de *Listeria* eran parte importante de componentes del “coctel” *Foodborne Outbreak Pill* (FOP) (Intralytix, Inc., Columbia, MD, EE. UU.) (131).

El FOP consiste en una mezcla de tres preparaciones de fagos diferentes, que contienen fagos líticos dirigidos contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp* y *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC). El estudio intentaba probar: (i) la capacidad de supervivencia de los fagos de *L. monocytogenes* en condiciones que imitan a las del estómago; (ii) el potencial de la FOP para atacar selectivamente a *L. monocytogenes* en el intestino y evaluar su impacto en bacterias comensales representativas, usando condiciones simuladas de los intestinos delgado y grueso en humanos; y (iii) la capacidad del mismo coctel de fagos para proteger a las células Caco-2 de la adhesión e invasión de *L. monocytogenes*. Los resultados fueron muy interesantes, encontrándose que el coctel de bacteriófagos FOP: a) redujo selectivamente la población de *L. monocytogenes* en un modelo *in vitro* de intestino delgado; b) disminuyó significativamente la cantidad de *L. monocytogenes* en un modelo de colon, al tiempo que preserva la estructura de la comunidad bacteriana; y c) redujo notablemente la adhesión y la invasión de las células Caco-2 por parte de *L. monocytogenes*.

CONCLUSIONES

1. *Listeria monocytogenes* cuenta con una especial capacidad para superar las condiciones de estrés que encuentra en los entornos asociados a los alimentos y las plantas de procesamiento de alimentos (FPEs), destacando su tolerancia a las altas concentraciones de sal, el pH ácido, las temperaturas de refrigeración, algunos metales pesados y diversos desinfectantes.
2. La proteína conocida como *factor sigma alternativo* (SigB) representa la principal responsable de la resiliencia listeriana a numerosos tipos de estrés, ya que regula a cientos de genes involucrados en la denominada respuesta general al estrés (GSR). A su vez, el sistema denominado estresosoma modula la actividad del SigB, mediante diversos componentes Rsb (Reguladores de sigma B), destacando por su importante papel el RsbV.
3. Para superar la salazón que se emplea para conservar ciertos alimentos, el microorganismo acumula solutos compatibles, los cuales corresponden principalmente a compuestos orgánicos hidrosolubles que aumentan la osmolalidad intracelular, impidiendo la generación de flujos de agua hacia el exterior del bacilo.

4. Tras su exposición a agentes de choque osmótico, se activan los genes *gbu* y *betT* del bacilo, los cuales codifican para el transportador ABC de la carnitina y para los transportadores de glicina-betaína.
5. *L. monocytogenes* utiliza transportadores para adaptarse a las altas concentraciones de sal, dependiendo del osmoprotector presente en la matriz alimenticia: la carnitina abunda en la carne y la glicina-betaína en las plantas.
6. *L. monocytogenes* es uno de los pocos patógenos transmitidos por alimentos que puede crecer a temperaturas de -0.4°C (lo que se conoce como psicrotolerancia), originando que la refrigeración llegue a resultar ineficaz para restringir su proliferación.
7. Tras algún choque frío, el microorganismo reduce drásticamente su tasa de crecimiento, aunque induce la producción de enzimas que participan en la síntesis de precursores de los ácidos grasos de cadena ramificada y de transportadores de glicina-betaína (*gbu*), carnitina (*opuC*) y oligopéptidos (*OppA*). Todos los anteriores aumentan la absorción de solutos compatibles.
8. Cuando los productos de la sanitización no cubren homogéneamente las superficies de trabajo en las plantas procesadoras, los microorganismos colonizan algunos “sitios de refugio” que permiten su prolongada permanencia.

9. Las concentraciones subinhibitorias de los compuestos cuaternarios de amonio (QAC) utilizados en las plantas procesadoras, promueven el desarrollo de tolerancia microbiana hacia estos desinfectantes.
10. La tolerancia a los compuestos cuaternarios de amonio (QAC) depende, tanto de los mecanismos asociados a la expresión de bombas de eflujo codificadas en elementos genéticos móviles que se transmiten horizontalmente, como en la formación de biopelículas por parte del microorganismo.
11. Las actividades industrial y agrícola en las procesadoras de alimentos propician la acumulación tóxica de metales pesados (especialmente cadmio y arsénico), que también son expulsados por *L. monocytogenes* mediante bombas de eflujo.
12. Así como el *factor sigma alternativo* (SigB) representa la principal responsable de la tolerancia listeriana a numerosos tipos de estrés, el *factor regulador pleiotrópico A* (PrfA) es el principal regulador de la virulencia de *L. monocytogenes*.
13. Dentro del organismo humano, esta especie resiste el pH ácido estomacal, la alta osmolaridad de la luz intestinal, la acción antimicrobiana de la bilis y la competencia que libra con la microbiota.

14. Al ingerirse alimentos contaminados, *L. monocytogenes* llega inicialmente al estómago, en donde debe sobrevivir a pHs de 1 a 2, logrando elevar su pH intracelular para neutralizar la acidez.
15. En el intestino, este patógeno supera la acción antagónica de la microbiota intestinal al establecer cambios en algunas rutas metabólicas, liberar bacteriocinas y tolerar tanto el estrés osmótico como las sales biliares.
16. Una vez que *L. monocytogenes* llega al intestino del hospedero, atraviesa la barrera epitelial entérica, principalmente mediante transcitosis, translocación paracelular y/o tras su captación por células M.
17. El patógeno prolifera dentro de las células fagocíticas y no fagocíticas, a las que penetra gracias a sus internalinas A y B (InIA e InIB). Éstas promueven su internamiento celular mediante endocitosis o fagocitosis mediada por receptores.
18. Los bacilos escapan del fagosoma implicado provocando poros en la membrana fagosómica a través de su listeriolisina O (LLO); posteriormente, proliferan en el citosol y se propagan hacia las células adyacentes, lo que evita que salgan al espacio extracelular y ser reconocidos durante lapsos prolongados por el sistema inmunitario del hospedero.

