

# Microbiología Aplicada a la Producción Animal

(Segunda Edición)

Henry Armando Jurado Gámez  
Ana Julia Mallama Goyes  
Javier Andrés Martínez Benavides



# Editorial

Universidad de Nariño

# **Microbiología Aplicada a la Producción Animal**

**(SEGUNDA EDICIÓN)**

# **Microbiología Aplicada a la Producción Animal**

**(SEGUNDA EDICIÓN)**

**Henry Jurado Gámez  
Ana Julia Mallama Goyes  
Javier Andrés Martínez Benavides**



**Editorial**  
Universidad de **Nariño**



Jurado Gámez, Henry Armando

Microbiología aplicada a la producción animal / Henry Armando Jurado Gámez, Ana Julia Mallama Goyes, Javier Andrés Martínez Benavides. -- 2ª. ed. -- San Juan de Pasto : Editorial Universidad de Nariño, 2023

259 p. : il. byn., col., tablas

Incluye bibliografía p. 203-226 y datos de los autores p. 227-230 ISBN: 978-628-7509-80-2 Digital

1. Microbiología de alimentos 2. Producción animal 3. Biotecnología de alimentos 4. Biotecnología industrial 5. Alimentos de origen animal 6. Infección por alimentos I. Mallama Goyes, Ana Julia II. Martínez Benavides, Javier Andrés

664.001 579 J957 - SCDD-Ed. 22



Sección de Biblioteca  
"Alberto Quijano Guerrero"

## **Microbiología Aplicada a la Producción Animal (Segunda Edición)**

©Henry Jurado Gámez

Ana Julia Mallama Goyes

Javier Andrés Martínez Benavides

© Editorial Universidad de Nariño

**ISBN: 978-628-7509-80-1 Digital**

**Corrector de Estilo:** Yeneth Verónica Narváez Rodríguez

**Diagramación y diseño:** Diana Sofía Salas Chalapud

**San Juan de Pasto – Nariño - Colombia**

Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio o con cualquier propósito, sin la autorización escrita de su Autor o de la Editorial Universidad de Nariño.

## ***Agradecimientos***

Los Autores del presente Libro manifiestan sus más sinceros agradecimientos a la Universidad de Nariño por el apoyo y financiación para la publicación de esta obra.

# Índice de Contenidos

<b>Prólogo .....</b>	<b>10</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>11</b>
<b>Capítulo 1. Generalidades.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1 Definición de microbiología.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2 Importancia de la microbiología.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3 Historia de la Microbiología.....</b>	<b>19</b>
1.3.1 Evolución de la Microbiología .....	20
1.3.2 Progreso de los medios de cultivo.....	27
<b>Capítulo 2. Microorganismos .....</b>	<b>32</b>
<b>2.1 Clasificación general de los microorganismos .....</b>	<b>33</b>
<b>2.2 Principales grupos del dominio arqueobacteria .....</b>	<b>38</b>
<b>2.3 Principales grupos del dominio eubacteria .....</b>	<b>39</b>
2.3.1 Proteobacterias .....	39
2.3.2 Cianobacterias (algas verdeazuladas).....	41
2.3.3 Espiroquetas .....	41
2.3.4 Clamidias.....	41
2.3.5 Firmicutes.....	42
<b>2.4 Principales grupos del dominio eucariota .....</b>	<b>43</b>
2.4.1 Protocistas.....	43
2.4.2 Hongos .....	44
<b>2.5 Nomenclatura .....</b>	<b>47</b>
2.5.1 Clasificación de las Bacterias .....	47
2.5.2 Clasificación de los Hongos.....	49
2.5.3 Clasificación de los virus .....	50
<b>2.6 Criterios de Clasificación de las Bacterias.....</b>	<b>51</b>
2.6.1 Fenética o Numérica.....	51
2.6.2 Filogenética .....	52
2.6.3 Por su Forma (Morfología y Agrupación).....	52
2.6.4 Por su Alimentación.....	54
2.6.5 Según su fuente de energía .....	56
2.6.6 Según Tinción de Gram .....	58
2.6.7 Según el Consumo de Oxígeno .....	59
2.6.8 Según su óptimo de temperatura.....	61

2.6.9 Según el pH en que se desarrollan .....	62
2.6.10 Según el Potencial de Óxido-Reducción.....	62
2.6.11 Según la Actividad de Agua (aw).....	63
2.6.12 Según la Tolerancia a la Sal y Azúcar .....	63
2.6.13 Según Métodos Moleculares. ....	64
<b>2.7 Otros organismos de importancia microbiológica .....</b>	<b>65</b>
2.7.1 Virus .....	65
2.7.2 Viroides.....	70
2.7.3 Arns satélites o virusoides .....	72
2.7.4 Priones.....	73
<b>2.8 Los microorganismos como causantes de enfermedades.....</b>	<b>76</b>
2.8.1 Los microorganismos como agentes infecciosos.....	76
2.8.2 Enfermedades causadas por microorganismos.....	79
<b>Capítulo 3. Aplicaciones En El Agroindustria .....</b>	<b>82</b>
<b>3.1 Importancia de los Microorganismos en la Industria .....</b>	<b>83</b>
3.1.1 Clasificación de aplicaciones biotecnológicas.....	84
3.1.2 Microbiología industrial .....	84
3.1.3 Productos microbianos de interés industrial .....	85
3.1.4 Fuentes de aislamiento .....	86
3.1.5 Métodos de conservación. ....	88
3.1.6 Procesos que emplean microorganismos .....	89
3.1.7 Materiales y equipos en el laboratorio.....	91
<b>Capítulo 4. Microbiología Zootecnica .....</b>	<b>99</b>
<b>4.1 Microbiología Intestinal de Especies de Interés Zootécnico.....</b>	<b>100</b>
4.1.1 Relaciones de los hospedadores y los microbios.....	100
4.1.2 Microbiología del tracto digestivo de animales no rumiantes.....	101
4.1.3 Microbiología del tracto gastrointestinal de rumiantes.....	112
<b>4.2 Microbiología de los productos de origen pecuario .....</b>	<b>116</b>
4.2.1 Microbiología de la carne .....	116
4.2.2 Microbiología de la leche cruda.....	123
4.2.3 Microbiología de los huevos.....	131

<b>4.3 Microbiología de alimentos empleados en la alimentación animal.....</b>	<b>134</b>
4.3.1 Microbiología de alimentos balanceados .....	134
4.3.2 Microbiología de los ensilajes .....	141
<b>Capítulo 5. Probióticos y Toxiinfecciones Alimentarias .....</b>	<b>145</b>
<b>5.1 Toxiinfecciones Alimentarias.....</b>	<b>146</b>
5.1.1 Hongos que producen micotoxinas. ....	147
<b>5.2 Principales infecciones alimentarias producidas por microorganismos.....</b>	<b>152</b>
5.2.1 Salmonelosis.....	152
5.2.2 Shigelosis .....	153
5.2.3 Gastroenteritis por Escherichia coli enteropatógena .....	153
5.2.4 Yersinia enterocolitica .....	156
<b>5.3 Probióticos.....</b>	<b>163</b>
5.3.1 Problemas de seguridad y riesgo relacionados con el uso de probióticos .....	170
<b>5.4 Salud Intestinal.....</b>	<b>177</b>
5.4.1 Microbioma.....	177
5.4.2 Respuesta Inmune Mucosa .....	180
5.4.3 Microbios de alimentación directa .....	181
<b>5.5 Microbiología predictiva .....</b>	<b>183</b>
5.5.1 Software para la microbiología predictiva .....	186
<b>Capítulo 6. Normatividad .....</b>	<b>189</b>
<b>6.1 HACCP (Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico).....</b>	<b>190</b>
<b>6.2 Codex Alimentarius .....</b>	<b>191</b>
<b>6.3 BPM (Buenas Prácticas De Manufactura).....</b>	<b>192</b>
<b>6.4 BPL (Buenas Prácticas De Laboratorio).....</b>	<b>196</b>
<b>Referencias Bibliográficas .....</b>	<b>203</b>
<b>Acerca de los Autores .....</b>	<b>227</b>

## Prólogo

El presente libro denominado “Microbiología Aplicada a la Producción Animal (Segunda Edición)”, tiene el objetivo de brindar una gran gama de conceptos y conocimientos constituyéndose un instrumento valioso e importante para la enseñanza de la Microbiología Zootécnica, así como ser útil y de gran ayuda intelectual para profesiones similares que permita a estudiantes, profesionales y productores complementar en gran medida su aprendizaje.

Por estas razones, este libro tiene como propósito ofrecer a los Docentes, estudiantes, productores y profesiones afines un texto de orientación y la planificación en la investigación y enseñanza de la Microbiología Zootécnica, especialmente por su relación con procesos de descomposición, fermentación, como la aplicación de procesos biotecnológicos con el uso de microorganismos, la importancia de los microorganismos tanto patógenos como benéficos análisis en diferentes alimentos, así como la importancia de la salud intestinal y su interacción con estos microorganismos y conceptos de normatividad.

De igual manera, para los estudiantes y profesionales de la Zootecnia y profesiones afines, que trabajan e investigan en la producción y procesamiento e industrialización animal les permitirá realizar con un gran énfasis crítico y constructivo programas de bioseguridad biológica, en donde el trabajo docente, investigativo, de campo y de laboratorio son los microorganismos patógenos y benéficos (como por ejemplo las bacterias probióticas). Así mismo, se incrementará el entendimiento de los procesos de industrialización de productos de origen animal o vegetal y sus derivados, así como, la sanidad en las producciones de interés zootécnico, que tendrá un impacto favorable en la inocuidad alimentaria tanto humana como animal.

# Introducción

El Libro: “Microbiología Aplicada a la Producción Animal” (Segunda Edición), proporciona información valiosa relacionada con los diferentes conceptos que se manejan en la Microbiología Zootécnica. De esta manera, se dan a conocer las diferentes nociones que se deben tener en cuenta con respecto a bases generales de la Microbiología Zootécnica abordada desde la Microbiología General y que profundiza sobre alimentos de origen animal como leche, la carne y huevos, además de forrajes, alimentos balanceados y agua, entre otros. También se destaca la importancia de salud intestinal y su relación con los microorganismos en diferentes especies, así como de los Probióticos, en especial de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Es importante también destacar la temática relacionada con la normatividad y un campo interesante como lo es la Microbiología Predictiva.

En esta Segunda Edición, se han complementado los conceptos y se han profundizado en forma más detallada lo relacionado con la importancia de los microorganismos en la producción animal tanto patógenos para animales y sus diferentes derivados, así como de otros microorganismos que han demostrado ser muy útiles y con grandes beneficios en la salud humana y animal, como lo son los Probióticos, en especial de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y que son considerados GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros).

En este libro denominado Microbiología Aplicada a la Producción Animal (Segunda Edición), se encontrarán los siguientes capítulos: Capítulo 1. generalidades; capítulo 2. microorganismos; capítulo 3. aplicaciones en agroindustria; capítulo 4. Microbiología zootécnica; capítulo 5. Normatividad.

Finalmente, en este Libro se utilizan distintas herramientas y estrategias pedagógicas, que ayudarán al lector a construir conocimiento técnico y científico en la Microbiología Zootécnica.





# **Capítulo 1.**

## **Generalidades**



## 1.1 Definición de microbiología

La **microbiología** estudia y analiza los microorganismos, seres pequeños que escapan al ojo humano. La palabra se puede dividir en tres elementos para su comprensión: mikros del griego «μικρος» “pequeño”, bios «βιος» “vida” y -logía «-λογία» estudio o ciencia. Para entender a estos seres vivos, la microbiología involucra el estudio de su biología, anatomía, fisiología, estructura y ecología, con lo cual desarrolla aplicaciones para el mejoramiento de los procesos biotecnológicos (Luna-Fontalbo, 2012).

La Microbiología se ocupa del estudio de los organismos microscópicos y ultramicroscópicos, es decir, de aquellos organismos que no pueden ser visualizados a simple vista por presentar escalas de tamaño del orden de micras y para su estudio se requiere indispensablemente de un microscopio (Montayo-Villafañe, 2008). En términos más complejos, los microorganismos tienen individualidad, organización simple y pueden ser celular o acelular, en el primer caso se encuentran organismos pluricelulares, cenocíticos, unicelulares o coloniales; que no tienen diferenciación en tejidos y menos en órganos, esto conduce a desarrollar su propio método de estudio. Dentro de este grupo se tiene a microorganismos celulares como sus entidades subcelulares (León-Placencia & Quesada-Patrón, 2012).

El grupo de organismos celulares comprende procariotas y eucariotas (algas microscópicas, hongos y mohos mucosos y protozoos).

De igual manera, hay grupos que no poseen rasgos atribuibles a la vida, pero tienen individualidad y forma biológica, y que se estudian en esta área. Este grupo incluye virus, viroides, ARNs satélites, virusoides y priones de los cuales se hablará más adelante (Sánchez-Contreras & González-Flores, 2017).

La técnica microscópica no es la única técnica requerida en estudios microbiológicos ya que la microbiología comprende además de ésta, la siembra de microorganismos, su identificación, filtración, aislamiento y recuento. De igual forma, la identificación y separación

de los productos metabólicos, el medio en el cual sobreviven, las reacciones químicas y todas las relaciones entre estos factores y sus organismos huésped o su efecto antígeno y patogénico. Esto conlleva a decir que se trata de una ciencia experimental y aplicada que se puede desarrollar en varios ámbitos investigativos, por eso es posible descubrir varias ramas de la microbiología (M. P. Doyle et al., 2019).

**a) Aeromicrobiología.** Se centra en los estudios relacionados con los microorganismos que se traslada a través del aire y su impacto fisiología sobre los ambientes.

**b) Fisiología microbiana.** Se caracteriza por estudiar el funcionamiento de las células de los microorganismos a un nivel bioquímico. Dentro de esta área se estudia la estructura, el metabolismo y el crecimiento de los microorganismos (Quinn et al., 2011).

**c) Genética microbiana.** Busca comprender como se organizan y regulan los genes microbianos y la forma en que influyen en el funcionamiento celular (De-Vuyst & Vandamme, 1994).

**d) Microbiología del agua.** Estudia la flora microbiana presente en las masas de agua, ya sean naturales o artificiales.

**e) Microbiología de los alimentos.** Como su nombre lo indica, estudia los microorganismos que se encuentran en los alimentos y como provocan modificaciones en su composición, ya sea causando su contaminación y deterioro o su producción y conservación (M. P. Doyle et al., 2019).

**f) Microbiología ambiental.** Comprende el estudio de la diversidad microbiológica y su función en el medio ambiente. Entre sus áreas se encuentran la geomicrobiología, ecología microbiana, la diversidad microbiana y la remediación (M. P. Doyle et al., 2019).

**g) Microbiología evolutiva.** Estudia la evolución microbiana, para ello se hace uso de la sistémica y de la taxonomía como herramientas para entender los distintos procesos de evolución (M. P. Doyle et al., 2019).

**h) Microbiología industrial.** Se encarga del estudio de los microorganismos en procesos industriales como tratamientos de agua residual, fermentación e identificación de metabolitos secundarios. Enfoca sus estudios en aquellos microorganismos que producen sustancias de interés económico o evitan cambios indeseables en determinados productos. Es la ciencia más cercana a la Biotecnología (M. P. Doyle et al., 2019).

**i) Microbiología marina.** Se encarga del estudio de los microorganismos presentes en el mar.

**j) Microbiología médica.** Se encarga del estudio de los microorganismos relacionados con las enfermedades humanas. Busca comprender la patogénesis microbiana y su epidemiología (Murray et al., 2020).

**k) Microbiología del petróleo.** Estudia la microbiología del petróleo, especialmente de utilidad para la industria petroquímica.

**l) Microbiología del suelo.** Se encarga del estudio de los microorganismos del suelo y el efecto sobre la funcionalidad y actividad del mismo, así como sus implicaciones en el crecimiento de las plantas.

**m) Microbiología textil.** Se ocupa del estudio de aquellos microorganismos que afectan las fibras textiles y para el consumidor, así como el uso en algunas fases de producción, por ejemplo, el enfriamiento.

**n) Microbiología veterinaria.** Como su nombre lo indica, se encarga del estudio de los microorganismos relacionados con las enfermedades en los animales. Incluye la patogénesis microbiana y la epidemiología (Quinn et al., 2011).

**o) Microbiología zootécnica.** estudia la microbiología de interés zootécnico para beneficio de los animales, de los productos pecuarios y del hombre (Quinn et al., 2011).

## 1.2 Importancia de la microbiología

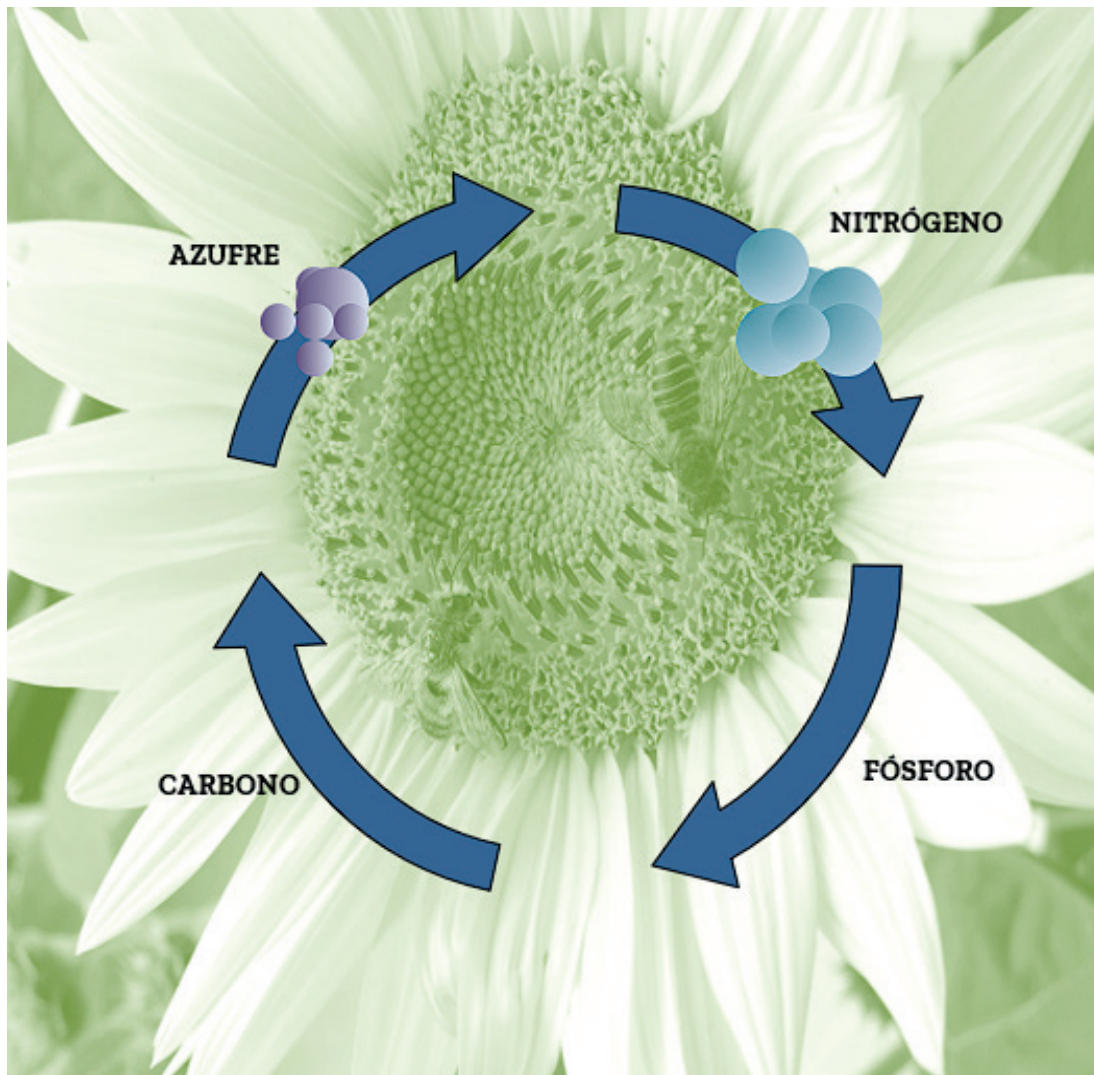
De acuerdo con la American Society for Micrology (2003), la Microbiología se caracteriza por mostrar una extraordinaria relevancia en el mundo, dado que los microorganismos se encuentran en muchos hábitats y su presencia modifica de manera importante las actividades humanas como se presenta a continuación:

Se considera que los microorganismos fueron primeros en la evolución, y representan una porción importante de la biomasa de la tierra. Los estudios demuestran que hemos descrito apenas un 15% del total de especies microbianas, lo que evidencia el arduo trabajo por seguir para los microbiólogos y la necesidad de estudiar esta gran biodiversidad y sus servicios (Zang et al., 2020).

Los microorganismos sostienen muchos ciclos biogeoquímicos, como los del azufre, carbono, fósforo y nitrógeno (Madsen, 2011). De igual manera, hongos y bacterias tienen una importante función en la desintegración de la materia orgánica presente en la biosfera; esto permite reincorporar los compuestos orgánicos en forma inorgánica de las cadenas tróficas (Frey, 2019).

Los microorganismos descomponen o degradan la materia orgánica a través de sus procesos metabólicos, y la mineralizan de tal forma que sea de fácil asimilación para los productores de la red trófica (plantas), con el propósito de reiniciar un nuevo ciclo (Figura 1).

**Figura 1**  
**Ciclos biogeoquímicos de la tierra.**



*Fuente: Elaboración Propia*

Los microorganismos intervienen en estos ciclos de manera muy eficiente debido a los siguientes factores: amplia distribución en distintos ambientes, una gran diversidad metabólica y una gran dispersión. Además, su pequeño tamaño y su condición unicelular permite el rápido intercambio de nutrientes y productos metabólicos con el medio ambiente (Yarwood, 2018).



- La microbiología permite el conocimiento de las causas de degradación de la materia viva y su reintegración al medio.
- Ha mejorado los procesos, como la fermentación, que se realizan los microorganismos.
- También, ha hecho aportes en salud humana y animal: muchas enfermedades se desarrollan a partir infecciones microbianas; comprender su comportamiento ayudó a prevenirlas y curarlas, y para casos especiales erradicarlas.
- Varias especies de microorganismos se utilizan como modelos en biología molecular, esto ha permitido avanzar en múltiples áreas, su estudio permitió comprender procesos biológicos fundamentales, especialmente cómo actúan y cómo se transmite sus genes. Usualmente se emplea en estas investigaciones microorganismos como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Dyctiostelium discoideum*, con las cuales se han realizado investigaciones sobre las proteínas implicadas en el ADN y ARN, síntesis de proteínas, metabolismo, regulación génica, empleo de nuevos antibióticos, división celular, función del citoesqueleto, envejecimiento, estructura cromosómica (Franco-Duarte et al., 2019).
- Los microorganismos sirven como modelos en la comprensión de seres superiores, ya que muchas de sus características los convierten en organismos ideales para investigar diferentes áreas como: biología celular y genética sin tener que emplear modelos humanos (Franco-Duarte et al., 2019).



## 1.3 Historia de la Microbiología

Los microorganismos aparecieron hace 4.000 millones de años; sin embargo, la microbiología es una rama relativamente nueva. Según el esquema establecido por Collard (1976) se distinguen 4 etapas en la microbiología:

**Primer periodo:** Se caracteriza por fundamentarse en especulaciones, se extiende desde la antigüedad hasta la invención del microscopio.

**Segundo periodo:** inicia con la invención del microscopio, lo que permite realizar las primeras observaciones, destacándose el descubrimiento de los microorganismos por Leeuwenhoek. Inicia en 1675 y llega hasta mediados del siglo XIX.

**Tercer periodo:** Se caracteriza por el cultivo de organismos, donde se destacan figuras como Pasteur y Koch, quienes establecen la microbiología como ciencia bien fundamentada. Llega hasta finales del siglo XIX.

**Cuarto periodo:** comprende todo el siglo XX hasta nuestros días. Se introduce nuevas áreas de investigación como fisiología, bioquímica, genética, ecológica, etc. Lo que impulsa un desarrollo sin precedentes del área.

### 1.3.1 Evolución de la Microbiología

En un principio, los seres humanos desconocían la existencia de los microorganismos, aunque los usaban en la elaboración de productos como la cerveza, el pan, el queso y otros.

Datos históricos revelan que inicialmente se creía que existían seres muy pequeños, pero jamás se sustentó la posibilidad de que tuvieran vida. Aunque los microorganismos se encontraron hace 300 años, tuvo que pasar 200 más para que se reconociera su importancia y se concluyera finalmente que existen organismos vivos tan pequeños que no puedo percibir el ojo humano.

La microbiología como ciencia tiene sus orígenes en Babilonia y en el antiguo Egipto. Varias fuentes de la antigüedad romana y griega mencionan gérmenes invisibles que trasfieren enfermedades. Al respecto Lucrecio entre los años 96 a 55 A.C., en el libro "*De rerum natura*" denomina a estos como "semillas de enfermedad".

Por otra parte, Girolamo Frascatorius mencionó que "gérmenes vivos" son los responsables de las enfermedades contagiosas y se pueden pasar de diversas maneras entre individuos. Aunque, las explicaciones estuvieron en contacto con causas sobrenaturales, esta concepción se transformó con el ingreso de la sífilis en Europa, enfermedad que requiere la necesidad de contacto para su contagio.

El retardo en el descubrimiento de la microbiología se debió a la falta de herramientas y técnicas adecuadas que contribuyeran con la causa, pero con la invención del microscopio (s. XVII) comenzó la microbiología como nueva rama del conocimiento. De Igual manera, con la creación de las primeras lentes para corregir la visión en el siglo XIV, inició la averiguación sobre el aumento del tamaño de los objetos. Más después, durante el siglo XVI nacieron nuevas ideas en la física óptica de las lentes de aumento, aunque sin aplicaciones inmediatas.

Constantin Huygenses (1621) relata que Cornelis Drebbel (inglés) poseía un instrumento en la Académica Lincei de Roma, que se denominó *microscopium* en 1625. Sin embargo, el holandés Antoni Van Leeuwenhoek fue el primero en observar microorganismos con la ayuda de un microscopio que construyó el mismo, logró describir estos organismos en el año de 1.683 y a los cuales llamó "Animálculos". Se cree que fabricó aproximadamente 400 microscopios simples, con los que logro cerca de 300 diámetros de aumento y con los cuales finalmente logró descubrir gran variedad

de pequeñas criaturas (*Euglena*, *Coleps*, *Enchelys*, *Oicomonas termo*, *Oxytricha* sp., *Stylonychia* sp., *Vaginicola*, *Volvox*, *Vorticella campanula*). Con este descubrimiento se hizo acreedor al título de “El Padre de la Microbiología”.

Durante mucho tiempo Leeuwenhoek comunicó sus observaciones a la Royal Society de Londres mediante diversas cartas que se publicaron en “*Philosophical Transactions*”, ya traducidas al inglés. Sus capacidades como observador le permitieron describir la forma del músculo estriado, los protozoos (*Giardia*), la circulación capilar y el descubrimiento de los glóbulos rojos y espermatozoides, lo que le valió el apelativo de fundador de la Histología animal. De igual manera, detalló diferentes estructuras en embriones y semillas plantas. Leeuwenhoek observó que todos estos microorganismos eran abundante y estaban en diversos lugares (Puigdomenech, 2009).

Uno de sus más grandes aportes fue la discusión sobre la teoría en vigor (generación espontánea), demostrando que los distintos organismos no germinaban de manera espontánea, sino que salían a partir de huevecillos no visibles con el ojo humano. Describió tres los tres tipos de bacterias: bacilos, cocos y espirilos, además, del ciclo de las hormigas (Puigdomenech, 2009).

A pesar de los avances que se logró con Leeuwenhoek, los estudios en el área se disminuyeron debido a la dificultad de fabricar lentes con gran aumento y el difícil manejo de los microscopios (Puigdomenech, 2009).

Años más tarde Roberth Koch, un médico rural alemán demostró que las bacterias eran capaces de actuar como agentes infecciosos en animales. Inició sus investigaciones en base a lo realizado por Girolano Fracastoro en 1546, quien sugirió que las enfermedades podrían deberse a organismos pequeños invisibles para el ojo humano.

Koch realizó investigaciones sobre el carbunco (*Bacillus anthracis*), enfermedad peligrosa para animales domésticos que se transmite fácilmente al hombre (enfermedad zoonótica). La etiología del carbunco se descubrió de manera completa en el año de 1876, seis años después de haber iniciado sus experimentos (Puigdomenech, 2009).

Posteriormente, junto con sus discípulos descubrieron los agentes etiológicos del cólera y la tuberculosis, logrando establecer la

relación causal entre el microorganismo y la enfermedad. Al respecto (Fuentes-Castillo, 2007) indican que Koch realizó los siguientes postulados:

1. La bacteria patógena se deben aislar sólo de animales enfermos.
2. La bacteria presente en un animal enfermo debe aislarse en cultivo puro.
3. Al inocular la bacteria sobre un individuo sano se produce la enfermedad.
4. Se debe aislar la bacteria nuevamente en un cultivo puro.

Estos postulados fueron ligeramente modificados después del descubrimiento de los virus (virus del mosaico descubierto por Dimitri Ivanovski en 1982).

Luego del estudio del carbunco inicia la edad de oro de la bacteriología. Por lo que en 25 años se descubre muchas de las bacterias causante de enfermedades en humanos (Puigdomenech, 2009).

Para este periodo se alcanzó el descubrimiento de la sustancia 606 o Salvarsan, compuesto químico con propiedades antimicrobianas que curaba al paciente sin general toxicidad. Por hacer el descubrimiento, Coch recibió el premio Nobel en 1908. Hoy en día el Salvarsan se ha remplazado la penicilina, un antibiótico más efectivo (Zaffiri et al., 2012).

Koch estableció el trabajo del investigador de microorganismos, la forma de obtenerlos en sujetos contagiados, la forma de cultivarlos de forma artificial y la forma de destruirlos. Las observaciones las comunicó Julius Friedrich Cohnheim, patólogo alemán, y su equipo de trabajo, entre los que se destaca el bacteriólogo Paul Ehrlich, quien fue pionero de la investigación de la inmunología moderna.

Un segundo factor que reafirma el nacimiento de la Microbiología como Ciencia es el establecimiento de las transformaciones químicas producidas en las infusiones al emplear microorganismos, "las fermentaciones". Al respecto, (Puigdomenech, 2009) menciona que los estudios de Schwann y Kützing en 1837 y Cagniard en 1836 sugerían que las fermentaciones alcohólicas se producirán por

levaduras que utilizaba el azúcar para producir alcohol etílico y dióxido de carbono, pero no fueron aceptadas por los químicos de su tiempo.

Louis Pasteur, químico y biólogo francés inició sus investigaciones en los procesos de fermentación de la cerveza y vino durante el año de 1867, descubriendo que estos procesos estaban relacionados con la presencia de bacterias, pudo determinar que la obtención de líquidos de buen sabor estaba relacionada con la participación de levaduras, mientras que la obtención de líquidos agrios se debía a la presencia de organismos distintos como las bacterias.

Este sería el inicio de varios estudios que duraron hasta 1876 realizado por Pasteur, donde se identificaron varios microorganismos causantes del proceso fermentativo.

Uno de sus hallazgos, se dio con la fermentación butírica, a través de la cual Pasteur descubrió microorganismos que crecían sin oxígeno, lo que contradujo la teoría de que la vida requería de aire (oxígeno) para vivir y crecer. A partir de lo anterior, postuló los nombres anaerobiosis y aerobiosis para nombrar a los organismos que pueden vivir en ausencia de oxígeno y los que requieren de él respectivamente (Buchholz & Collins, 2013).

Con estas investigaciones se dio origen a uno de los procesos más importantes en microbiología y los cuales aún llevan su nombre “La pasteurización”. Los primeros experimentos los realizó en la leche y logró demostrar que sometiendo el producto a una determinada temperatura se pueden destruir las bacterias perjudiciales sin alterar la composición nutritiva, el color o el sabor de la leche. De esta manera se establecieron los 2 primeros procesos de pasteurización:

- 1.** Para pasteurizar la leche, se calienta a 63 °C por 30 minutos, se enfría rápidamente y se envasa a 10°C de temperatura.
- 2.** Para pasteurizar el vino y la cerveza, se deben calentar a 60°C aproximadamente por 20 minutos. Sin embargo, ahora se calientan a 70°C por 30 segundos, para luego enviarlos en recipientes estériles (Buchholz & Collins, 2013).

Este estudioso (Pasteur) realizó un aporte muy importante con la investigación de la enfermedad del gusano de seda en París, demostrando que la pebrina era la causa de la enfermedad. Él, crío de forma controlada la pebrina y demostró que era contagiosa

y hereditaria. Estableció un programa de cría con animales seleccionados libres de enfermedad (Singh et al., 2012).

Igualmente estableció investigaciones sobre el carbunco, demostrando que la causa de la enfermedad era un bacilo y estableció que se podía inducir la enfermedad de forma leve en los animales mediante el suministro de bacilos atenuados, lo que ayudaría a la respuesta inmunitaria del huésped de potenciales ataques. Para corroborar sus aseveraciones, Pasteur inoculó 25 ovejas, después de algunos días, contagió a éstas y a otro grupo de 25 animales con una cepa fuerte, y dejó 10 ovejas sin inoculación (grupo control) y predijo que las 25 ovejas sin previa inoculación morirían. El experimento dio los resultados esperados (Buchholz & Collins, 2013).

Pasteur continuó investigando por largo tiempo las causas de diversas enfermedades, lo que lo llevó a establecer programas de prevención como las vacunas.

Otra contribución de Louis Pasteur fue al campo de isomería óptica, donde separó los cristales de dos enantiómeros del ácido tartárico con el microscopio (Geison, 2014).