19. Durante el escape de los lisosomas, el microorganismo adsorbe “colas de actina” con lo cual adquiere movilidad. Una parte de la población microbiana permanece reproduciéndose en esa célula intestinal, pero la restante empieza a presionar la membrana lateral del enterocito, formando protrusiones (protuberancias) que obligan a ser endocitada por las células vecinas laterales, lo que genera la diseminación célula a célula.
20. Tras su diseminación intercelular, el bacilo disminuye gradualmente su producción de proteína inductora de ensamblaje de actina ActA, lo que detiene la adsorción de esta proteína contráctil a la superficie bacteriana y, por ende, su secuencial polimerización.
21. El patógeno entra en contacto con los antibióticos y el sistema inmune del paciente cuando las células intestinales invadidas son destruidas por el exceso de listerias contenidas y/o por la acción de las células NK y los linfocitos T citotóxicos.
22. La diseminación de *L. monocytogenes* desde el intestino se relaciona con su ingreso a la linfa y la sangre, lo que le permite continuar su proliferación en hígado, bazo, cerebro y placenta.

23. El bacilo es agente etiológico de gastroenteritis, meningitis neonatal, meningoencefalitis en adultos, septicemia, hepatitis y abscesos hepáticos, endocarditis y peritonitis, entre otros padecimientos.
24. En la gastroenteritis por *L. monocytogenes* los síntomas más destacados son diarrea y dolor abdominal, el periodo de incubación puede ser especialmente corto, de alrededor de 24 h, o más frecuentemente de 3-4 semanas, cuando se trata de las formas más frecuentes de listeriosis invasiva.
25. La meningitis neonatal tiene una elevada mortalidad, aun cuando se haya instituido alguna terapia. La muerte fetal también es común, excepto cuando se establece el diagnóstico en forma temprana, lo cual únicamente sucede cuando se trata de brotes epidémicos diagnosticados previamente.
26. La meningoencefalitis en adultos suele presentarse en individuos que presentan abatida la inmunidad celular o se encuentran predispuestos debido a otros padecimientos. Otra forma rara de la afección es la rombencefalitis que, sin embargo, resulta más frecuente en los animales.
27. En las mujeres embarazadas la septicemia llega a confundirse con padecimientos tales como la pielonefritis o la influenza. En las mujeres no embarazadas esta entidad se relaciona con el cáncer y otras condiciones de

compromiso inmunitario, alcanzando el 25 al 30 % de mortalidad. Otros factores predisponentes son cirrosis, alcoholismo y diabetes mellitus.

28. La endocarditis no suele ser un problema frecuente y llega a aparecer como consecuencia de algunas septicemias que afectan a pacientes con lesiones previas en válvulas tales como la mitral y aórtica, sin duda las más afectadas.

29. Los regímenes terapéuticos más utilizados contra *L. monocytogenes* incluyen la combinación de un agente β -lactámico y un aminoglucósido, por lo general ampicilina + gentamicina. Cuando existe hipersensibilidad a los β -lactámicos se recomienda la mezcla trimetoprim-sulfametoxazol o la de eritromicina + vancomicina.

30. El avance listeriano en la resistencia a los antimicrobianos ha dado lugar a la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos, tales como las bacteriocinas de microorganismos probióticos y el desarrollo de cocteles con bacteriófagos. Estos últimos parecen llevar la delantera, puesto que algunos se utilizan para el tratamiento de las plantas procesadoras de alimentos.

REFERENCIAS

1. Alves, Â., Magalhães, R., Brandão, T. R. S., Pimentel, L., Rodríguez-Alcalá, L. M., Teixeira, P. y Ferreira, V.: Impact of exposure to cold and cold-osmotic stresses on virulence-associated characteristics of *Listeria monocytogenes* strains. *Food microbiology*, 2020; 87: 103351. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103351>
2. Archer, D. L.: The evolution of FDA's policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in the United States. *Food Science*, 2018; 20: 64-68 <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.03.007>
3. Armstrong, R. W. y Fung, P. C.: Brainstem encephalitis (rhombencephalitis) due to *Listeria monocytogenes*: case report and review. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 1993; 16(5): 689–702. <https://doi.org/10.1093/clind/16.5.689>
4. Aslan, H., Petersen, M. E., De Berardinis, A., Zacho Brunhede, M., Khan, N., Vergara, A., Kallipolitis, B. y Meyer, R. L.: Activation of the Two-Component System LisRK Promotes Cell Adhesion and High Ampicillin Tolerance in *Listeria monocytogenes*. *Frontiers in microbiology*, 2021; 12: 618174. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.618174>
5. Badar, F., Bhuiyan, R. y Nabeel, S.: A case of *Listeria monocytogenes* infective endocarditis. *Case reports in infectious diseases*, 2022; 2022: 5958017. <https://doi.org/10.1155/2022/5958017>

6. Banović, F., Schroten, H. y Schwerk, C.: Potential roles and functions of listerial virulence factors during brain entry. *Toxins*, 2020; 12(5): 297. <https://doi.org/10.3390/toxins12050297>
7. Baquero, F., F Lanza, V., Duval, M. y Coque, T. M.: Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Molecular microbiology*, 2020; 113(3): 570–579. <https://doi.org/10.1111/mmi.14454>
8. Barbosa, A. A. T., Mantovani, H. C. y Jain, S.: Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Critical reviews in biotechnology*, 2017; 37(7): 852–864. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1262323>
9. Barbuddhe, S. B. y Chakraborty, T.: *Listeria* as an enteroinvasive gastrointestinal pathogen. *Current topics in microbiology and immunology*, 2009; 337: 173–195. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01846-6_6
10. Becattini, S., Littmann, E. R., Carter, R. A., Kim, S. G., Morjaria, S. M., Ling, L., Gyaltsen, Y., Fontana, E., Taur, Y., Leiner, I. M. y Pamer, E. G.: Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *The Journal of experimental medicine*, 2017; 214(7), 1973–1989. <https://doi.org/10.1084/jem.20170495>
11. Bécavin, C., Bouchier, C., Lechat, P., Archambaud, C., Creno, S., Gouin, E., Wu, Z., Kühbacher, A., Brisse, S., Pucciarelli, M. G., García-del Portillo, F., Hain, T., Portnoy, D. A., Chakraborty, T., Lecuit, M., Pizarro-Cerdá, J., Moszer, I., Bierne, H., y Cossart, P.: Comparison of widely used *Listeria monocytogenes* strains EGD, 10403S, and EGD-e highlights genomic variations underlying