Durante el siglo XIX biólogos como Beijerinck y Hansen en Delf y Copenhague abrieron destilerías e industrias y destilerías aplicando los conocimientos científicos de la fermentación. Hemil Hansen adelantó varias investigaciones mientras trabajaba en la cervecería Carlsberg en Dinamarca. En 1881 logró aislar *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces uvarum* levaduras de fermentación alta y baja respectivamente, sustentando que era necesario aislar estos tipos de levadura de los tipos silvestres a fin de lograr un mejor control en la producción cervecera. Este descubrimiento conllevó a la obtención de cultivos puros de levadura con características predeterminadas (Fukazawa et al., 1980).

Buchner, a partir de levaduras, obtuvo un preparado enzimático, que se llamó "zimasa" y poseía la capacidad de fermentar como células vivas. A partir de lo anterior, se estableció que la fermentación responde a procesos químicos catalizados por enzimas, que podían ser estudiados extracelularmente (Puigdomenech, 2009).

Para llevar a cabo sus experimentos, Buchner utilizó células de levadura seca, las cuales fueron pulverizadas junto con cuarzo y diatomita (minerales empleados para romper las paredes celulares de las levaduras); la mezcla final se caracterizó por presentar un

cierto nivel de humedad, proveniente de los líquidos internos de las levaduras. Posteriormente Buchner empleó prensas para exprimir esta mezcla y obtener únicamente el líquido, en el que esperaba encontrar la o las sustancias responsables de la fermentación.

El siguiente paso consistió en mezclar el líquido obtenido con las sustancias orgánicas que comúnmente fermentaba la levadura, así como con distintas azúcares. Determinó que durante el proceso se produjo dióxido de carbono y que tras la fermentación los azúcares se convertían en alcoholes, exactamente igual que cuando se empleaban células vivas (Puigdomenech, 2009).

Respecto a los avances sobre los virus, su progreso inició durante el primer tercio del siglo XX. Aunque algunos microbiólogos establecieron que las enfermedades víricas se producen por patógenos minúsculos durante 1905, los virus se consideran no visibles; por lo que su naturaleza estuvo desconocida hasta 1930. Wendell aisló y cristalizó el virus del mosaico del tabaco en 1935.

Wendell había demostrado que todas las enzimas conocidas hasta el momento eran cristalizables y de naturaleza proteica e intentó aplicar las mismas técnicas para ver si era posible purificar el virus del mosaico del tabaco. Sus estudios se enfocaron inicialmente al estudio del propio virus y posteriormente analizó las características de la planta de mosaico. Para 1935 logró aislarlo en delgados cristales con forma de agujas, sin disminuir su virulencia (Black & Black, 2018).

Después de la cristalización pudo comprobar que el virus estaba compuesto por proteínas y ácido nucleídeo, lo que supuso un descubrimiento revolucionario. Finalmente fue capaz de aislar el ácido nucleídeo de la envuelta proteica y demostrar que era el componente responsable de la actividad del virus del tabaco.

Para el año de 1937 Max Theiler logró cultivar el virus de la fiebre amarilla en huevos de gallina, con lo cual le fue posible producir una vacuna de una cepa de virus atenuado que ha salvado millones de vidas, y la cual hoy en día se sigue utilizando. Para este mismo año Max Delbruck, investigador de bacteriófagos describió el ciclo de vida básico de un virus, describiendo que para reproducirse requieren necesariamente infectar otras células.

Durante 1938 se pudo observar un virus por primera vez, gracias al microscopio electrónico. Esto permitió que durante los años 1960 y 1970 se encontraron varios virus y con ello se logró establecer sus características físicas y químicas (Black & Black, 2018).



Subsiguientemente, la investigación en microbiología utilizó técnicas nuevas, secuenciación del ácido desoxirribonucleico (ADN), como el microscopio electrónico de barrido. Estos avances permitieron la clasificación de microorganismo de acuerdo con su estructura molecular.

Baruch (1963) reveló el virus de la hepatitis B y su vacuna contra esta enfermedad; Howard Temin (1965) describe el primer retrovirus: un ARN-virus que puede insertar su genoma en forma de ADN en el genoma de su huésped, junto con David Baltimore en 1970 describen la enzima transcriptasa inversa con la cual los retrovirus traducen su ARN en ADN, pero para 1974 Robert Gallo encontró que los retrotransposones que se encuentran en grandes cantidades en los genomas de las células eucariotas son los causantes de la codificación de la Transcriptasa inversa (Gerlich, 2013).

Finalmente, el hallazgo de los priones en 1982 por Stanley y sus colaboradores abrieron una nueva área de estudio en la microbiología. Sus investigaciones conllevaron a descubrir que el agente causal de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o "enfermedad de las vacas locas" es una proteína sin material genético conocida como prion, y no un virus como se pensaba en los años ochenta. Los priones son agentes vinculados con problemas nerviosos como consecuencia de desórdenes degenerativos (Puigdomenech, 2009).

Prusiner inició sus estudios reconociendo las causas de encefalitis espongiforme estableciendo las siguientes conclusiones:

- El agente es pequeño, en comparación con los virus, tiene un peso que oscila entre 27.000 y 30.000 Daltons.
- Aparentemente, el agente no posee ácido nucleído y estaba compuesto únicamente de proteínas.
- El agente causal de encefalitis espongiforme y posiblemente el Kuru, el scrapie de las ovejas y el Creutzfeldt-Jakob es un prion o derivado de partícula proteinácea infecciosa.

Este agente no causa problemas inmunitarios o inflamatorios y tampoco ha podido ser observado en el microscopio. No existen pruebas para su detección en seres vivos, excepto por los estudios patológicos. La enfermedad puede ser infecciosa, heredada o de origen esporádico.

El prion tiene la capacidad de codificar un gen celular, con dos isoformas conocidas; la normal o proteína priónica celular (PrPc) y la infecciosa proteína priónica scrapie (PrPcs). La isoforma normal se ha descubierto en tejidos de mamíferos, como el humano, bovino, ovino etc (Norrby, 2011).

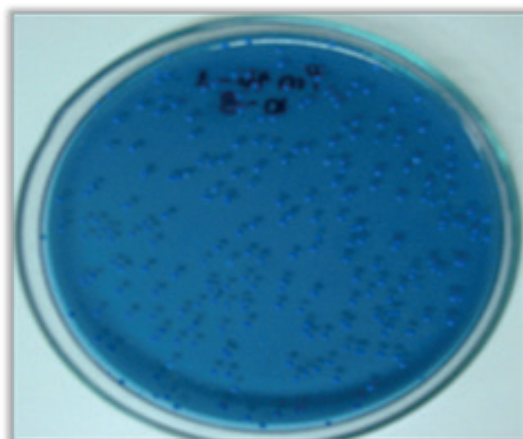
Se ha encontrado que la incubación es muy prolongada (20 años) y solo se detecta cuando la enfermedad está muy avanzada y la muerte esté cerca. En la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se presentan síntomas como pérdida del habla y de la memoria, apatía, demencia permanente e incoordinación neuromotriz (Sikorska et al., 2012).

### **1.3.2 Progreso de los medios de cultivo**

Dentro de la evolución de la microbiología no se puede dejar de lado las técnicas desarrolladas para el cultivo de microorganismos. Los primeros cultivos puros se obtuvieron por Brefeld, que separó esporas de hongos y las sembró en medio sólido. Pero resultó no viable para el cultivo de bacterias conllevando al desarrollo del método de diluciones (figura 2).

En 1878, Lister efectuó en cultivos mixtos varias diluciones secuenciales, hasta obtener muestras con una sola célula. Sin embargo, la técnica resultó ser fastidiosa y únicamente se aislaron células bacterianas en el cultivo original.

**Figura 2**  
**Método de cultivo microbiológico.**



*Fuente: Elaboración Propia.*

Para esa época, Koch buscó un método más sencillo de cultivo puro, ya que se había vuelto indispensable para continuar con las investigaciones en microorganismos patógenos. Primero utilizó rodajas de patata como sustrato nutritivo para cultivar colonias de bacterias macroscópicas y observar sus características morfológicas (Penn & Dworkin, 1976).

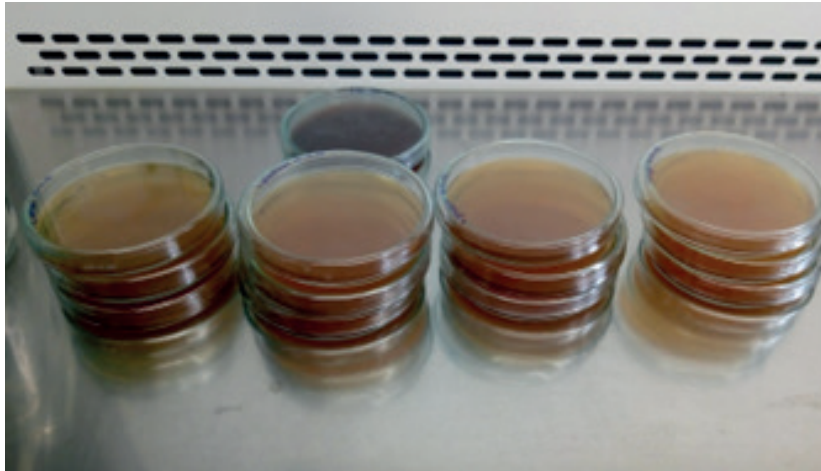
Durante los primeros ensayos, Hesse comprobó que los medios de agar-agar eran mejoras de la gelatina como agente solidificante, por lo que envió información de este descubrimiento a Koch, quien lo adaptó rápidamente en sus trabajos de investigación microbiológica y en los estudios de la bacteria *Micobacterium tuberculosis* (Hitchens & Leikind, 1939).

A diferencia de la gelatina, una gran mayoría de bacterias no degradan el agar y permiten que varios medios sólidos sean transparentes, lo que ayuda identificar colonias bacterianas (figura 3).

Luego, en 1887, un colaborador de Koch, llamado Petri, cambió las bandejas de vidrio, que las usaban en los cultivos sólidos, por placas de cristal planas, que hoy se les llaman cajas de Petri (Shama, 2019). Las cajas o placas de Petri son recipientes circulares de vidrio, aunque ahora se puede encontrar de plástico, con medidas de diez y un centímetro de diámetro y de alto respectivamente.

Estas cápsulas están formadas por dos discos de cristal que se acoplan fácilmente. En la caja del fondo se coloca el medio de cultivo y la segunda caja sirve como tapa, esto permiten una fácil esterilización, además de una facilidad en el sembrado de cepas y su colocación en la incubadora. Las cajas Petri permiten aislar colonias microbianas para facilitar su estudio (Shama, 2019).

**Figura 3**  
**Caja o placa de Petri.**



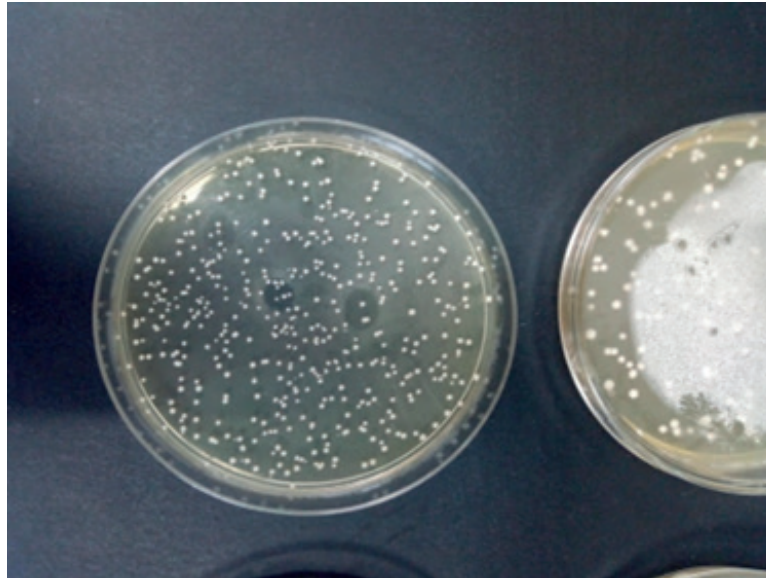
*Fuente: Elaboración Propia*

Entre 1888 e inicios del siglo XX, Beijerinck y Winogradsky desarrollaron los medios selectivos y enriquecimiento de bacterias en distintos procesos biogeoquímicos y con características fisiológicas diferenciales. Estos medios, originalmente se desarrollan a escala pequeña y se diseñaron para favorecer las necesidades fisiológicas de cierto tipo de microorganismos (Park et al., 2012).

Con el desarrollo de los instrumentos ópticos de Abbé y Zeiss, Koch perfeccionó el microscopio compuesto con la inclusión de lentes acromáticas y el uso de condensadores para la iluminación. De igual manera, se recurrió al empleo de colorantes para sus investigaciones (figura 4). La industria química BASF se encontraba entonces en el auge de buscar y patentar nuevos colorantes, y fue quien facilitó al laboratorio de Koch anilinas para teñir las bacterias, lo que facilitó la visualización en el microscopio (Park et al., 2012).

**Figura 4**

**Conteo de microorganismos en medios de cultivo.**



*Fuente: Elaboración Propia*

Carl Weigert logró teñir las bacterias con pirocarmín en 1875, colorante que se usó para estudios zoológicos. Luego, sucesivamente se implantaron el violeta de cristal, el azul de metileno y la fucsina. Entre 1882 y 1883 se desarrolló el método ácido-alcohol por Ziehl y Neelsen con el fin de teñir *Mycobacterium tuberculosis*. Para 1884, se desarrolló una tinción de contraste por el danés Christian Gram (patólogo) que permitió clasificar las bacterias en dos tipos, que ahora se denominan Gram Positivas y Gram Negativas (Puigdomenech, 2009).

Gram descubrió que algunos microorganismos Gram positivos (Gram +) contienen una serie de elementos en la pared celular (peptidoglicanos), los cuales están dispuestos de una manera muy distinta a la de los microorganismos Gram negativos (Gram -) y que, a través de la aplicación de colorantes como cristal violeta, violeta de genciana con yodo, forman un compuesto que resiste la decoloración. En otras palabras la aplicación de estos métodos de coloración diferencial permiten que los gérmenes con mayor cantidad de peptidoglicanos se tiñan de violeta, siendo los Gram positivos, mientras que los que se decoloran se tiñen nuevamente con fucsina y la safranina, estos microorganismos se denominan Gram negativos (Gregersen, 1978).

Uno de los principales problemas para los virólogos fue la dificultad en el cultivo de virus en medio estéril como ocurría con los microorganismos celulares, por lo cual su estudio se volvía cada vez más difícil. El primer avance en este campo se consigue con William Ernest (1931), quien logra el crecimiento del virus de la gripe en huevos de gallina fertilizados. Sin embargo, bajo esta técnica solo era posible el cultivo de algunos virus y se requería por lo tanto un medio de cultivo más eficaz (Gregersen, 1978).

John Enders, Thomas Weller y Frederick Chapman lograron desarrollar una técnica que reprodujo el virus de la polio en células animales vivas. Estos métodos se aplican en el crecimiento de virus que no se pueden cultivar en medios estériles.



## **Capítulo 2.**

# **Microorganismos**





## 2.1 Clasificación general de los microorganismos

La taxonomía de los microorganismos se encarga de clasificar, identificar y otorgar la nomenclatura correspondiente a cada organismo de acuerdo con las normas establecidas (tabla 1 y figura 5). La clasificación se realiza agrupando a los organismos en taxones de acuerdo con las semejanzas o parentesco evolutivo también conocido como Filogenia (M. P. Doyle et al., 2019). Las tres categorías o dominios de los microorganismos fueron denominados por Carl Woese (2005) quienes establecen un modelo evolutivo basado en los siguientes puntos, que menciona (Miranda-Lagos, 2016):

- “Existen diferencias en las secuencias de nucleótidos en los ribosomas y ARNs de transferencia de la célula.
- La estructura de los lípidos de la membrana y
- La sensibilidad a los antibióticos”. (p. 12)

El sistema plantea que un antepasado puede generar distintos tipos de célula, cada una representa un dominio. Estos dominios son *Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*. A su vez cada uno se divide en otras categorías taxonómicas: especie, género, familia, orden, clase, filo y reino (Puigdomenech, 2009).