- differences in pathogenicity. *mBio*, 2014; 5(2): e00969-14.
<https://doi.org/10.1128/mBio.00969-14>
12. Bierhoff, M., Krutwagen, E., van Bommel, E. F. y Verburgh, C. A.: Listeria peritonitis in patients on peritoneal dialysis: two cases and a review of the literature. *The Netherlands journal of medicine*, 2011; 69(10): 461–464.
<https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1114>
13. Bierne, H., Milohanic, E. y Kortebe, M.: To Be Cytosolic or Vacuolar: The double life of *Listeria monocytogenes*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2018; 8: 136. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00136>
14. Blériot, C., Dupuis, T., Jouvion, G., Eberl, G., Disson, O. y Lecuit, M.: Liver-resident macrophage necroptosis orchestrates type 1 microbicidal inflammation and type-2-mediated tissue repair during bacterial infection. *Immunity*, 2015; 42(1): 145–158. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.020>
15. Boujemaa-Paterski, R., Gouin, E., Hansen, G., Samarin, S., Le Clainche, C., Didry, D., Dehoux, P., Cossart, P., Kocks, C., Carlier, M. F. y Pantaloni, D.: Listeria protein ActA mimics WASp family proteins: it activates filament barbed end branching by Arp2/3 complex. *Biochemistry*, 2001; 40(38): 11390–11404.
<https://doi.org/10.1021/bi010486b>
16. Brouwer, M. C., van de Beek, D., Heckenberg, S. G., Spanjaard, L. y de Gans, J.: Community-acquired *Listeria monocytogenes* meningitis in adults. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2006; 43(10): 1233–1238. <https://doi.org/10.1086/508462>

17. Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M. M. Hayman, M. M., Jackson, T. C., Whitins, R. C.: A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments" [Food Control 75 (May 2017) 1–13], *Food Control*, 2017; 88: 236. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.004>
18. Bucur, F. I., Grigore-Gurgu, L., Crauwels, P., Riedel, C. U. y Nicolau, A. I.: Resistance of *Listeria monocytogenes* to stress conditions encountered in food and food processing environments. *Frontiers in microbiology*, 2018; 9: 2700. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02700>
19. Buncic, S., Avery, S. M., Rocourt, J. y Dimitrijevic, M.: Can food-related environmental factors induce different behaviour in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*?. *International journal of food microbiology*, 2001; 65(3): 201–212. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00524-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00524-9)
20. Burall, L. S., Grim, C. J., Mammel, M. K. y Datta, A. R.: A comprehensive evaluation of the genetic relatedness of *Listeria monocytogenes* serotype 4b variant strains. *Frontiers in public health*, 2017; 5: 241. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00241>
21. Burgess, C. M., Gianotti, A., Gruzdev, N., Holah, J., Knøchel, S., Lehner, A., Margas, E., Esser, S. S., Sela Saldinger, S. y Tresse, O.: The response of foodborne pathogens to osmotic and desiccation stresses in the food chain. *International journal of food microbiology*, 2016; 221: 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.014>

22. Burke, T. P., Loukitcheva, A., Zemansky, J., Wheeler, R., Boneca, I. G. y Portnoy, D. A.: *Listeria monocytogenes* is resistant to lysozyme through the regulation, not the acquisition, of cell wall-modifying enzymes. *Journal of bacteriology*, 2014; 196(21): 3756–3767. <https://doi.org/10.1128/JB.02053-14>
23. Castañeda-Ruelas, G., Eslava-Campos, C., Castro-Del Campo, N., León-Félix, J. y Chaidez-Quiroz, C.: Listeriosis en México: importancia clínica y epidemiológica. *Salud pública de México*, 2014; 56(6): 654–659.
24. Castro, H., Jaakkonen, A., Hakkinen, M., Korkeala, H. y Lindström, M.: Occurrence, persistence, and contamination routes of *Listeria monocytogenes* genotypes on three finnish dairy cattle farms: A longitudinal study. *Applied and environmental microbiology*, 2018; 84(4): e02000-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02000-17>
25. Chan, Y. C., Boor, K. J. y Wiedmann, M.: SigmaB-dependent and sigmaB-independent mechanisms contribute to transcription of *Listeria monocytogenes* cold stress genes during cold shock and cold growth. *Applied and environmental microbiology*, 2007; 73(19): 6019–6029. <https://doi.org/10.1128/AEM.00714-07>
26. Chan, Y. C., Hu, Y., Chaturongakul, S., Files, K. D., Bowen, B. M., Boor, K. J. y Wiedmann, M.: Contributions of two-component regulatory systems, alternative sigma factors, and negative regulators to *Listeria monocytogenes* cold adaptation and cold growth. *Journal of food protection*, 2008; 71(2): 420–425. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.2.420>
27. Chen, J., Cheng, C., Xia, Y., Zhao, H., Fang, C., Shan, Y., Wu, B. y Fang, W.: Lmo0036, an ornithine and putrescine carbamoyltransferase in *Listeria*

- monocytogenes*, participates in arginine deiminase and agmatine deiminase pathways and mediates acid tolerance. *Microbiology*, 2011; 157(11): 3150–3161. <https://doi.org/10.1099/mic.0.049619-0>
28. Cheng, C., Dong, Z., Han, X., Sun, J., Wang, H., Jiang, L., Yang, Y., Ma, T., Chen, Z., Yu, J., Fang, W. y Song, H.: *Listeria monocytogenes* 10403S arginine repressor ArgR finely tunes arginine metabolism regulation under acidic conditions. *Frontiers in microbiology*, 2017; 8: 145. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00145>
29. Chlebicz, A. y Śliżewska, K.: Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as zoonotic foodborne diseases: A Review. *International journal of environmental research and public health*, 2018; 15(5): 863. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>
30. Cieplak, T., Soffer, N., Sulakvelidze, A. y Nielsen, D. S.: A bacteriophage cocktail targeting *Escherichia coli* reduces *E. coli* in simulated gut conditions, while preserving a non-targeted representative commensal normal microbiota. *Gut microbes*, 2018; 9(5), 391–399. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1447291>
31. Cortes, B. W., Naditz, A. L., Anast, J. M. y Schmitz-Esser, S.: Transcriptome sequencing of *Listeria monocytogenes* reveals major gene expression changes in response to lactic acid stress exposure but a less pronounced response to oxidative stress. *Frontiers in microbiology*, 2020; 10: 3110. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03110>

32. Cremers, C. M., Knoefler, D., Vitvitsky, V., Banerjee, R. y Jakob, U.: Bile salts act as effective protein-unfolding agents and instigators of disulfide stress in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014; 111(16): E1610–E1619.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1401941111>
33. Czuczman, M. A., Fattouh, R., van Rijn, J. M., Canadien, V., Osborne, S., Muise, A. M., Kuchroo, V. K., Higgins, D. E. y Brumell, J. H.: *Listeria monocytogenes* exploits efferocytosis to promote cell-to-cell spread. *Nature*, 2014; 509(7499): 230–234. <https://doi.org/10.1038/nature13168>
34. De la Fuente, S, Díaz, A. y Calderón, J.: Infecciones por *Listeria*, *Corynebacterium* y *Bacillus*. *Medicine*, 2022; 13 (50): 2927-2936.
<https://www.binasss.sa.cr/medint/16.pdf>
35. Disson, O. y Lecuit, M.: Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes*. *Virulence*, 2012; 3(2): 213–221.
<https://doi.org/10.4161/viru.19586>
36. Disson, O., Moura, A. y Lecuit, M.: Making sense of the biodiversity and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Trends in microbiology*, 2021; 29(9): 811–822. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.008>
37. Domingo-Calap, P. y Delgado-Martínez, J.: Bacteriophages: Protagonists of a post-antibiotic era. *Antibiotics*, 2018; 7(3): 66.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics7030066>

38. D'Orazio S. E. F.: Innate and Adaptive Immune Responses during *Listeria monocytogenes* Infection. *Microbiology spectrum*, 2019; 7(3)
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0065-2019>
39. Dorey, A. L., Lee, B. H., Rotter, B. y O'Byrne, C. P.: Blue light sensing in *Listeria monocytogenes* is temperature-dependent and the transcriptional response to it is predominantly SigB-dependent. *Frontiers in microbiology*, 2019; 10: 2497.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02497>
40. Dowd, G. C., Joyce, S. A., Hill, C. y Gahan, C. G.: Investigation of the mechanisms by which *Listeria monocytogenes* grows in porcine gallbladder bile. *Infection and immunity*, 2011; 79(1): 369–379.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00330-10>
41. Dreyer, M., Aguilar-Bultet, L., Rupp, S., Guldemann, C., Stephan, R., Schock, A., Otter, A., Schüpbach, G., Brisse, S., Lecuit, M., Frey, J. y Oevermann, A.: *Listeria monocytogenes* sequence type 1 is predominant in ruminant rhombencephalitis. *Scientific reports*, 2016; 6: 36419.
<https://doi.org/10.1038/srep36419>
42. Drolia, R. y Bhunia, A. K.: Crossing the Intestinal barrier via *Listeria* adhesion protein and internalin A. *Trends in microbiology*, 2019; 27(5): 408–425.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.12.007>
43. Drolia, R., Tenguria, S., Durkes, A. C., Turner, J. R. y Bhunia, A. K.: *Listeria* adhesion protein induces intestinal epithelial barrier dysfunction for bacterial translocation. *Cell host & microbe*, 2018; 23(4): 470–484.e7.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.03.004>

44. Duan, Y., Young, R. y Schnabl, B.: Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 2022; 19(2): 135–144. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00536-z>
45. Dussurget, O., Cabanes, D., Dehoux, P., Lecuit, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Cossart, P. y European Listeria Genome Consortium: *Listeria monocytogenes* bile salt hydrolase is a PrfA-regulated virulence factor involved in the intestinal and hepatic phases of listeriosis. *Molecular microbiology*, 2002; 45(4), 1095–1106. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03080.x>
46. European Commission.: Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Off. J. Eur. Union, 2005; 50: 1-26. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj>
47. Fagerlund, A., Idland, L., Heir, E., Møretrø, T., Aspöholm, M., Lindbäck, T. y Langsrud, S.: Whole-Genome Sequencing Analysis of *Listeria monocytogenes* from rural, urban, and farm environments in Norway: genetic diversity, persistence, and relation to clinical and food isolates. *Applied and environmental microbiology*, 2022; 88(6): e0213621. <https://doi.org/10.1128/aem.02136-21>
48. Faralla, C., Bastounis, E. E., Ortega, F. E., Light, S. H., Rizzuto, G., Gao, L., Marciano, D. K., Nocadello, S., Anderson, W. F., Robbins, J. R., Theriot, J. A. y Bakardjiev, A. I.: *Listeria monocytogenes* InIP interacts with afadin and facilitates basement membrane crossing. *PLoS pathogens*, 2018; 14(5): e1007094. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007094>

49. Federici, S., Nobs, S. P. y Elinav, E.: Phages and their potential to modulate the microbiome and immunity. *Cellular & molecular immunology*, 2021; 18(4): 889–904. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00532-4>
50. Gaballa, A., Guariglia-Oropeza, V., Wiedmann, M. y Boor, K. J.: Cross talk between SigB and PrfA in *Listeria monocytogenes* facilitates transitions between extra- and intracellular environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 2020; 83(4): e00034-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00034-19>
51. Garner, M. R., Njaa, B. L., Wiedmann, M. y Boor, K. J.: Sigma B contributes to *Listeria monocytogenes* gastrointestinal infection but not to systemic spread in the guinea pig infection model. *Infection and immunity*, 2006; 74(2): 876–886. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.2.876-886.2006>
52. Golmoradi Zadeh, R., Asgharzadeh, S., Darbandi, A., Aliramezani, A. y Masjedian Jazi, F.: Characterization of bacteriocins produced by *Lactobacillus* species against adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* isolated from different samples. *Microbial pathogenesis*, 2022; 162: 105307. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105307>
53. Gottesman S.: Trouble is coming: Signaling pathways that regulate general stress responses in bacteria. *The Journal of biological chemistry*, 2019; 294(31): 11685–11700. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.005593>
54. Gouin, E., Quereda, J. J. y Cossart, P.: Intracellular bacteria find the right motion. *Cell*, 2015; 161(2): 199–200. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.035>
55. Gray, M. J., Zadoks, R. N., Fortes, E. D., Dogan, B., Cai, S., Chen, Y., Scott, V. N., Gombas, D. E., Boor, K. J. y Wiedmann, M.: *Listeria monocytogenes* isolates