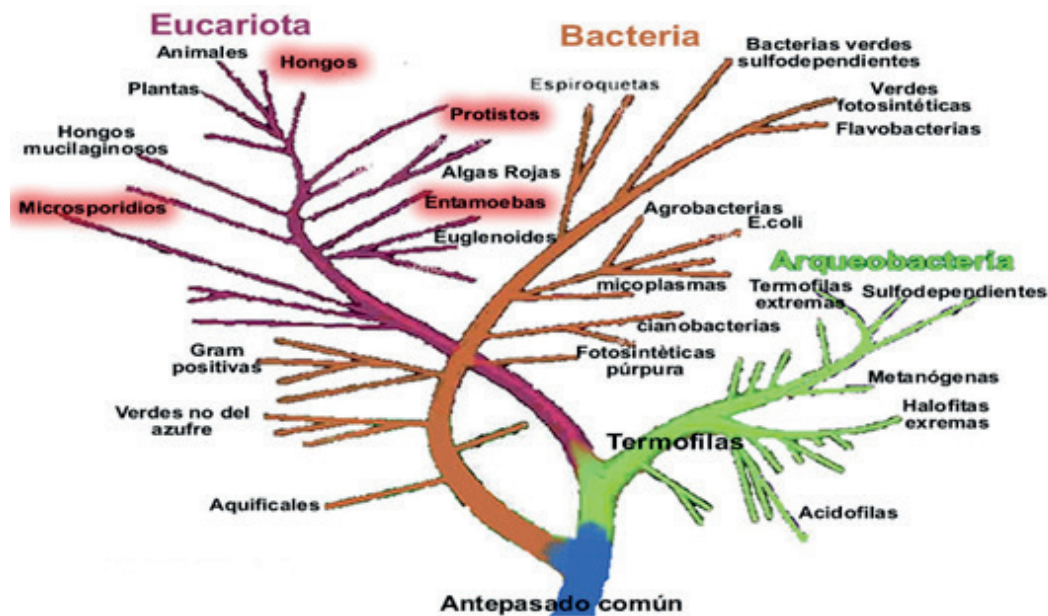


**Tabla 1****Modelo evolutivo propuesta de Woese**

<b>CARACTERISTICAS</b>	<b>DOMINIOS</b>		
	<b>EUBACTERIA</b>	<b>ARCHAEA</b>	<b>EUKARYA</b>
<i>Membrana nuclear</i>	<i>Ausente</i>	<i>Ausente</i>	<i>Presente</i>
<i>Orgánulos membranosos</i>	<i>Ausente</i>	<i>Ausente</i>	<i>Presentes</i>
<i>Peptidoglicanos en la pared celular</i>	<i>Presentes</i>	<i>Presentes</i>	<i>Ausentes</i>
<i>Lípidos de la membrana</i>	<i>Con uniones de tipo Ester. No conectados</i>	<i>Con uniones de tipo Ester. Conectados</i>	<i>Con uniones de tipo Ester. No conectados</i>
<i>Ribosomas</i>	<i>70S</i>	<i>70S</i>	<i>80S</i>
<i>ARNt iniciador</i>	<i>Formilmetionina</i>	<i>Metionina</i>	<i>Metionina</i>
<i>Operón</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>
<i>Plásmidos</i>	<i>Presentes</i>	<i>Presentes</i>	<i>Raros</i>
<i>ARN polimerasas</i>	<i>Una</i>	<i>Varias</i>	<i>Tres</i>
<i>Sensibilidad al cloranfenicol y a la estreptomina</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>Ribosomas sensibles a la toxina de la difteria</i>	<i>No</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>
<i>Algunos son metanógenos</i>	<i>No</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>
<i>Algunos fijan nitrógeno</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>
<i>Algunos realizan fotosíntesis</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>Sí</i>

Fuente: Miranda-Lagos (2016), p. 4.

**Figura 5.**  
**Árbol de la vida, los tres dominios.**



Fuente: Piña-López, (2010), p. 3.

**Arqueobacteria o Archaea:** (*Archae* → Antiguo), se trata de células vivas más primitivas que se conocen. Se caracterizan por poseer paredes celulares que carecen de peptidoglucanos, los cuales están presentes en las eubacterias. Las arqueobacterias fotosintéticas usan el pigmento bacteriorrodopsina en lugar de bacterioclorofila. Poseen unidades de ARNr pequeñas como secuencias únicas, poseen lípidos de membrana diferentes y son muy parecidos a las bacterias. Su tamaño se encuentra entre 0,5 y 5 micras, caracterizándose por tener formas de cocos, bastones y espirilos, que se multiplican por fisión.

Las arqueobacterias pueden vivir en lugares difíciles (extremófilos), donde otros microorganismos no sobreviven; esto hace pensar que estos moneras se desarrollaron en momentos de clima extremo en la tierra. Dentro de este grupo, las metanógenas tienen la capacidad de vivir en Ciénegas y pantanos, y producir metano a través de quimiosíntesis anaeróbica, al igual que las halofílicas y termoacidófilas, las primeras habitan lugares con elevada concentración de sal y las segundas, en manantiales térmicos y respiraderos volcánicos, lo que las obliga a vivir a alta temperatura y bajo pH.

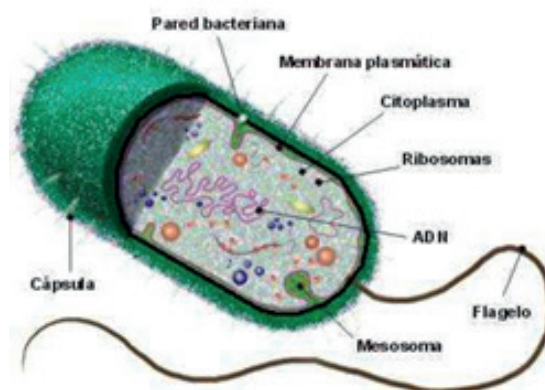
Las arqueas tienen importancia en la tecnología ya que se emplean en producción de biogás y en procesos de depuración de aguas. Hay un grupo de bacterias que pueden resistir temperaturas elevadas y solventes orgánicos, que se denominan arqueas extremófilas, por lo que han sido empleadas en procesos biotecnológicos (Ferrer & Pérez, 2010).

**Eubacteria o Bacteria.** Dentro de la clasificación Eubacteria hay varios linajes evolutivos, en las que se encuentra a procariontes y una gran parte de bacterias presentes en suelo, agua, aire y seres vivos incluidos el hombre. Este grupo tiene a las bacterias verdaderas, las cianobacterias y las micoplasmas (Ferrer & Pérez, 2010).

Las bacterias son microorganismos unicelulares que viven agrupados o libres, su tamaño varía entre 1 y 10 micrómetro.

A excepción de las arqueobacterias poseen pared celular de peptidoglucano, no poseen membrana envolvente del material genético, que se encuentra disperso en el citoplasma, tienen ADN con cadena circular doble y sin histonas, su citoplasma tiene mesomas y no estructuras membranosas. Sus ribosomas tienen menor tamaño y no poseen citoesqueleto y organelos celulares, tienen un solo cromosoma, se reproducen mediante bipartición, conjugación y gemación por lo que no tienen división por mitosis o meiosis, unas son inmóviles y otras móviles que pueden desplazarse por medio de cilios o flagelos (figura 6).

**Figura 6**  
**Estructura de una bacteria.**



Fuente: <http://www.etitudela.com> (2015)

**Eucariota o Eukarya.** En este grupo se encuentran los microorganismos de los reinos Protista, Fungí, Plantas y Animal, estos últimos los más recientes desde el punto de vista evolutivo.

El grupo más antiguo se caracteriza por poseer estructuras más sencillas y no tener organelos celulares como las mitocondrias, en algunos casos presentan deficiencias metabólicas y son parásitos patógenos de los animales.

En este dominio se encuentran los microorganismos fotótrofos, distribuidos en diferentes ambientes (acuáticos y terrestres). Además, se consideran como productores primarios muy importantes en la naturaleza. De igual manera, los hongos cumplen una función importante en la biodegradación y reciclamiento de materia orgánica en distintos ambientes. A excepción de los hongos mucosos, los dos grupos tienen paredes celulares. Caso distinto a los protozoos, que carecen totalmente de pared celular y presentan movilidad. Su principal nicho de vida es el acuático y entre este grupo se tiene muchos patógenos (Tortora et al., 2007).

Dentro del árbol filogenético especies como tricomónadas, microsporidios o diplomónadas son los más antiguos y los etazoos son los más evolucionados. Los hongos son un grupo reciente, con la excepción de oomicetos, mientras que las algas son más numerosas y están en diferentes linajes (M. Rodríguez, 2016).

El establecimiento o determinación de las relaciones filogenéticas (evolutivas) entre los microorganismos, de acuerdo con lo mencionado por (Piña-López, 2014), se realiza mediante “una serie de métodos basados en comparaciones de la secuencia de ácidos nucleicos, particularmente en la secuencia del ARN ribosómico (ARNr), esto es, el ARN estructural del ribosoma que constituye la estructura clave de la célula implicada en la traducción del ARN” (p. 19).

A partir de estudios sobre secuencias de ARN ribosómico se definieron, los tres grupos o dominios de los cuales dos presentan estructura procariótica (Eubacteria, Archeobacteria) y uno estructura eucariótica (Eucariota). Eubacteria y Archeobacterias a pesar de que a nivel molecular son procariotas que difieren evolutivamente entre sí y entre el grupo eucariota.

Históricamente los tres grupos se originaron muy pronto en la tierra mediante un ancestro común, pero los dominios Eubacteria y Archeobacteria nunca evolucionaron más allá del nivel microbiano (Piña-López, 2014).

## 2.2 Principales grupos del dominio arqueobacteria

Dentro del dominio se encuentran bacterias sin peptidoglicano en la pared celular, pero que pueden vivir bajo condiciones extremas, presentan lípidos especiales en sus membranas (con enlaces de tipo éster en forma de monocapas). La secuenciación genómica de algunas arqueobacterias permite ubicarlas a otros 2 dominios por presentar más de un 50% de genes exclusivos (Cavicchioli, 2011).

La clasificación reciente divide a este grupo en dos reinos diferentes: Euryarchaeota y Crenarchaeota, estas últimas se conocen como termoacidófilas, dentro del grupo está el género *Sulfolobus*, que tiene la capacidad de sobrevivir entre 70-75°C y con un pH de 2-3.

Las bacterias Euryarchaeota incluye como representante a las metanógenas, que producen metano y son anaerobias estrictas, dentro de este grupo se destaca la bacteria *Methanopyrus* habitante de los volcanes submarinos a una temperatura de 110°C (crece mejor a temperaturas de 98°C, pero no tan bien a temperaturas inferiores a los 84 °C).

En las Euryarchaeota también se hallan el grupo halófitas extremas que se caracterizan por poseer carotenos rosados, factor que ayuda a su visibilidad en altas concentraciones. Este tipo de bacterias crecen en ambientes salados que pueden alcanzar un pH de 11.5, medio tan alcalino como el amoníaco doméstico. Parece ser que estas condiciones a las que están adaptadas estas bacterias eran similares a las condiciones primitivas del planeta (Sánchez-Contreras & González-Flores, 2017).

## 2.3 Principales grupos del dominio eubacteria

Muchos de los procariotas actuales pertenecen a este grupo. Se destacan los siguientes grupos:

### 2.3.1 Proteobacterias

Es un grupo numeroso del dominio Eubacteria. Incluye bacterias púrpuras Gram-negativas. Las proteobacterias se dividen en 5 clases designadas con letras griegas: Alfaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria.

- » **Alfaproteobacterias** → Incluye la mayor parte de las proteobacterias que se desarrollan en baja concentración de nutrientes. Algunas presentan morfología inusual con pedúnculos o brotes conocidos como prostecas. Incluye bacterias de gran importancia en agricultura por su capacidad de inducir la fijación de nitrógeno en simbiosis con las plantas y algunos microorganismos patógenos para las plantas y los humanos. En este grupo se destacan: *Azospirillum*, *Acetobacter*, *gluconobacter*, *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Caulobacter*, *Hyphomicrobium*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Brucella*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Bartonella*, *Wolbachia* (figura 7).

**Figura 7**  
**Nódulo de *Rhizobium* en tréboles.**



Fuente: <http://www.madrimasd.org> (2010)

- » **Betaproteobacterias** → Estas bacterias usan a menudo los nutrientes que se difunden después de la descomposición anaerobia de materia orgánica tales como el gas hidrogeno, amoniaco y metano. En este grupo hay varias bacterias patógenas. Ejemplos de Betaproteobacterias son: *Thiobacillus*, *Spirillum*, *Burkholderia*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Zoogloea*.
- » **Gammaproteobacterias** → Son el segundo grupo más grande de proteobacterias e incluye una gran variedad de especies con distintas fisiologías. En este grupo se mencionan: *Beggiatoa*, *Serratia*, *Francisella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azomonas*, *Moraxella*, *Yersinia*, *Legionella*, *Coxiella*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Haemophilus* y *Klebsiella*.
- » **Deltaproteobacterias** → Incluye algunos microorganismos que son predadores de otras bacterias y algunas bacterias que intervienen en el ciclo del azufre. En este grupo se destacan: *Bdellovibrio*, *Desulfovibrio*, *Myxococcus*.
- » **Epsilonproteobacterias** → Se trata de bacilos Gram negativos delgados, helicoidales o vibrioides. En este grupo se pueden citar: *Campylobacter* y *Helicobacter*.



### **2.3.2 Cianobacterias (algas verdeazuladas).**

Se trata de bacterias procariotas, aunque erróneamente se piense que son algas eucariotas por ocupar los mismos nichos ambientales. Llevan a cabo procesos de fotosíntesis con producción de oxígeno (oxigénicas) como lo hacen las plantas y algas eucariotas. Presentan una membrana interna llamada tilacoides, siendo este el lugar para los pigmentos fotosintéticos. Junto a lo anterior, tiene el pigmento ficocianina, que ayuda al color verdeazulado de estas. Forman grandes colonias filamentosas. La aparición de cloroplastos en células eucarióticas proviene de cianobacterias endosimbióticas. Muchas de ellas fijan nitrógeno de la atmósfera.

Las especies que se desarrollan en el agua poseen vacuolas de gas permitiéndoles flotar en búsqueda de mejores condiciones, mientras que las que habitan en superficies sólidas utilizan mecanismos de deslizamiento (Tortora et al., 2007).

### **2.3.3 Espiroquetas**

Pertenecen al grupo de bacterias Gram negativas, con longitudes de 5 y 500  $\mu\text{m}$  y diámetros de 0,1-0,6  $\mu\text{m}$ , con morfología de espirilos flexibles, tienen una forma especial de flagelo (flagelos periplasmáticos) adaptado al medio viscoso en el que habitan como el fango y las mucosas. Según la especie, las espiroquetas pueden tener de 2 a 100 flagelos por célula. Son organismos quimioheterótrofos, un alto porcentaje son anaerobios con vida libre, aunque algunos son parásitos. En este grupo se destacan: *Leptospira interrogans*, produce leptospira; *Borrelia burgdorferi*, causa la enfermedad de Lyme y *Treponema pallidum*, que causa la sífilis (Tortora et al., 2007).

### **2.3.4 Clamidias**

Es un grupo de bacterias pequeñas, que son parásitos intracelulares. Se caracterizan por poseer pared celular carente de peptidoglicanos y tiene una membrana externa parecida a las bacterias Gram negativas. Posee períodos complejos y causan varias enfermedades, entre las que se encuentran que *Chlamydia trachomatis*, que provoca el tracoma, que produce ceguera en los pacientes; también linfogranuloma venéreo y *C. psittaci*, que es una enfermedad zoonótica.



### 2.3.5 Firmicutes

Aunque generalmente son incluidas en el grupo de bacterias Gram positivas. Igualmente se encuentran bacterias Gram negativas y algunas sin pared. Otras poseen endospora, como *Bacillus* y *Clostridium*.

*Clostridium botulinum* produce una toxina que ocasionan el botulismo, su toxicidad es alta, con 1 µg de toxina puede producir la muerte de una persona. En este grupo, también se encuentra *Staphylococcus* sp., incluye bacterias abundantes en el cuerpo humano, que producen forúnculos y otros problemas en la piel. En este grupo, *S. aureus* es el microorganismo más representativo; se encuentra en el adulto norma, entre un 20 a 40% y en algunos casos afecta la piel, produce problemas respiratorios, infección en heridas y problemas intestinales. Los actinomicetos establecen un complicado sistema de filamentos ramificados que son similares a los formados por hongos. Este grupo generalmente vive en el suelo y tiene especies de importancia para la medicina, ya sea como organismos patógenos, tal es el caso de *Mycobacterium tuberculosis*, que provoca la tuberculosis, así como organismos benéficos como *Streptomyces* que produce antibióticos (Mirando, 2016).

## 2.4 Principales grupos del dominio eucariota

Dentro de este dominio se encuentran los protoctistas y los hongos.

### 2.4.1 Protoctistas.

Su organización es típica de células eucarióticas, pueden ser coloniales o unicelulares, que tienen diferenciación tisular.

- **Protozoos.** Este grupo está formado por cerca de 800.000 organismos eucariotas unicelulares. El cuerpo del protozoo es de forma esférica u ovoide con un tamaño que varía entre 3 micras y milímetro, y se sostiene a través de un exoesqueleto denominado "Testa" o por medio de un "Citoesqueleto interno" (Tortora et al., 2007).

En general se trata de organismos móviles, heterótrofos, aunque dentro del grupo se incluyen especies fotosintéticas, en las que se encuentran los fitoflagelados. Presentan locomoción a través de pseudópodos, flagelos o cilios con excepción en algunos parásitos que lo hacen por flexión. La reproducción de los protozoos es asexualmente, tanto por esporulación como por escisión binaria. Por otra parte, los ciliados se multiplican por conjugación o fenómeno mediante el cual hay una fisión temporal de 2 individuos para intercambio de ADN.