- from foods and humans form distinct but overlapping populations. *Applied and environmental microbiology*, 2004; 70(10): 5833–5841. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.5833-5841.2004>
56. Grif, K., Patscheider, G., Dierich, M. P. y Allerberger, F.: Incidence of fecal carriage of *Listeria monocytogenes* in three healthy volunteers: a one-year prospective stool survey. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 2003; 22(1), 16–20. <https://doi.org/10.1007/s10096-002-0835-9>
57. Guariglia-Oropeza, V., Orsi, R. H., Guldemann, C., Wiedmann, M. y Boor, K. J.: The *Listeria monocytogenes* bile stimulon under acidic conditions is characterized by strain-specific patterns and the upregulation of motility, cell wall modification functions, and the PrfA regulon. *Frontiers in microbiology*, 2018; 9: 120. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00120>
58. Guerreiro, D. N., Arcari, T. y O'Byrne, C. P.: The σ_B -mediated general stress response of *Listeria monocytogenes*: Life and death decision making in a pathogen. *Frontiers in microbiology*, 2020; 11: 1505. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01505>
59. Guerreiro, D. N., Boyd, A. y O'Byrne, C. P.: The stressosome is required to transduce low pH signals leading to increased transcription of the amino acid-based acid tolerance mechanisms in *Listeria monocytogenes*. *Access microbiology*, 2022; 4(9): acmi000455. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000455>

60. Hamon, M. A., Ribet, D., Stavru, F. y Cossart, P.: Listeriolysin O: the Swiss army knife of *Listeria*. *Trends in microbiology*, 2012; 20(8): 360–368. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.04.006>
61. Harada, L. K., Silva, E. C., Campos, W. F., Del Fiol, F. S., Vila, M., Dąbrowska, K., Krylov, V. N. y Balcão, V. M.: Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. *Microbiological research*, 2018; 212-213: 38–58. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.007>
62. Hasebe, R., Nakao, R., Ohnuma, A., Yamasaki, T., Sawa, H., Takai, S. y Horiuchi, M.: *Listeria monocytogenes* serotype 4b strains replicate in monocytes/macrophages more than the other serotypes. *The Journal of veterinary medical science*, 2017; 79(6), 962–969. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0575>
63. He, K., Xin, Y. P., Shan, Y., Zhang, X., Song, H. H. y Fang, W. H.: Phosphorylation residue T175 in RsbR protein is required for efficient induction of sigma B factor and survival of *Listeria monocytogenes* under acidic stress. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 2019; 20(8): 660–669. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1800551>
64. Hernández, A y Payeras, A.: What is new in Listeriosis? *BioMed Res. Int.*, 2014; 2014: 358051. <https://doi.org/10.1155/2014/358051>
65. Hingston, P., Chen, J., Allen, K., Truelstrup Hansen, L. y Wang, S.: Strand specific RNA-sequencing and membrane lipid profiling reveals growth phase-dependent cold stress response mechanisms in *Listeria monocytogenes*. *PLoS one*, 2017; 12(6): e0180123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180123>

66. Horlbog, J. A., Kent, D., Stephan, R. y Guldimann, C.: Surviving host - and food relevant stresses: phenotype of *L. monocytogenes* strains isolated from food and clinical sources. *Scientific reports*, 2018; 8(1), 12931. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30723-z>
67. Horlbog, J. A., Stevens, M. J. A., Stephan, R. y Guldimann, C.: Global transcriptional response of three highly acid-tolerant field strains of *Listeria monocytogenes* to HCl stress. *Microorganisms*, 2019; 7(10): 455. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms7100455>
68. Ireton, K., Mortuza, R., Gyanwali, G. C., Gianfelice, A. y Hussain, M.: Role of internalin proteins in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. *Molecular microbiology*, 2021; 116(6): 1407–1419. <https://doi.org/10.1111/mmi.14836>
69. Jackson, B. R., Tarr, C., Strain, E., Jackson, K. A., Conrad, A., Carleton, H., Katz, L. S., Stroika, S., Gould, L. H., Mody, R. K., Silk, B. J., Beal, J., Chen, Y., Timme, R., Doyle, M., Fields, A., Wise, M., Tillman, G., Defibaugh-Chavez, S., Kucerova, Z, Sabol, A., Roacher, K., Trees, E., Simmons, M., Wasilenko, J., Kubota, K., Pouseele, H., Klimke, W., Besser, J., Brown, E., Allard, M. y Gerner-Smidt, P.: Implementation of nationwide real-time whole-genome sequencing to enhance listeriosis outbreak detection and investigation. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2016; 63(3): 380–386. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw242>
70. Jacquet, C., Doumith, M., Gordon, J.I., Martin, P.M., Cossart, P. y Lecuit, M.: A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne *Listeria*

monocytogenes. *The Journal of infectious diseases*, 2004; 189(11): 2094–2100.

<https://doi.org/10.1086/420853>

71. Jakobsen, R. R., Trinh, J. T., Bomholtz, L., Brok-Lauridsen, S. K., Sulakvelidze, A. y Nielsen, D. S.: bacteriophage cocktail significantly reduces *Listeria monocytogenes* without deleterious impact on the commensal gut microbiota under simulated gastrointestinal conditions. *Viruses*, 2022; 14(2): 190.
<https://doi.org/10.3390/v14020190>

72. Johansson, J. y Freitag, N. E.: Regulation of *Listeria monocytogenes* virulence. *Microbiology spectrum*, 2019; 7(4): 10.1128/microbiolspec.GPP3-0064-2019.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0064-2019>

73. Jordan, K. y McAuliffe, O.: *Listeria monocytogenes* in Foods. *Advances in food and nutrition research*, 2018; 86: 181–213.
<https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.02.006>

74. Karatzas, K. A., Suur, L. y O'Byrne, C. P.: Characterization of the intracellular glutamate decarboxylase system: analysis of its function, transcription, and role in the acid resistance of various strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and environmental microbiology*, 2012; 78(10): 3571–3579.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00227-12>

75. Khsim, I., Mohanaraj-Anton, A., Horte, I. B., Lamont, R. F., Khan, K. S., Jørgensen, J. S. y Amezcua-Prieto, C.: Listeriosis in pregnancy: An umbrella review of maternal exposure, treatment, and neonatal complications. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynecology*, 2022; 129(9): 1427–1433.
<https://doi.org/10.1111/1471-0528.17073>