- **Algas microscópicas.** Pertenecen a los fotoautótrofos eucariotas, que poseen cloroplastos, dentro de este grupo las formas unicelulares se consideran protistas, ya que especies marinas grandes (30 cm de longitud) no se incluyen. La mayoría de sus especies microscópicas tiene flagelo para desplazarse, con excepciones en las diatomeas que usan valvas o caparazones silíceos. Hay pocas que no poseen pared celular, la celulosa o la quitina son los principales

polímeros. Aunque algunos polímeros carbonados de reserva tienen mucha variación y pocos grupos sintetizan el almidón (Universidad de Extremadura (UEX), 2012).

- **Hongos mucosos.** Estos organismos son eucariotas y heterótrofos con un complejo ciclo de vida. Tienen características de protozoarios y de hongos, ya que se desplazan como los primeros y producen esporas como los segundos. Normalmente se encuentran en el suelo sobre material vegetal en descomposición, pudiendo alimentarse de otro tipo de microorganismos como las bacterias (Murray et al., 2020).

Los hongos mucosos se dividen en hongos mucosos acelulares como los plasmodios (protoplasmas) con formas vegetativas como *Hemitrichia clavata* y hongos mucosos celulares que presentan células aisladas similares a la ameba (*Dictyostelium discoideum*).

#### 2.4.2 Hongos

Son eucariotas, ya sean filamentosos o unicelulares, su nutrición es heterótrofa, originan enzimas extracelulares que tienen la capacidad de hidrolizar complejos polímero en sustancias sencillas; típicamente son saprofitos por lo que son fundamentales en el ciclaje de nutrientes. No son fotosintéticos y su pared celular contiene quitina y utilizan el glucógeno como reserva.

El grupo de hongos se distribuye ampliamente por los diferentes hábitats, no obstante, la mayoría se encuentran en el suelo y en materia orgánica en descomposición. Se caracterizan por crecer en ambientes ácidos, con altas concentraciones de azúcar y de sal, pueden sobrevivir condiciones extremas como temperatura baja y el proceso de desecación. Dentro del grupo se encuentran levaduras y mohos. La mayoría de los hongos presentan un micelio vegetativo, que está formado por hifas o filamentos simples, o ramificados, que permiten la absorción de nutrientes (Martínez-Miranda & Díaz-Arango, 2016).

Presentan reproducción sexual o asexual y en algunos casos por gemación. Obtienen el alimento de la materia orgánica. Los hongos

segregan enzimas que le permiten descomponer las grandes moléculas orgánicas a unas más sencillas (minerales, iones, azúcares, etc.) y posteriormente absorbe estos nutrientes mediante las hifas, esta es la razón por la cual a los hongos se les considera heterótrofos por absorción (Tortora et al., 2007).

Los hongos se clasifican en cuatro filos principales: Ascomycetes (*Ascomycota*), Basidiomycetes (*Basidiomycota*), Oomicetes (*Oomycota*) y Zigomicetes (*Zygomycota*) formando el siguiente conjunto de individuos: ascosporas, basidiosporas, oosporas, y zigosporas. Varias especies son colocadas en un quinto filo: los deuteromicetes (*Deuteromycota*) conocidas como hongos imperfectos. Este último filo está los hongos con multiplicación vegetativa. Sin embargo, estas especies son emparentadas con los ascomycetes (Luna-Fontalbo, 2012).

Según las enzimas producidas la variedad de formas de vida y sustratos orgánicos es muy amplia, pero los tipos básicos son:

- 1. Saprótrofos:** Hongos que consiguen su alimento de materia orgánica inerte, como los hongos que viven en la hojarasca del bosque.
- 2. Biótrofos:** Son parásitos obligados, por lo que su alimento lo obtiene de los animales huésped, aunque este proceso es lento, para evitar matarlos. Generalmente separan compuestos químicos que afectan la membrana celular del huésped para que libere aminoácidos y azúcar, que luego pueden ser absorbidos por el hongo.
- 3. Necrótrofos:** Estos hongos atacan a su huésped de manera tan virulenta que suelen matar al organismo huésped. Esto lo logran a través de la segregación de toxinas que rompen la membrana plasmática, lo que trae la muerte del organismo. Inicialmente segregan toxinas para romper las membranas plasmáticas, lo que libera los nutrientes de esta al medio, el hongo los absorbe en el ambiente. Inicialmente cumplen una función de parásitos facultativos y finalmente cuando el animal está muerto se convierten en saprótrosos. Son hongos patógenos de plantas y animales (Cavicchioli, 2011).
  - **Mohos.** Se caracterizan por crecer en materia orgánica en descomposición. La característica fundamental es que están constituidos por muchos filamentos microscópicos capaces

de crecer longitudinalmente y de ramificarse con el propósito de crear una estructura macroscópica, cada filamento se conoce como Hifa y el conjunto de hifas como micelio. Las hifas de la mayoría de los hongos miden entre 5 y 20  $\mu\text{m}$  de diámetro y su altura oscila entre unos cuantos micrómetros hasta varios metros dependiendo de la disponibilidad de nutrientes y el tipo de hongo. Se reproducen mediante esporas o reproducción sexual (Tortora et al., 2007).

- **Levaduras.** Pertenecen a un grupo especial de hongos unicelulares que no forman micelios, viven en medios con altos niveles de azúcar y se pueden reproducir sexual y asexualmente, la primera por esporas y la segunda por gemación. Incluye diversos grupos, entre ellos algunos de interés industrial como la elaboración de bebidas alcohólicas, bebida que se produce por la fermentación de los azúcares que realiza el género *Saccharomyces*.

Las células de levadura son relativamente grandes en comparación con una bacteria común, este varía puede llegar a 5  $\mu\text{m}$  de ancho y entre 5 - 30  $\mu\text{m}$  de largo, con un diámetro entre 3 y 8  $\mu\text{m}$ . Generalmente presentan forma ovoide, aunque pueden encontrar en forma de limón, alargadas, algunas triangulares y otras esféricas. Son sensibles a la temperatura, por lo que su temperatura adecuada esta entre 25 y 30°C, su pH óptimo esta entre 4 a 4.5

Las levaduras son organismos fermentadores, se encuentran principalmente en el suelo, aunque también se los observa en las plantas, desde donde son transportados a los frutos a través de las aves, los insectos y el polvo. Existe una gran variedad de levaduras, con diferente aspecto, reproducción y forma de transformar el azúcar. Entre ellas encontramos *Hanseniaspora uvarum*, *Saccharomyces ellipsoideus* y *Kloeckera apiculata* (M. Rodríguez, 2016).

## 2.5 Nomenclatura

### 2.5.1 Clasificación de las Bacterias

Se debe hacer una diferencia entre los conceptos de nomenclatura y taxonomía, ya que la primera es solo asignar el nombre del microorganismo con las claves que ofrece la taxonomía.

La identificación y clasificación rápida de los microorganismos es importante en la determinación de organismos causantes de enfermedades tanto en humanos como en animales, ya que de ello dependerá el tratamiento a seguir. Para esta rápida clasificación se han empleado tanto características celulares como filogenéticas.

Pero actualmente estudios profundos de estructura y función de un microorganismo entre los que se detalla el comportamiento, el metabolismo y la genética, se puede identificar características únicas de un organismo determinado para su identificación. Luego de la identificación recibe el nombre de acuerdo a las normas propuestas por el Sistema binomial de nomenclatura, que fue propuesto por Linneo para la designación de plantas y animales.

Este sistema (binomial) se compone de dos nombres: género y especie. El primero se aplica a organismos relacionados y el segundo especifica la especie. Ambos nombres son usados en la descripción de un tipo de microorganismo, ya sea este de una o varias (grupo) de células. El género se debe escribir en mayúscula inicial y el segundo en minúscula, ambos se escriben en cursiva. Para ello, proponemos el siguiente ejemplo: *Lactobacillus lactis*, que se puede abreviar así: *L. lactis*. Al respecto, *Lactobacillus* pertenece al género y *lactis* a la especie (Black & Black, 2018).

Un ejemplo para la clasificación de microorganismos, tomada de (Piña-López, 2014): *bacteria Neisseria meningitis*:

<b>Dominio</b>	Eubacteria
<b>Reino</b>	Mónera
<b>Phylum</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	β proteobacteria
<b>Orden</b>	Neisseriales
<b>Familia</b>	Neisseriaceae
<b>Género</b>	Neisseria
<b>Especie</b>	Neisseria meningitis

De acuerdo con (Gómez, 2010) “Las reglas y métodos del sistema de Nomenclatura bacteriana se encuentran en el Código Internacional de Nomenclatura bacteriana”.

El grupo taxonómico se establece adhiriendo el sufijo correspondiente, ejemplo:

<b>GRUPO TAXONÓMICO</b>	<b>SUFIJO</b>	<b>EJEMPLO</b>
<i>Orden</i>	- <i>ales</i>	<i>Pseudomonales</i>
<i>Familia</i>	- <i>aceae</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Tribu</i>	- <i>eae</i>	<i>Pseudomonadeae</i>
<i>Género</i>		<i>Pseudomonas</i>

La mejor referencia que existe para identificar, clasificar y nombrar (nomenclatura) las bacterias es el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, que se conoce como Manual de Bergey, publicación que se hace progresivamente y que incluye todas las especies de bacterias conocidas hasta la última edición. Se caracteriza por poseer un análisis filogenético apoyado en la secuenciación del ARNr, ADN y las proteínas (Zaffiri et al., 2012).



## 2.5.2 Clasificación de los Hongos

La identificación de hongos filamentosos se basa en rasgos morfológicos y estructurales (tabla 2). Dado que suelen tener apariencia muy característica pueden identificarse fácilmente, pero se debe observarlo al microscopio para apreciar bien sus características. En la identificación se tiene los siguientes elementos:

- Ramificaciones
- Tipo de esporas
- Presencia o ausencia de septos
- Morfología de las hifas
- Características de las colonias, las que se estudian macroscópicamente (Ferreira-Saavedra, 2008)

Para clasificar las levaduras se usa pruebas bioquímicas con el sustrato principalmente de carbohidratos (Buchholz & Collins, 2013).

**Tabla 2.**

**Esquema taxonómico para clasificación de hongos**

<b>DIVISIÓN</b>	<b>ESPORAS ASEXUALES</b>	<b>ESPORAS SEXUALES</b>	<b>MICELIO</b>	<b>EJEMPLOS</b>
<i>Zigomycota</i> (Zigomicetos)	<i>Endógenas</i> (En sacos)	<i>Oosporas</i> <i>Zigosporas</i>	<i>Cenocítico</i>	<i>Rhizopus</i> <i>Mucor</i>
<i>Ascomycota</i> (Ascomicetos)	<i>Exógenas</i> (en las puntas o lados de las hifas)	<i>Ascosporas</i>	<i>Septado</i>	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Levaduras</i>
<i>Basidiomycota</i> (Basidiomicetos)	<i>Exógenas</i> (en las puntas o lados de las hifas)	<i>Basidiosporas</i>	<i>Septado</i>	<i>Setas</i> <i>Royas</i> <i>Tizones</i>

<b>DIVISIÓN</b>	<b>ESPORAS ASEXUALES</b>	<b>ESPORAS SEXUALES</b>	<b>MICELIO</b>	<b>EJEMPLOS</b>
<i>Deuteromycota (Deuteromicetos, hongos imperfectos)</i>	<i>Exógenas (en las puntas o lados de las hifas)</i>		<i>Septado</i>	<i>La mayoría de los patógenos de humanos y animales</i>

Fuente: Puigdomenech (2009), p. 12.

### 2.5.3 Clasificación de los virus

Los virus, de acuerdo con el tipo de célula que infectan, se clasifican en:

- a. Virus de plantas
- b. Virus de animales
- c. Virus de bacterias o bacteriófagos (Ovales-Urgel, 2013)

Para la clasificación de virus importantes para animales y el hombre se observa estas características:

**Primarias.** Constituidas por la organización de la cápside (1), la estructura del ácido nucleico (2) y la presencia de transcriptasa (3). Para la primera, se determinan el tamaño y forma de la partícula viral, la presencia de cubierta lipídica, la simetría de la nucleocápsida y el número de capsómeros. En el caso de la segunda, se evalúan el tipo y peso molecular del ácido nucleico, el número de cadenas y genes (aproximado).

**Secundarias.** Entre estas tenemos el tipo de huésped (la especie y el tejido que usa), las características inmunológicas y el modo de transmisión.

Los virus se nombran de acuerdo con la enfermedad que producen y no como se hace con los seres vivo. Ejemplo el virus del sarampión (Ovales-Urgel, 2013).

## 2.6 Criterios de Clasificación de las Bacterias

En general las bacterias pueden clasificarse desde varios puntos de vista:

### 2.6.1 Fenética o Numérica

Usa las características fenotípicas de la bacteria como el tipo de tinción en Gram, la tolerancia al oxígeno, el tipo de azúcar que fermenta, la morfología entre otras. No tiene en cuenta la filogenia o relación evolutiva.

Los organismos se agrupan de acuerdo a su similitud global, ubicándose un determinado organismo en el grupo que tenga la mayor cantidad de características en común. A cada característica se le asigna un valor, que es igual para todas. Dado que el número de especies y de características a evaluar es muy elevado se requiere de programas informáticos específicos (Woese et al., 1990).

Luego de realizar el análisis de caracteres, se calcula, un coeficiente de asociación para cada par de cepas del grupo, lo anterior termina la concordancia con caracteres que están presentes en ambas bacterias y que pueden ser de dos tipos:

- Coeficiente de emparejamiento simple (SSM): proporción de factores concordantes tanto positivos (+) como negativos (-).
- Coeficiente de Jaccard (SJ): únicamente usa las concordancias positivas.

Los dos coeficientes incrementan en forma lineal a partir de 0 (no hay correspondencia hasta 1,0 (Correspondencia total) (Saavecra, 2015).

Los coeficientes permiten crear una matriz de semejanza, que finalmente se transforma en un DENDOGRAMA o FENOGRAMA,

el cual establece los resultados de parentesco de los organismos estudiados (Bushman et al., 2019).

### 2.6.2 Filogenética

Utiliza las relaciones evolutivas, en bacterias con abundantes fósiles para verificar su evolución.

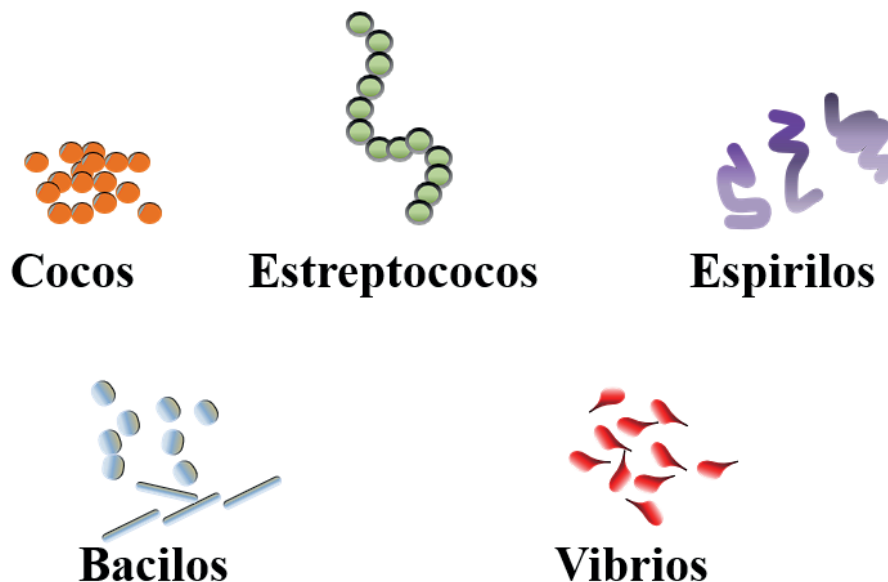
Actualmente se usa el material genético ARN y proteínas como los productos que permite mejorar la interpretación.

Pero también pueden tenerse en cuenta unos determinados criterios de clasificación entre los cuales se mencionan:

### 2.6.3 Por su Forma (Morfología y Agrupación)

Forma de clasificación más antigua, divide a los organismos en cocos, bacilos, espirilos y espiroquetas (figura 8).