76. Kim, S. W., Haendiges, J., Keller, E. N., Myers, R., Kim, A., Lombard, J. E., Karns, J. S., Van Kessel, J. A. S. y Haley, B. J.: Genetic diversity and virulence profiles of *Listeria monocytogenes* recovered from bulk tank milk, milk filters, and milking equipment from dairies in the United States (2002 to 2014). *PloS one*, 2018; 13(5): e0197053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197053>
77. Koomen, J., Huijboom, L., Ma, X., Tempelaars, M. H., Boeren, S., Zwietering, M. H., den Besten, H. M. W. y Abee, T.: Amino acid substitutions in ribosomal protein RpsU enable switching between high fitness and multiple-stress resistance in *Listeria monocytogenes*. *International journal of food microbiology*, 2021; 351: 109269. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109269>
78. Kurpas, M., Wiczorek, K. y Osek, J.: Ready-to-eat meat products as a source of *Listeria monocytogenes*. *Journal of veterinary research*, 2018; 62(1): 49–55. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2018-0007>
79. Kvistholm Jensen, A., Simonsen, J. y Ethelberg, S.: Use of proton pump inhibitors and the risk of listeriosis: A nationwide registry-based case-control study. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2017; 64(7): 845–851. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw860>
80. Lakicevic, B. Z., Den Besten, H. M. W. y De Biase, D.: Landscape of stress response and virulence genes among *Listeria monocytogenes* strains. *Frontiers in microbiology*, 2022; 12: 738470. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.738470>
81. Lecuit M.: *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cellular microbiology*, 2020; 22(4): e13186. <https://doi.org/10.1111/cmi.13186>

82. Lee S.: Bacteriocins of *Listeria monocytogenes* and Their Potential as a virulence factor. *Toxins*, 2020; 12(2): 103. <https://doi.org/10.3390/toxins12020103>
83. Ling, H.; Lou, X.; Luo, Q.; He, Z.; Sun, M y Sun, J.: Recent advances in bacteriophage-based therapeutics: Insight into the post-antibiotic era. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.05.007>
84. Lourenco, A., Linke, K., Wagner, M. y Stessl, B.; The saprophytic lifestyle of *Listeria monocytogenes* and entry into the food-processing environment. *Frontiers in microbiology*, 2022; 13: 789801. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.789801>
85. Martínez-Suárez, J. V., Ortiz, S. y López-Alonso, V.: Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Frontiers in microbiology*, 2016; 7: 638. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00638>
86. Martinsen, T. C., Fossmark, R. y Waldum, H. L.: The phylogeny and biological function of gastric juice-microbiological consequences of removing gastric acid. *International journal of molecular sciences*, 2019; 20(23): 6031. <https://doi.org/10.3390/ijms20236031>
87. Matereke, L. T. y Okoh, A. I.: *Listeria monocytogenes* virulence, antimicrobial resistance, and environmental persistence: A Review. *Pathogens*, 2020; 9(7): 528. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070528>
88. Matle, I., Mbatha, K. R. y Madoroba, E.: A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial

- resistance, and diagnosis. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 2020; 87(1): e1–e20. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v87i1.1869>
89. Maurella, C., Gallina, S., Ru, G., Adriano, D., Bellio, A., Bianchi, D. M., Chiavacci, L., Crescio, M. I., Croce, M., D'Errico, V., Dupont, M. F., Marra, A., Natangelo, U., Pomilio, F., Romano, A., Stanzione, S., Zaccaria, T., Zuccon, F., Caramelli, M. y Decastelli, L.: Outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* 1/2a in sliced cold beef ham, Italy, May 2016. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 2018; 23(10): 17-00155. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.10.17-00155>
90. Maury, M. M., Tsai, Y. H., Charlier, C., Touchon, M., Chenal-Francisque, V., Leclercq, A., Criscuolo, A., Gaultier, C., Roussel, S., Brisabois, A., Disson, O., Rocha, E. P. C., Brisse, S. y Lecuit, M.: Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nature genetics*, 2016; 48(3): 308–313. <https://doi.org/10.1038/ng.3501>
91. Metselaar, K. I., den Besten, H. M., Boekhorst, J., van Hijum, S. A., Zwietering, M. H. y Abee, T.: Diversity of acid stress resistant variants of *Listeria monocytogenes* and the potential role of ribosomal protein S21 encoded by rpsU. *Frontiers in microbiology*, 2015; 6: 422. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00422>
92. Mitchell, G., Ge, L., Huang, Q., Chen, C., Kianian, S., Roberts, M. F., Schekman, R. y Portnoy, D. A.: Avoidance of autophagy mediated by PlcA or ActA is

- required for *Listeria monocytogenes* growth in macrophages. *Infection and immunity*, 2015; 83(5): 2175–2184. <https://doi.org/10.1128/IAI.00110-15>
93. Moura, A., Criscuolo, A., Pouseele, H., Maury, M. M., Leclercq, A., Tarr, C., Björkman, J. T., Dallman, T., Reimer, A., Enouf, V., Larssonneur, E., Carleton, H., Bracq-Dieye, H., Katz, L. S., Jones, L., Touchon, M., Tourdjman, M., Walker, M., Stroika, S., Cantinelli, T., Chenal-Francisque, V., Kucerova, Z., Rocha, E.P.C, Nandon, C., Grant, K., Nielsen, E.M., Pot, B., Gerner-Smidt, P., Lecuit, M. y Brisse, S: Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nature microbiology*, 2016; 2: 16185. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.185>
94. Muchaamba, F., Eshwar, A. K., Stevens, M. J. A., Stephan, R. y Tasara, T.: Different shades of *Listeria monocytogenes*: Strain, serotype, and lineage-based variability in virulence and stress tolerance profiles. *Frontiers in microbiology*, 2022; 12: 792162. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.792162>
95. Muchaamba, F., Stephan, R. y Tasara, T.; *Listeria monocytogenes* Cold Shock Proteins: Small Proteins with A Huge Impact. *Microorganisms*, 2021; 9(5): 1061. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms9051061>
96. NicAogáin, K. y O'Byrne, C. P.: The role of stress and stress adaptations in determining the fate of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* in the food chain. *Frontiers in microbiology*, 2016; 7: 1865. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01865>
97. Nikitas, G., Deschamps, C., Disson, O., Niaux, T., Cossart, P. y Lecuit, M.: Transcytosis of *Listeria monocytogenes* across the intestinal barrier upon