**Figura 8**  
**Clasificación morfológica de las bacterias**



*Fuente: Elaboración Propia.*

- **Cocos o micrococos.** Tienen tamaños variables, aunque su tamaño suele estar entre 0.4 y 1.0 micras de diámetro, la mayoría son aerobios estrictos. Algunas se agrupan, dependiendo de esta se los nombra como diplococos (dos bacterias), tetracocos (grupos de cuatro). De igual manera, la forma como se alinean las bacterias, cuando es lineal se denomina estreptococos, estos son importante en la producción de leche ácida y otros fermentos. Cuando el proceso se hace de manera irregular, dando la forma de racimos, lo que se conoce como estafilococos.
- **Bacilos.** Se caracterizan por tener forma de bastoncillos, se encuentran en grupos de dos (diplobacilos), o cadenas parecidas a los cocos (estreptobacilos. Los bacilos presentan tamaños muy variables, hay algunos tan pequeños que se confunden con los cocos, otros intermedios (0,5 a 1,5 micras de longitud) y los bacilos propiamente dichos (3.0 a 4.0 micras de longitud). El género más representativo de esta morfología lleva el nombre *Bacillus*, que forma endosporas. Pueden producir antibióticos como polimixina, gramicidina y bacitracina. Estos compuestos se utilizan como biocontroladores de plagas con importancia económica, especialmente aquellos que son parásitos. En este grupo de bacterias se pueden mencionar: *B. anthracis*, *B. cereus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *E. Coli*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Pasteurella*, *Brucella*.
- **Vibrios o vibriones.** Estas bacterias tienen una sola curvatura tomando la forma de espirales incompletos, muy similar al símbolo de una coma gramatical. Su tamaño oscila entre 0.5 x 1.5 a 3 micras. Se caracterizan por ser organismos anaeróbicos facultativos fermentadores, su fisiología y metabolismo es semejantes a las enterobacterias. En este grupo tenemos a *Vibrio cholerae*, causante del cólera: se transmite por el agua y se aloja en el intestino originando lisis enzimática de las mucosas intestinales y una gran pérdida de agua del cuerpo.
- **Espirilos.** Microorganismos en forma bacilar e helicoidal, que posee flagelos móviles, que pertenecen al grupo de las Gram negativas. En la clasificación taxonómica se usa criterios como forma, flagelo, tamaño y simbiosis. Los espirilos se asemejan

a las espiroquetas, pero se diferencian porque tienen flagelos. En este grupo encontramos especies patógenas, al igual que benéficas. A este grupo pertenecen *Helicobacter*, *Spirillum volutans*, *Treponema pallidum*, *Azospirillum lipoferum* (Ortega-Pacheco, 2005).

- **Espiroquetas.** Se caracterizan por ser flexibles, filiformes y largas que forman espirales con diez o más vueltas. Su longitud se encuentra entre 5 y 500  $\mu\text{m}$  con un diámetro de 0.1-0.6  $\mu\text{m}$ . Algunos poseen flagelo en sus extremos. Al respecto, se menciona que “habitualmente se hallan en ambientes acuáticos o en el cuerpo de animales. El cilindro protoplásmico de estas células se encuentra rodeado por una membrana de tres capas conocida como cubierta celular externa, además poseen una estructura única que le permite la movilidad llamada filamento axial, compuesta de un flagelo que atraviesa el cuerpo celular y se sitúa entre la pared delgada flexible y la envoltura externa. Las espiroquetas pueden encontrarse como parásitos en humanos mientras otras viven libres en agua o madera” (Universidad Nacional de Colombia 2004, p. 3). Ejemplo *Leptospira*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia recurrentis*.

#### 2.6.4 Por su Alimentación

Según el tipo de alimentación las bacterias se clasifican como:

- **Bacterias autótrofas:** El término autótrofo procede del griego y significa “que se alimenta por sí mismo”. Se trata de bacterias que fabrican sustancia orgánica con energía solar.

Las bacterias autótrofas pueden ser de dos tipos: los quimiosintéticos, que consiguen la energía mediante oxidación de compuestos inorgánicos, se caracteriza por absorber sustancias simples como agua, compuestos orgánicos y dióxido de carbono del hábitat para crear sustancias más complejas. El otro grupo son las cianobacterias o fotosintéticos, como su nombre lo dice realizan fotosíntesis en forma parecida a las algas o plantas (Curtis & Barnes, 2000).

- **Bacterias heterótrofas:** Se alimentan de sustancias que fabrican otros microorganismos, al igual que lo hacen los animales. La consecución de este alimento se puede realizar de las siguientes maneras:
  - **Bacterias saprofitas.** Usan materia orgánica en descomposición. Su importancia en la naturaleza es alta, ya que permiten el reciclaje de los nutrientes que se encuentran en los cadáveres.
  - **Bacterias parásitas.** Se caracterizan por vivir a expensas de otro organismo y que causa enfermedad en los mismos, como ejemplo tenemos *Clamidias, Ricketsia*.
  - **Bacterias simbióticas.** A diferencia del anterior, la relación entre este grupo de bacterias y el organismo huésped es benéfica, permitiendo una ayuda mutua entre los organismos actuantes. Como ejemplos importantes tenemos el sistema digestivo de los rumiantes, donde los microorganismos presentes en el rumen ayudan a la desintegración del material fibroso presente en los forrajes, mientras que el rumiante establece condiciones óptimas para el desarrollo de las bacterias.

Algunas bacterias heterótrofas pueden causar enfermedades, otro grupo tiene bajo efecto o casi nada en el organismo huésped, mientras que otras son benéficas. Los rumiantes pueden utilizar celulosa debido a que en sus estómagos existen protistos y bacterias con enzimas capaces de digerir la celulosa (Ramírez-Mora, 2016).

- **Bacterias de la fermentación.** se caracterizan por utilizar en sus procesos metabólicos la fermentación de distintas sustancias. Generalmente los organismos más empleados en estos procesos son las bacterias, aunque también se emplean algunos hongos y bacterias.

Durante el proceso de fermentación, las moléculas glucosídicas se oxidan en ausencia de oxígeno para obtener más pequeña con algo de energía que la emplea la bacteria para su supervivencia.



La industria láctea hace uso de las fermentaciones bacterianas en la fabricación de productos derivados de la leche. De igual manera, las fábricas de encurtidos, así como la fabricación de vinagre; y las que emplean hongos y levaduras en la producción de pan y la fabricación de bebidas alcohólicas.

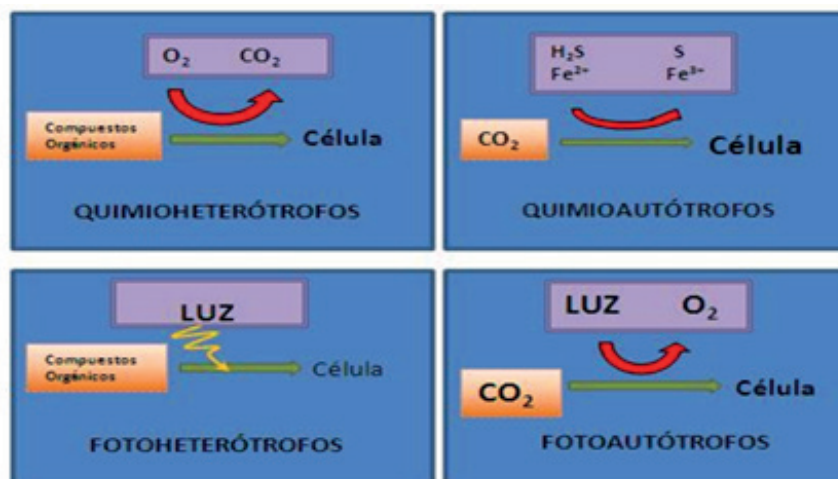
En este grupo se destacan *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus* (*Enterococcus*, *Vagococcus*, *Lactococcus*), *Propionibacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* (Luna-Fontalbo, 2012).

### 2.6.5 Según su fuente de energía

La mutabilidad metabólica de las bacterias les permite un éxito en el ambiente, y con ello evolutivo (figura 9). Las bacterias se caracterizan por tener todos los mecanismos para el uso de la materia y la energía. Dependiendo de la forma de obtener energía, las bacterias al igual que los animales se clasifican en fotótrofos (usan la luz) y quimiótrofos (usan compuestos químicos). A partir de esta variada forma de obtención del alimento se encuentra la siguiente clasificación:

- **Bacterias quimioheterótrofas.** Se caracterizan por utilizar compuesto químico como fuente de carbono, al igual que como fuente de energía. Un alto porcentaje de estas bacterias se cultivan en laboratorio y muchas de las bacterias patógenas pertenecen a este grupo.
- **Bacterias quimioautótrofas.** Se caracteriza por sacar energía de los compuestos inorgánicos reducidos y obtener el carbón del CO<sub>2</sub>. En esta categoría están el *Nitrobacter* y el (R. Fernandez, 2007).
- **Bacterias fotoautótrofas.** Como su nombre los indica, usan la energía solar como fuente de energía y el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono. En este grupo encontramos todas las bacterias fotosintéticas (algas, bacterias verdes, púrpura y cianobacterias).

**Figura 9**  
**Clasificación de las bacterias según su alimentación y fuente de energía.**



Fuente: Elaboración Propia.

- **Bacterias fotoheterótrofas.** Se caracterizan por el uso de la luz como energía, pero sin la conversión de dióxido de carbono en azúcar, este último lo obtienen de ácidos orgánicos, alcoholes y ácidos grasos. En este grupo se encuentran las bacterias de los géneros *Chloroflexus* y *Rhodospseudomonas*.

Las bacterias que utilizan sustratos minerales se denominan litótrofas y las que emplean un sustrato orgánico, organótrofas. Por otra parte, las bacterias que se alimentan a expensas de materia orgánica se clasifican como quimioorganótrofas.

Algunas bacterias necesitan otras sustancias específicas como los factores de crecimiento, estos son elementos necesarios para su crecimiento; a este grupo se le denomina autótrofas, y las que sintetizan todos sus metabolitos se denominan protótrofas (Collard, 1976).

## 2.6.6 Según Tinción de Gram

La tinción de Gram es un tipo de tinción empleado en microbiología para la visualización de las bacterias. Esta tinción ha sido usada hace mucho tiempo y se basa en la capacidad de retención del colorante iodo violeta en la pared celular. Al respecto, las denominadas bacterias Gram positivas poseen la capacidad de retener el colorante y verse teñidas de color violeta y las Gram negativas no lo puede hacer, por lo que su color al microscopio es rojo (Tobón & Hoyos, 2020).

A continuación, se describen las diferencias moleculares entre una Bacteria Gram positiva y una Gram negativa (tabla 3):

**Tabla 3**

### **Diferencias moleculares entre Bacterias Gram + y Gram -**

<b>Bacterias Grampositivas</b>	<b>Bacterias Gramnegativas</b>
<i>Poseen una pared celular interna y una pared de peptidoglucano. *Peptidoglucano: es un exoesqueleto que da consistencia y forma esencial para replicación y supervivencia de la bacteria.</i>	<i>Poseen una pared celular más compleja: -pared celular interna -pared de peptidoglucano - bicapa lipídica externa</i>
<i>No tiene membrana externa</i>	<i>Membrana externa: forma un saco rígido alrededor de la bacteria, mantiene estructura y es barrera impermeable a macromoléculas, ofrece protección en condiciones adversas</i>
<i>No tiene espacio periplasmático</i>	<i>Espacio periplasmático: espacio entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la interna de la membrana externa</i>
<i>La red de mureína está muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas</i>	<i>La red de mureína presenta una sola capa</i>

<b>Bacterias Grampositivas</b>	<b>Bacterias Gramnegativas</b>
<i>La penicilina mata a las Grampositivas, ya que bloquea la formación de enlaces peptídicos entre las diferentes cadenas del peptidoglucano</i>	<i>La penicilina no mata a las Gramnegativas a causa de la capa de lipopolisacaridos situada en la parte externa de la pared celular.</i>
<i>No contiene LPS</i>	<i>Contiene LPS: Estimulador de respuestas inmunes; activa células B, liberación de IL, FNT, IL6 por macrófagos.</i>
<i>En la tinción de Gram retienen la tinción azul</i>	<i>Quedan decoloradas</i>
<i>Conservan el complejo yodocolorante</i>	<i>Pierden el complejo yodocolorante</i>
<i>Son esporulantes y no esporulantes, como Streptococcus, Cisteria, Frankia</i>	<i>Pueden ser aerobios o anaerobios</i>
<i>Poseen otros componentes: ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos</i>	<i>Poseen proteínas con concentrados elevados.</i>

Fuente:<https://121044061153359.blogspot.com/2012/07/bacteriologia-general.html>. (2012)

## 2.6.7 Según el Consumo de Oxígeno

Otro aspecto, que permite la clasificación de las bacterias, es el uso de oxígeno para vivir. Sin embargo, el uso del oxígeno trae como consecuencia la producción de electrones reactivos que necesitan de enzimas peróxido y superperóxidos para ser eliminados. Según lo anterior, se pueden clasificar en:

- **Aerobias estrictas.** Este grupo depende del oxígeno para vivir y multiplicarse. Necesitan que el oxígeno esté disuelto. El tipo de proceso que realizan para la obtención de la energía es la descomposición aerobia u oxidación y se produce con presencia de oxígeno disuelto y no produce olores desagradables (Shamrock Water Treatment, 2003).
- **Anaerobias.** Las bacterias anaerobias son aquellas que se desarrollan en ambientes nulos o con pocos niveles de oxígeno (O<sub>2</sub>) y bajo condiciones de potencial Redox (Eh) muy reducidos (Piña-López, 2014).

La mayoría mueren de manera instantánea cuando son expuestas al oxígeno molecular disponible en la atmósfera, pero la resistencia puede ser muy variable (aerotolerancia). La sensibilidad al O<sub>2</sub> suele variar de una especie a otra, lo que ha permitido clasificarlas en 3 grupos: bacterias microaerófilas, aerotolerantes, facultativos y anaerobios estrictos u obligados.

Su hábitat está limitado a zonas específicas de los animales y el hombre, que permiten menor tensión de oxígeno, como ejemplo tenemos a la boca, en las vías respiratorias, vagina e intestino (colon, recto y heces) .

- **Anaerobias estrictas.** Crescen en ausencia de oxígeno y pueden utilizar aceptores distintos al oxígeno (H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>) y en otros casos su metabolismo es estrictamente fermentativo.
- **Aerotolerantes.** Como su nombre lo indica, se desarrollan en ambientes que pueden tener exposición a condiciones aerobias y anaerobias, las primeras en cortos periodos de tiempo, desarrollándose mejor en ambientes anaerobios. Estos organismos pueden vivir hasta con un 8% de oxígeno, pero carecen del metabolismo para usarlo. Este grado de tolerancia se debe a la presencia de enzimas peroxidado, superóxido dismutasa (SOD) y catalasa, que ayudan a disminuir la toxicidad de los radicales libres.
- **Anaerobias Facultativas.** Este tipo de microorganismos toleran la presencia de oxígenos, por lo que pueden crecer en condiciones anaeróbicas y aeróbicas, aunque predominan en las primeras condiciones. Generalmente no requieren oxígeno para desarrollarse, pero lo pueden usar de manera eficiente si así se requiere. Utilizan el oxígeno como aceptor final de electrones.
- **Microaerófilas.** Crecen en bajas tensiones de oxígeno (menos del 12%) y con alta tensión dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Se desarrollan mejor en un rango de oxígeno entre 2-10% (Piña-López, 2014).

## 2.6.8 Según su óptimo de temperatura

Esta propiedad física es un ingrediente que afecta notablemente el desarrollo y la vida de las bacterias. Todo organismo tiene una temperatura determinada para crecer, además hay un rango óptimo donde se produce el mayor crecimiento (Mora-Guevara et al., 2016). De acuerdo a la temperatura óptima de su crecimiento se pueden clasificar en:

- **Termófilas:** La temperatura óptima de crecimiento es muy alta. Se desarrollan entre 50 y 60°C. Este tipo de bacterias se encuentran en fuentes termales y ambientes de temperatura elevada.

Los hipertermófilos crecen por encima de los 85°C. De estas especies, una de las más resistente es el *Pyrolobus fumarii*, que posee la capacidad de crecer en fumarolas hidrotermales submarinas. Tienen un mejor crecimiento a 105°C y pueden multiplicarse a 113°C. Sin embargo, a una temperatura inferior a los 90°C deja de crecer.

- **Mesófilas:** La temperatura óptima es moderada. Se desarrollan entre 10 y 45°C, siendo la temperatura óptima de crecimiento 25 y 40°C. La mayoría de ellas no puede crecer por encima de los 45°C. La mayor parte de bacterias pertenecientes a este grupo son mesófilos y tienen una amplia distribución en la naturaleza.
- **Psicrófilas:** Presentan una temperatura óptima baja. Se caracterizan por crecer a temperaturas de 0°C o inferiores, pero su rango óptimo se encuentra entre los 15 y 20°C. Se las observa generalmente en las profundidades del mar, donde la temperatura oscila entre 1 y 2°C, en los polos y en zonas localizadas a grandes altitudes.

Son capaces de sobrevivir bajo este tipo de condiciones ya que impiden la formación de cristales de hielo al interior. En este grupo tenemos a *Chlamydomonas nivalis*, este microorganismo es un alga que se desarrolla en zonas de nieve y permite una coloración intensa de rojo o verde. Estas características se deben a su presencia en las capas internas de la nieve donde se encuentra material vegetativo. Bajo condiciones extremas, que afecta su crecimiento, el alga esporula en grandes cantidades y estas son las de coloración rojo. De igual manera, se tiene a *Polaromonas vacuolata*, la cual crece a una temperatura óptima de 4°C.

Un estudio realizado sobre microorganismos psicrófilos encontrado en un túnel de Alaska logró volver a la vida, luego de derretirse el hielo que los cubría. Estos microorganismos lograron sobrevivir congelados por 32.000 años, para iniciar su actividad metabólica después de descongelarlos (Hitchens & Leikind, 1939).