- specific targeting of goblet cell accessible E-cadherin. *The Journal of experimental medicine*, 2011; 208(11): 2263–2277.
<https://doi.org/10.1084/jem.20110560>
- 98.Orsi, R. H., den Bakker, H. C. y Wiedmann, M.: *Listeria monocytogenes* lineages. Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *International journal of medical microbiology*, 2011; 301(2): 79–96.
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.05.002>
- 99.Osek, J., Lachtara, B. y Wieczorek, K.: *Listeria monocytogenes* - How this pathogen survives in food-production environments?. *Frontiers in microbiology*, 2022; 13: 866462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462>
- 100.Pagliano, P., Arslan, F. y Ascione, T.: Epidemiology and treatment of the commonest form of listeriosis: meningitis and bacteraemia. *Le infezioni in medicina*, 2017; 25(3): 210–216.
- 101.Painset, A., Björkman, J. T., Kiil, K., Guillier, L., Mariet, J. F., Félix, B., Amar, C., Rotariu, O., Roussel, S., Perez-Reche, F., Brisse, S., Moura, A., Lecuit, M., Forbes, K., Strachan, N., Grant, K., Møller-Nielsen, E. y Dallman, T. J.: LiSEQ - whole-genome sequencing of a cross-sectional survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and human clinical cases in Europe. *Microbial genomics*, 2019; 5(2): e000257.
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000257>
- 102.Parsons, C., Lee, S. y Kathariou, S.: Heavy metal resistance determinants of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Genes*, 2018; 10(1): 11.
<https://doi.org/10.3390/genes10010011>

103. Peron-Cane, C., Fernandez, J. C., Leblanc, J., Wingertsmann, L., Gautier, A., Desprat, N. y Lebreton, A.: Fluorescent secreted bacterial effectors reveal active intravacuolar proliferation of *Listeria monocytogenes* in epithelial cells. *PLoS pathogens*, 2020; 16(10): e1009001.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009001>
104. Peterson, B. N., Portman, J. L., Feng, Y., Wang, J. y Portnoy, D. A.: Secondary structure of the mRNA encoding listeriolysin O is essential to establish the replicative niche of *L. monocytogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020; 117(38): 23774–23781.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2004129117>
105. Petrišič, N., Kozorog, M., Aden, S., Podobnik, M. y Anderluh, G.: The molecular mechanisms of listeriolysin O-induced lipid membrane damage. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*, 2021; 1863(7): 183604.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183604>
106. Phages for Global Health: Phages, 2022.
<https://www.phagesforglobalhealth.org/>
107. Phelps, C. C., Vadia, S., Boyaka, P. N., Varikuti, S., Attia, Z., Dubey, P., Satoskar, A. R., Tweten, R. y Seveau, S.: A listeriolysin O subunit vaccine is protective against *Listeria monocytogenes*. *Vaccine*, 2020; 38(36): 5803–5813.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.06.049>
108. Pizarro-Cerdá, J. y Cossart, P.: *Listeria monocytogenes*: cell biology of invasion and intracellular growth. *Microbiology spectrum*, 2018; 6(6).
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0013-2018>

109. Pöntinen, A., Markkula, A., Lindström, M. y Korkeala, H.: Two-component-system histidine kinases involved in growth of *Listeria monocytogenes* EGD-e at low temperatures. *Applied and environmental microbiology*, 2015; 81(12): 3994–4004. <https://doi.org/10.1128/AEM.00626-15>
110. Qiu, Z., Khairallah, C. y Sheridan, B. S.: *Listeria monocytogenes*: A model pathogen continues to refine our knowledge of the CD8 T cell response. *Pathogens*, 2018; 7(2), 55. <https://doi.org/10.3390/pathogens7020055>
111. Quereda, J. J., Andersson, C., Cossart, P., Johansson, J., y Pizarro-Cerdá, J.: Role in virulence of phospholipases, listeriolysin O and listeriolysin S from epidemic *Listeria monocytogenes* using the chicken embryo infection model. *Veterinary research*, 2018; 49(1): 13. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0496-4>
112. Quereda, J. J., García-Del Portillo, F. y Pucciarelli, M. G.: *Listeria monocytogenes* remodels the cell surface in the blood-stage. *Environmental microbiology reports*, 2016; 8(5): 641–648. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12416>
113. Quereda, J. J., Morel, C., Lopez-Montero, N., Ziveri, J., Rolland, S., Grenier, T., Aulner, N., Danckaert, A., Charbit, A., Enninga, J., Cossart, P. y Pizarro-Cerdá, J.: A Role for Taok2 in *Listeria monocytogenes* Vacuolar Escape. *The Journal of infectious diseases*, 2022; 225(6): 1005–1010. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa367>
114. Rabinovich, L., Sigal, N., Borovok, I., Nir-Paz, R. y Herskovits, A. A.: Prophage excision activates *Listeria* competence genes that promote phagosomal escape

- and virulence. *Cell*, 2012; 150(4): 792–802.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.036>
115. Radoshevich, L. y Cossart, P.: *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nature reviews. Microbiology*, 2018; 16(1): 32–46. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.126>
116. Radzikowski, J. L., Schramke, H. y Heinemann, M.: Bacterial persistence from a system-level perspective. *Current opinion in biotechnology*, 2017; 46: 98–105.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.02.012>
117. Ragon, M., Wirth, T., Hollandt, F., Lavenir, R., Lecuit, M., Le Monnier, A. y Brisse, S.: A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution. *PLoS pathogens*, 2008; 4(9): e1000146. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000146>
118. Rahimi-Midani, A., Lee, S. W. y Choi, T. J.: Potential solutions using bacteriophages against antimicrobial resistant bacteria. *Antibiotics*, 2021; 10(12): 1496. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121496>
119. Rivera-Izquierdo, M., Galicia-García, M. D., Láinez-Ramos-Bossini, A. J., Redruello-Guerrero, P. y Fernández-Martínez, N. F.: Risk factors associated with early mortality after recovery from severe listeriosis: a multicentre 17-year longitudinal study. *Infection*, 2023; 51(1): 181–191.
<https://doi.org/10.1007/s15010-022-01872-1>
120. Rodríguez-Auad, Juan Pablo.: Overview of *Listeria monocytogenes* infection. *Revista chilena de infectología*, 2018; 35(6): 649-657.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182018000600649>

121. Rodríguez-López, P., Rodríguez-Herrera, J. J., Vázquez-Sánchez, D. y López Cabo, M.: Current knowledge on *Listeria monocytogenes* biofilms in food-related environments: incidence, resistance to biocides, ecology, and biocontrol. *Foods*, 2018; 7(6), 85. <https://doi.org/10.3390/foods7060085>
122. Rogalla, D. y Bomar, P. A.: *Listeria monocytogenes*. *StatPearls*, 2022; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534838/>
123. Rolhion, N. y Chassaing, B.: When pathogenic bacteria meet the intestinal microbiota. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 2016; 371(1707): 20150504. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0504>
124. Rolhion, N., Chassaing, B., Nahori, M. A., de Bodt, J., Moura, A., Lecuit, M., Dussurget, O., Bérard, M., Marzorati, M., Fehlner-Peach, H., Littman, D. R., Gewirtz, A. T., Van de Wiele, T. y Cossart, P.: A *Listeria monocytogenes* bacteriocin can target the commensal *Prevotella copri* and modulate intestinal infection. *Cell host & microbe*, 2019; 26(5): 691–701.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.10.016>
125. Romero-Calle, D., Guimarães Benevides, R., Góes-Neto, A. y Billington, C.: Bacteriophages as alternatives to antibiotics in clinical care. *Antibiotics*, 2021; 8(3): 138. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030138>
126. Ryan, S., Begley, M., Gahan, C. G. y Hill, C.: Molecular characterization of the arginine deiminase system in *Listeria monocytogenes*: regulation and role in acid tolerance. *Environmental microbiology*, 2009; 11(2): 432–445. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01782.x>

127. Schlech W. F.: Epidemiology and clinical manifestations of *Listeria monocytogenes* infection. *Microbiology spectrum*, 2019; 7(3).
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0014-2018>
128. Segall, A. M., Roach, D. R. y Strathdee, S. A.: Stronger together? Perspectives on phage-antibiotic synergy in clinical applications of phage therapy. *Current opinion in microbiology*, 2019; 51: 46–50.
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.03.005>
129. Shamloo, E., Hosseini, H., Abdi Moghadam, Z., Halberg Larsen, M., Haslberger, A. y Alebouyeh, M.: Importance of *Listeria monocytogenes* in food safety: a review of its prevalence, detection, and antibiotic resistance. *Iranian journal of veterinary research*, 2019; 20(4): 241–254.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32042288/>
130. Sibanda, T. y Buys, E. M.: *Listeria monocytogenes* pathogenesis: The role of stress adaptation. *Microorganisms*, 2022; 10(8): 1522.
<https://doi.org/10.3390/Microorganisms10081522>
131. T. Abedon, S.: Bacteriophage clinical use as antibacterial “drugs”: Utility and precedent. *Microbiology Spectrum*, 2017; 5(4).
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0003-2016>
132. Tablang M. V.: Spontaneous bacterial peritonitis caused by infection with *Listeria monocytogenes*. *Case reports in gastroenterology*, 2008; 2(3): 321–325.
<https://doi.org/10.1159/000151579>
133. Travier, L., Guadagnini, S., Gouin, E., Dufour, A., Chenal-Francisque, V., Cossart, P., Olivo-Marin, J. C., Ghigo, J. M., Disson, O. y Lecuit, M.: ActA

- promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization, and carriage. *PLoS pathogens*, 2013; 9(1): e1003131. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003131>
134. Unrath, N., McCabe, E., Macori, G. y Fanning, S.: Application of whole genome sequencing to aid in deciphering the persistence potential of *Listeria monocytogenes* in food production environments. *Microorganisms*, 2021; 9(9): 1856. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms9091856>
135. Van der Voort, S., Branger, J. y Gruteke, P.: Good clinical outcome in a case of *Listeria*-associated multiple liver abscesses and clinical hepatitis. *The Netherlands journal of medicine*, 2019; 77(8): 293–296. <https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=2149>
136. Wang, Z., Tao, X., Liu, S., Zhao, Y. y Yang, X.: An update review on *Listeria* infection in pregnancy. *Infection and drug resistance*, 2021; 14: 1967–1978. <https://doi.org/10.2147/IDR.S313675>
137. Wemekamp-Kamphuis, H. H., Wouters, J. A., de Leeuw, P. P., Hain, T., Chakraborty, T. y Abee, T.: Identification of sigma factor sigma B-controlled genes and their impact on acid stress, high hydrostatic pressure, and freeze survival in *Listeria monocytogenes* EGD-e. *Applied and environmental microbiology*, 2004; 70(6): 3457–3466. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3457-3466.2004>
138. Wiktorczyk-Kapischke, N., Skowron, K., Grudlewska-Buda, K., Wałęcka-Zacharska, E., Korkus, J. y Gospodarek-Komkowska, E.: Adaptive Response of *Listeria monocytogenes* to the Stress Factors in the Food Processing

- Environment. *Frontiers in microbiology*, 2021; 12: 710085.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.710085>
139. Yu, T., Jiang, X., Zhang, Y., Ji, S., Gao, W. y Shi, L.: Effect of benzalkonium chloride adaptation on sensitivity to antimicrobial agents and tolerance to environmental stresses in *Listeria monocytogenes*. *Frontiers in microbiology*, 2018; 9: 2906. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02906>
140. Zhang, C., Zhang, M., Ju, J., Nietfeldt, J., Wise, J., Terry, P. M., Olson, M., Kachman, S. D., Wiedmann, M., Samadpour, M. y Benson, A. K.; Genome diversification in phylogenetic lineages I and II of *Listeria monocytogenes*: identification of segments unique to lineage II populations. *Journal of bacteriology*, 2003; 185(18): 5573–5584.
<https://doi.org/10.1128/JB.185.18.5573-5584.2003>
141. Zhang, Q., Feng, Y., Deng, L., Feng, F., Wang, L., Zhou, Q. y Luo, Q.: SigB plays a major role in *Listeria monocytogenes* tolerance to bile stress. *International journal of food microbiology*, 2011; 145(1): 238–243.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.028>
142. Zhu, Q., Gooneratne, R. y Hussain, M. A.: *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence, and contamination levels. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2017; 6(3): 21. <https://doi.org/10.3390/foods6030021>