### 2.6.9 Según el pH en que se desarrollan

El pH es fundamental para la reproducción y el metabolismo de este tipo de bacterias. La variación del pH llega a inactivar el metabolismo bacteriano y con ello conseguir la muerte de la bacteria. Según el nivel de pH las bacterias pueden clasificarse en:

- **Acidófilas:** crecen en un pH de 1.0 y 5.0
- **Neutrófilas:** crecen en un pH de 5.5 y 8.5
- **Basófilas:** crecen en un pH de 9.0 y 10.0

### 2.6.10 Según el Potencial de Óxido-Reducción

Este parámetro es importante para el desarrollo de los microorganismos. Mide la capacidad de transferir electrones del medio y el oxígeno disuelto en el medio tiene gran importancia. Para el caso de los microorganismos anaerobios estrictos, su medio debe carecer de oxígeno, pues viven en medios reductores y se inhibe su crecimiento con valores potenciales superiores de -0.100 mV.

Otras bacterias necesitan ambientes oxidantes para su crecimiento, pero otro tipo de bacterias necesitan de ambientes reductores. Lo anterior hace que el metabolismo de ambas llegue a ser muy diferente. En general, las bacterias que tienen un metabolismo oxidativo se caracterizan por requerir un ambiente oxidante, mientras que el otro grupo necesita un ambiente reductor o poco oxidante.

En este grupo, todas las bacterias realizan procesos fermentativos para obtener energía. Aunque su rendimiento es menor al obtenido de los procesos respiratorios (uso del oxígeno): las bacterias y las levaduras producen menos biomasa cuando crecen fermentando que cuando lo hacen respirando.



### 2.6.11 Según la Actividad de Agua (aw)

Los microorganismos necesitan agua, que sea disponible, para desarrollar sus funciones metabólicas. Una de las mejores formas de medir el agua disponible es la actividad de agua (Aw). Para reducir este parámetro (Aw), se debe incrementar la concentración de soluto en fase acuosa sacando agua o adicionando soluto (Espinoza-Vanegas, 2011).

Los hongos y las bacterias entre 0.98 y 0.995 de aw, en valores menores el crecimiento se reduce, con lo que se merma la masa celular y se incrementa la fase de latencia.

Una baja actividad de agua disminuye la mortalidad de las bacterias y ayuda a sobrevivir a los microorganismos durante los tratamientos térmicos (Barreiro, 2013).

- La aw para bacterias está entre 0.90 y 0.99, aunque las xerófilas pueden vivir con valores bajos (0.75).
- La aw para levaduras es mayor a 0.85.
- La aw para hongos filamentosos es mayor a 0.80, lo que le permite deteriorar los alimentos con una baja actividad de agua. Por ello, se puede observar deterioro en quesos o almibares.

Apartir de lo anterior, una reducción en la actividad de agua disminuye el crecimiento bacteriano, por lo que es un factor importante para la industria alimentaria. Por ello, los salazones, salmueras y almíbares hacen que se reduce el deterioro de los alimentos (Piña-López, 2014).

### 2.6.12 Según la Tolerancia a la Sal y Azúcar

Existe un grupo de microorganismos que crecen bajo ambientes con un alto contenido de sal. De acuerdo con su tolerancia a las bajas condiciones de aw se los clasifica holófilos, xerófilos y osmófilos.

- **Osmófilos.** Estos microorganismos pueden vivir en altas presiones osmóticas, ya sea sales o azúcares.

- **Halófilos.** Como su nombre lo indica necesitan concentraciones altas de sal. Alrededor del 30 %. Un ejemplo de ellos son *Halobacterium* y la *Halococcus* que dañan las salazones.
- **Halotolerantes.** También conocidos como halófilos facultativos. Se caracterizan por vivir en altas concentraciones de sal, sin necesitarla para su metabolismo. En este grupo encontramos a *Staphylococcus aureus*.
- **Sacarófilos.** Sobreviven en altas concentraciones de azúcar, como *Saccharomyces* sp.
- **Xerófilos.** Crecen en actividades de agua de 0,75 (seco), como consecuencia de su capacidad de captar altas concentraciones de solutos. Son bacterias que pueden vivir en ambientes extremadamente secos como los desiertos.

#### 2.6.13 Según Métodos Moleculares.

A través de las siguientes técnicas:

- Secuencia de aminoácidos de proteínas con la misma función.
- Movilidad electroforética.
- Hibridación de ácidos nucleicos.
- Comparación de ácidos nucleicos.
- Secuenciación de ácidos nucleicos (Miranda-Lagos, 2016).

## **2.7 Otros organismos de importancia microbiológica**

### **2.7.1 Virus**

Virus significa veneno y su nombre se establece a finales del siglo XVIII, esta sustancia se caracteriza por tener poder patógeno. Luego del descubrimiento de las bacterias, se pudo identificar nuevas formas de organización, mucho más pequeñas, que tenían la capacidad de generar enfermedad. Además, estos podían atravesar los filtros que retenían a las bacterias.

Los virus son entidades no celulares, generalmente con tamaños inferiores al de las bacterias, por lo que su visualización requiere obligatoriamente del microscopio electrónico. Estos microorganismos son capaces de infectar distintos tipos de células en los seres vivos como animales, vegetales y microorganismo (figura 10).

Este grupo esta las entidades replicativas más pequeñas. No se pueden filtrar, dado que atraviesan los filtros. Presentan un tamaño de 20 a 300 nm de diámetro(Puigdomenech, 2009).

Se consideran parásitos intracelulares. Aprovechan la maquinaria metabólica de las células que invaden debido a su incapacidad de multiplicarse por sí mismos (figura 10).

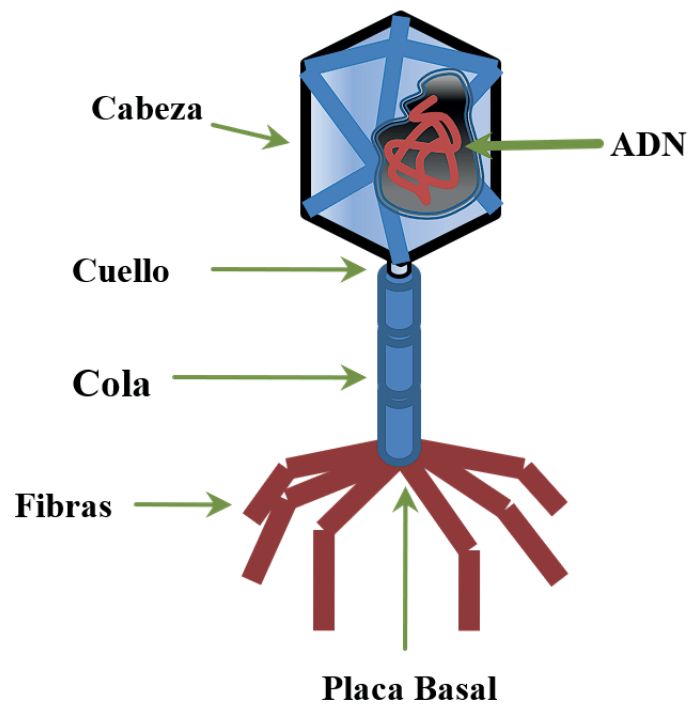
Los virus constan de una sola clase de ácido nucleico (ADN o ARN), tiene la capacidad para codificar diferentes proteínas, entre las que se encuentra las que tienen funciones enzimáticas y estructurales, que se disponen en partículas virásicas, alrededor del material genético, estos forman una estructura denominada cápside. En algunos casos, los virus tienen envoltura externa membranosa.

Los ácidos nucleicos y proteínas están muy organizados, y a su conjunto se le denomina núcleo-cápsula. Se distribuyen de manera

simétrica lo que le permite adoptar varias formas entre las que tenemos:

- a. Icosaedro. Se caracteriza por un poliedro regular con 20 caras planas triangulares.
- b. Helicoide. Su estructura es espiral o helicoidal.
- c. Compleja. No se observa una simetría regular (Pach, 2011).

**Figura 10**  
**Estructura de una partícula vírica.**



*Fuente: Elaboración Propia*

La estructura del núcleo-cápsula permite diversas propiedades que estabilizan la termodinámica y su capacidad de almacenamiento. Las partículas virales se obtienen de la organización física de los virus. Los virus agrupan sus proteínas virales en unidades llamadas protómeros. Las anteriores estructuras pueden formar lo que se denomina capsómeros, que son unidades que se integran a la núcleo-cápsula (Hernández, 2010).

Dentro de un virus la cápsula constituye el 50% del peso total del virus, en ella están los antígenos que desencadenan la respuesta inmunológica en el organismo infectado.

De acuerdo a la forma de penetración de las células, los virus se pueden dividir en dos grupos:

- Virus lisogénico.
- Virus lítico.

El primer grupo (virus lisogénicos) infecta el ADN de la célula huésped incorporando su propio ADN, lo que produce lo que se conoce como profago. Este proceso necesita un estímulo para desencadenar la replicación del material genético del virus, lo que anula la información del ADN del huésped. De esta manera, el virus toma la maquinaria de síntesis de la célula y sus materias primas para sintetizar proteínas víricas. Cuando se maximiza la densidad del virus al interior de la célula se rompe la membrana celular (lisis), lo que deja libres a los viriones para que salgan a infectar nuevas células.

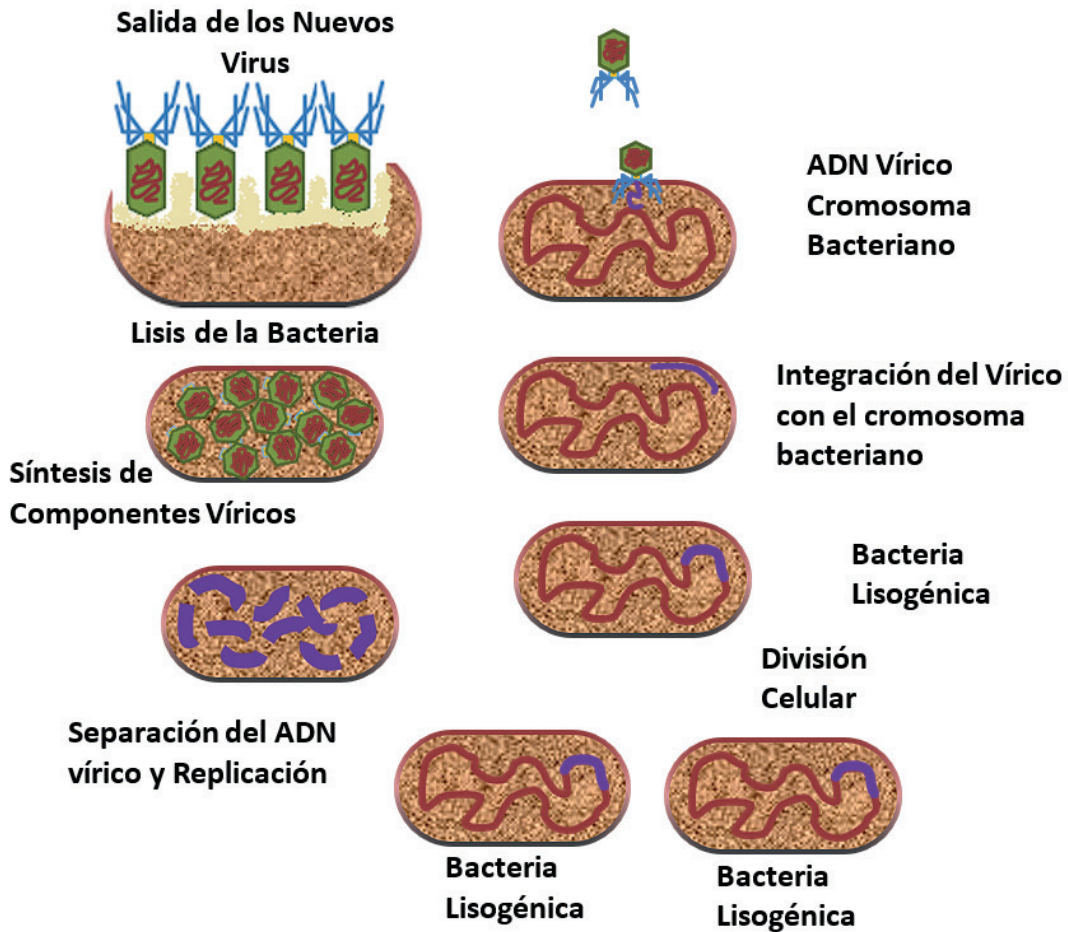
En este grupo se pueden ver varios bacteriófagos y retrovirus como el virus del herpes, verrugas, VIH, varicela, entre otras. En la figura 11 se aprecia el fago  $\lambda$ , que infecta a *Escherichia coli*.

El segundo grupo (virus líticos) provoca la destrucción del ADN de la célula infectada. Esto hace que no exista el estadio de profago. A este grupo pertenecen los virus *Streptococcus pneumoniae*, *Polioma murinos*, *virus T4*, *virus SV5*, *virus de gripe*, *Newcastle* (Hitchens & Leikind, 1939).

El ciclo lítico se divide en cinco fases:

- Fase de adsorción. En esta etapa la proteína del virus se adhiere a otra proteína receptora que se encuentra en la membrana plasmática del organismo a infectar.
- Fase de penetración. Luego de la fijación del virus a la membrana plasmática ingresa al interior de la célula. En algunos casos, el virus no ingresa completamente, sino que solo el ácido nucleico y otras proteínas o únicamente el material genético. Se han visto diferentes formas de penetración: endocitosis, penetración o combinación de ambas.

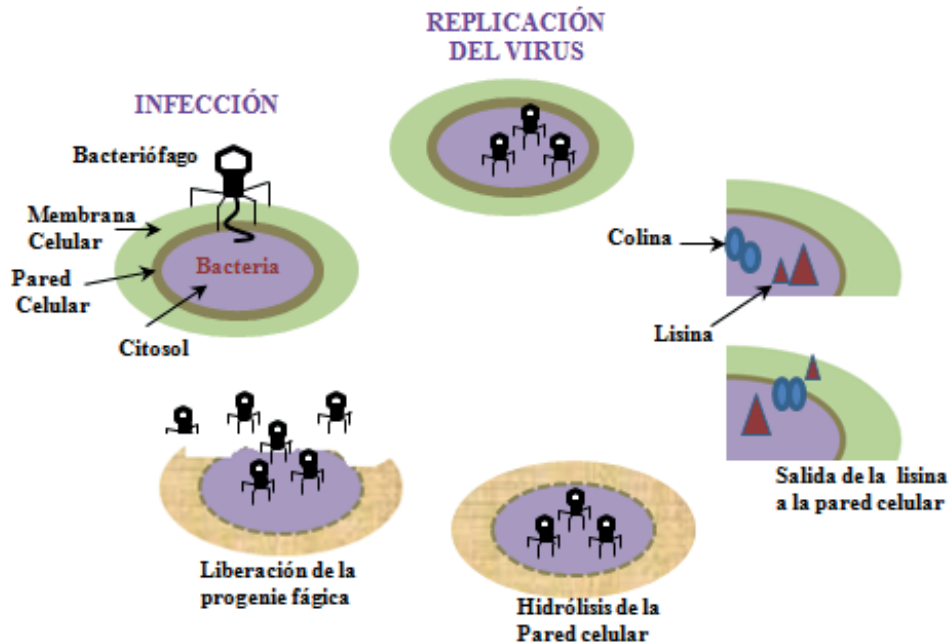
**Figura 11**  
**Esquema del ciclo lísogénico.**



*Fuente: Elaboración Propia*

- **Fase de eclipse.** En esta etapa, el virus usa toda la maquinaria enzimática que posee la célula huésped para producir diferentes tipos de células que sirven al desarrollo del virus. Durante esta fase no se aprecia el virus en el interior del huésped, por lo que se denomina a la fase "eclipse" (figura 12).
- **Fase de maduración.** Durante esta fase se ensambla las zonas específicas de la célula huésped y con ello madura el virus para salir al exterior y continuar con la infección de otras células.

**Figura 12**  
**Esquema del ciclo lítico.**



*Fuente: Elaboración Propia*

- **Fase de liberación.** Esta fase depende del tipo de virus, ya que se produce por rotura de la célula huésped y la liberación de los viriones, este es el caso de los virus desnudos. El otro caso se da por la liberación gradual de los virus por la membrana de la célula, en este grupo están los virus con envoltura (Amézquita-Landeros, 2015).

Las infecciones por virus permiten la interacción entre el material de la célula huésped y el material genético viral; lo que en no muchos casos incrementa la variabilidad de genes en la especie huésped, lo que contribuye a mayor variabilidad de las especies y con ello en su adaptación y evolución (Martínez, 2005).

En la actualidad, los virus tienen gran interés en biología molecular, ya que permite estudios del ácido nucleico por su facilidad de extracción y la pureza con la que se puede realizar.

Por su gran capacidad de mutación y cambio, los virus se usan en investigaciones biológicas, que se encuentran relacionadas con el mecanismo de replicación, que ayudan a conocer la forma de multiplicación.

Con los virus se elaboran vacunas y se convirtieron en el primer modelo para conocer cómo funciona el genoma. Las investigación estudian, a través de los virus, los mecanismos que controlan la información genética, para luego aplicarlos a seres vivos más complejos (Galindo-Santana et al., 2011).

Los virus son mediadores de intercambio de genes entre individuos, ya sean de la misma o diferente especie incrementando la variabilidad de los organismos y desarrollando capacidades de inmunidad a los distintos agentes virales. Como ejemplo, se ha observado que algunas bacterias que se han infectado con bacteriófagos (virus) son capaces de realizar funciones que no podrían realizar si no estuvieran en estas condiciones.

Por su capacidad de transferir genes, se utilizan como transportadores de material genético entre individuos de igual o distinta especie. Esto genera mayor variabilidad en el organismo, lo que disminuye su susceptibilidad a la infección (Piña-López, 2014).

Entre los virus empleados en biología molecular se pueden mencionar el bacteriófago  $\phi$ 29, que infecta a *Bacillus subtilis*, Herpes simplex. Varicela zoster virus, virus del VIH o sida, Hepatitis A y C, virus del papiloma humano VPH.

### **2.7.2 Viroides**

Los viroides junto con los priones son conocidos como agentes no convencionales. Este grupo es un agente menos infeccioso y con una menor complejidad estructural y genética, que se conocen como formas extremas de parasitismo. Fueron descubiertos en 1967 en las plantas. Son relativamente pequeños (menos de 400 nucleótidos), se constituyen solamente de moléculas circulares de ARN en una sola hebra y por ello se conocen como partículas infectivas con ARN monocatenario (circular o lineal). A diferencia de los virus no se encuentran protegidos por ningún tipo de cubierta y tampoco poseen proteínas ni lípidos y son incapaces de codificar proteínas. Se considera que fueron la primera etapa de los virus.



Su estructura se caracteriza por tener un ARN circular en forma de tira sencilla, que está unido por enlaces covalentes con cerca de 360 nucleótidos. Además, la estructura está compuesta por pares de bases similares a un bastón. Se organizan en 26 segmentos, cada uno de doble tira, que separa 25 regiones de bases (Hernández, 2010).

Alrededor de 30 infecciones en vegetales son atribuidas a los viroides, curiosamente, no codifica proteínas, pero su multiplicación en el interior de las células que infectan causa enfermedades a la planta huésped (figura 13). Los más característicos son el viroide del exocortis de los cítricos y el del cadang-cadang del coco.

Este grupo se puede clasificar de la siguiente manera: Pospiviroidae, Avsunviroidae, Hostuviroid, Cocadviroid, Apscaviroid, Coleviroid, Pelamoviroid (Puigdomenech, 2009).

**Figura 13**  
**Estructura secundaria propuesta para la familia Avsunviroidae.**



Fuente: <http://www.vet.unicen.edu.ar> (2010)

Entre las especies más comunes se pueden mencionar:

- Tubérculo fusiforme de la patata PSTVd, cuyo tamaño es de 356, 359-360 nt.
- Enanismo clorótico del tomate TCDVd, 360 nt.
- Exocortis de los cítricos CEVd 370-375 nt.
- Enanismo del crisantemo CSVd 354 - 356 nt.
- Cadang-cadang del cocotero CCCVd 246-247 nt.
- Vd de los cítricos IV CVd-IV, 284 nt.
- Piel cicatrizada de la manzana ASSVd 329-330 nt.
- Hoja curvada de los cítricos CBLVd 318.

Durante el año 1986 se reveló que la hepatitis delta humana tiene un genoma de ARN de tipo viroide, y ha sido considerado como el único viroide causante de patologías humanas (Puigdomenech, 2009).

### **2.7.3 Arns satélites o virusoides**

En este grupo se encuentran pequeñas moléculas similares en tamaño a los viroides de plantas (330-400 bases), que se empaquetan en cápsidas; únicamente pueden replicarse con el virus colaborador específico, quien modifica (aumenta o disminuye) los efectos patógenos de éste (Puigdomenech, 2009).

Las moléculas son de forma lineal y tiene solo una cadena que actúa como Parásito molecular de algunos Virus ARN de los vegetales. Este tipo de ARNs satelital tiene cuatro rasgos característicos:

- 1)** Necesita virus auxiliares para replicarse.
- 2)** Se necesitan para replicar los virus auxiliares.
- 3)** Se encuentran encapsulados en envoltorio proteico del Virus auxiliar.
- 4)** Su homología con el virus auxiliar es baja (Garzón-Pinto, 2017).

#### 2.7.4 Priones

Este grupo es un tipo totalmente nuevo de forma infectiva, que se descubrió por Stanley Prusiner en el año de 1981 y comprometidos con enfermedades degenerativas en el sistema nervioso central de mamíferos. Los investigadores los define como partículas proteicas pequeñas, con capacidad infectiva que modifican los ácidos nucleicos, y tienen componentes mayoritarios de isoforma anómala de una proteína celular (Dafesoma, 2006).

La proteína del prion se conoce como PPr. Los priones y la enfermedad que producen se pueden transmitir en forma vertical como cualquier enfermedad hereditaria típica. Por otra parte, se pueden comportar de forma infectiva, transmitiéndose horizontalmente. Este es el caso de los contagios que puede realizarse entre distintas especies.

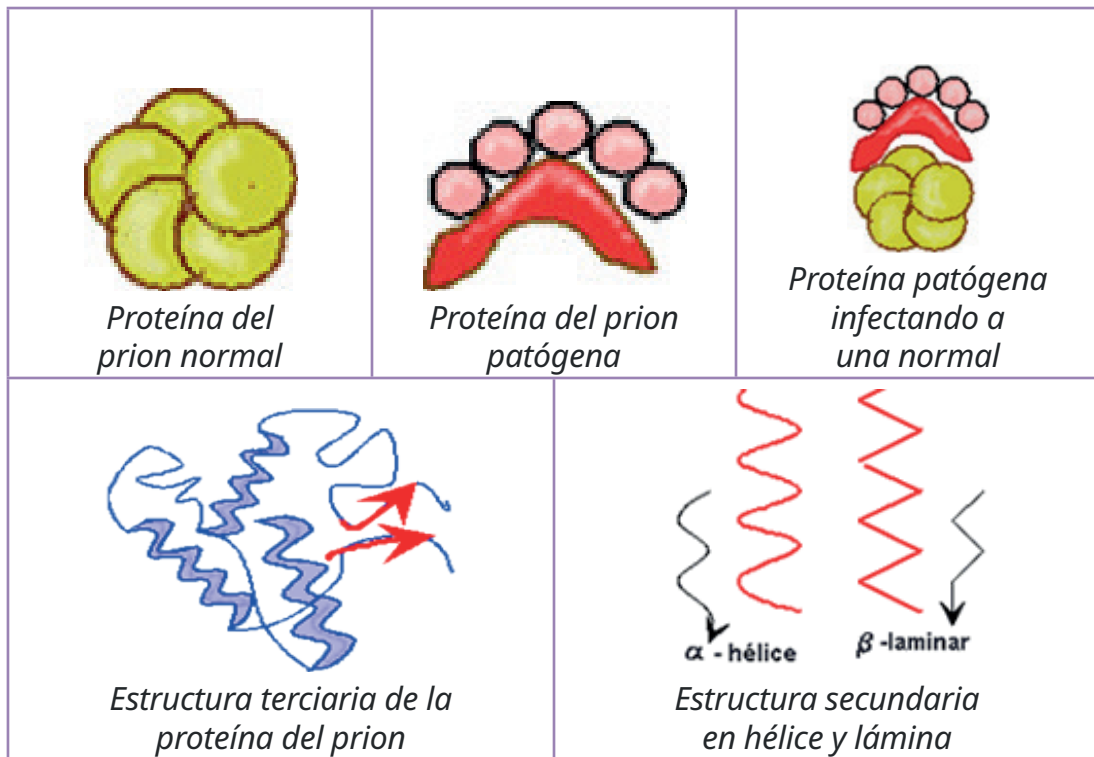
El prion, también conocida como proteína priónica, se define como partícula acelular, que es patógena y se transmite y se caracteriza por desnaturalizar las proteínas de una célula. Estudios recientes indican que este grupo pertenece a proteínas modificadas que favorecen la caída energética estable, creando nuevas propiedades biológicas como la insolubilidad frente a preasas, lo que se logró por su cambio tridimensional.

Además de lo anterior, describen con otras propiedades:

- No tiene ni ADN, ni ARN.
- Carecen de cuerpos de inclusión.
- Un largo periodo de incubación.
- No producen inflamación.
- No genera respuesta antigénica.
- Invisibles al microscopio electrónico (González-Rubio & Verdecia-Jarque, 2009).

La proteína de los priones normales posee secuencias de aminoácidos similares a las proteínas de prion patógeno (figura 14). La principal diferencia entre ambos se debe a sus estructuras secundaria y terciaria (Piña-López, 2014).

**Figura 14**  
**Estructura de un prion.**



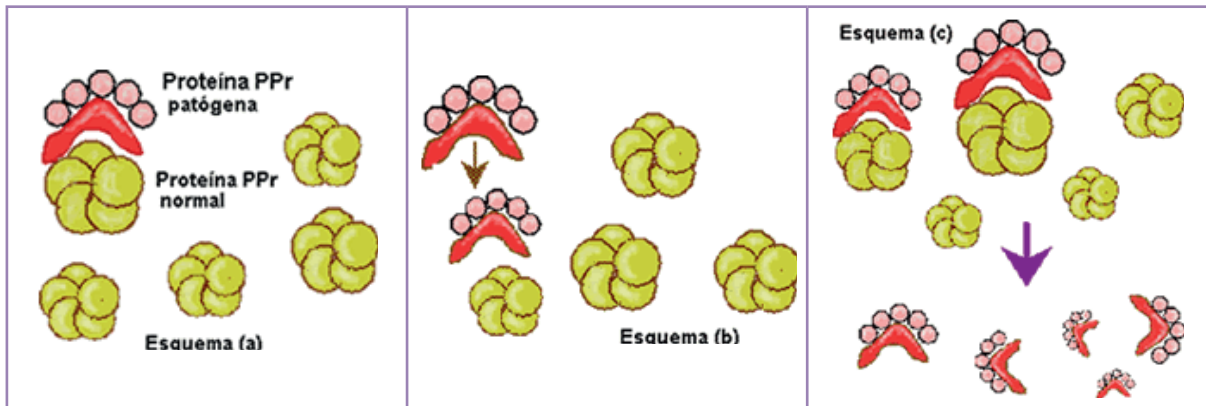
Fuente: Piña-López, (2010), p. 12.

La forma patógena crece exponencialmente cuando está en contacto de las proteínas normales, estas generan cambios conformacionales que las vuelvan infecciosas. Estos desordenes pueden ser transmisibles, en algunos casos esporádicos.

Se puede encontrar que este tipo de proteína patógena infecte individuos que producen proteínas normales (a), como ha ocurrido en el caso de las vacas alimentadas con balanceados elaborados a base de residuos de ovejas enfermas (Piña-López, 2014).

Alas enfermedades producidas por un prion, se las ha llamado encefalopatías espongiformes transmisibles, se descubrió que son fatales, actúan sobre el sistema nervioso y se especial que también pueden afectar el músculo (figura 15). Se caracterizan, como se mencionó antes, por tener un proceso de incubación lento, que puede durar años o en algunos casos décadas en humanos. Por lo anterior, se los conocía como virus lentos (Rivera, 2010).

**Figura 15**  
**Esquema del poder infectivo de los priones.**



*Fuente: (Piña-López, 2014), p,4.*

De acuerdo con (Piña-López, 2014), en animales, las enfermedades más conocidas son:

- Encefalopatía espongiforme bovina (BSE), (“Vacas locas”).
- Scrapie (ovejas).
- Encefalopatía transmisible (visones).
- Enfermedades crónicas de desgaste (mulas, ciervos, alces).

En humanos se han identificado:

- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD).
- Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheiner (GSS).
- Kuru.
- Insomnio fatal familiar (FFI).
- Síndrome de Alpers.

## **2.8 Los microorganismos como causantes de enfermedades**

### **2.8.1 Los microorganismos como agentes infecciosos**

Existen distintas formas de microorganismos capaces de causar enfermedades en plantas y animales, incluido el hombre. Los microorganismos colman casi cualquier lugar, por lo que permanentemente estamos en contacto con ellos. Favorablemente los organismos han desarrollado un sistema inmune formado por células que eliminan a microorganismos dañinos.

Dentro del grupo de microorganismos, pocos tienen capacidad para producir enfermedad. Muchos viven en la vía respiratoria, piel, intestinos, boca y genitales. Al estar en el ambiente, los hace huéspedes normales del ser humano y de los animales, que bajo determinadas circunstancias pueden causar enfermedades en el organismo huésped, como el estado nutricional del organismo, su estado de defensa entre otros.

Los microorganismos llegan a afectar directamente aspectos económicos, debido a las enfermedades que producen en animales y a las plantas, lo que conlleva no solamente a pérdidas físicas, sino también a gastos en medicinas curativas.

Las infecciones se producen cuando los microorganismos invaden de manera descontrolada al organismo huésped. Para iniciar la invasión, los microorganismos se adhieren a células dañadas en regular funcionamiento. El hecho de que las células infecciosas permanezcan juntas o se dispersen a través de todo el organismo, depende de factores como la producción de enzimas, toxinas u otras sustancias (F. García, 2008).

Después de la invasión es necesario que los microorganismos se multipliquen y se dispersen para producir la enfermedad. De esto,

se puede encontrar tres procesos: primero, que el microorganismo se multiplique y sobrepase las defensas del organismo infectado, lo que puede causar la muerte del paciente; segundo, que se alcance un equilibrio, lo que desemboca en una infección crónica y tercero, que el microorganismo sea eliminado por el sistema inmune o por la ayuda de la medicina (Merck, 2012).

Existen muchas estrategias de los microorganismos para aumentar la gravedad de un proceso infeccioso (virulencia) o para oponerse a la resistencia generada por el organismo. Ejemplo de ellos son las bacterias que producen enzimas capaces de romper tejidos, con el propósito de que la infección se extienda rápidamente.

Ciertos microorganismos tienen mecanismos que bloquean las defensas del cuerpo. En otros casos estos microorganismos han desarrollado cubiertas externas (cápsulas) que limitan la acción de los glóbulos blancos. También existen bacterias que tienen resistencia a la lisis, lo que les permite circular en el sistema sanguíneo. Hay otro grupo que produce sustancias químicas que evita el desarrollo de otros microorganismos como es el caso de los antibióticos (figura 16).

**Figura 16**  
**Sistema inmune.**



Fuente: <http://www.juntadeandalucia.es> (2015)

Ambos tipos de inmunidad se diferencian en los mecanismos y los tipos de receptores usados para el reconocimiento antigénico.

**Inmunidad congénita o natural:** Es la que deriva del sistema inmunitario propio del organismo, iniciando desde las propias

barreras físicas de los seres vivos como: la piel, las secreciones, etc. La inmunidad natural sirve como primer componente inmunológico a las infecciones y se caracteriza por usar la acción fagocítica de la célula.

Si esta barrera falla, los organismos patógenos se reproducen rápidamente liberando antígenos, los cuales estimulan la formación de anticuerpos generados por los linfocitos T, que es otro mecanismo de defensa que los destruye y detiene la infección. Este proceso es conocido como inmunidad natural activa y se establece para toda la vida.

La inmunidad natural pasiva. Se considera otro tipo de inmunidad natural, en el cual se transmite la información de la madre a su hijo a través de dos procesos: el primero, la embriogénesis, cuando se transmiten los anticuerpos de la madre a través de la sangre que ingresa a la placenta, y el segundo, durante la lactancia. En esta última, la leche suministrada a la cría tiene entre sus componentes los anticuerpos y de manera especial durante las primeras horas de lactancia, que se conoce a la secreción como calostro.

La inmunidad natural puede variar en función de la raza, especie, o según las características de cada individuo, siendo relevante en este último el factor genético.

**Inmunidad adquirida:** Es aquella que se obtiene en el transcurso de la vida a través de la creación de anticuerpos cuando se presenta la infección. Estas son naturales o artificiales. La inmunidad adquirida es consecuencia de haber tenido una enfermedad infecciosa y la capacidad del organismo para curarse. En el caso del sarampión y la tosferina la inmunización es para toda la vida, pero en el caso de gripe, tifus y cólera la inmunidad solo dura unos pocos años e incluso meses. La inmunidad adquirida artificial es provocada por técnicas artificiales. En este grupo se encuentran las vacunas y los sueros. Las primeras usan al propio germen o su toxina que al inocularse en los organismos provocan anticuerpos, permitiendo la adquisición de inmunidad específica. En la segunda, los sueros sanguíneos son los anticuerpos extraídos de un humano o un animal inmunizado e inyectados a otro. Los sueros son más rápidos, pero menos efectivos (M. García et al., 2009).



La inmunidad en el tracto digestivo es muy compleja y une tanto la defensa natural como inespecífica con elementos específicos. Entre los mecanismos de defensa tenemos el pH ácido del estómago que mata varios microorganismos patógenos. Sin embargo, este parámetro se afecta por modificaciones en la dieta, la edad del organismos, etc (Mateu, 2012).

De igual manera, El mismo autor menciona que los organismos saprofitos tienen un nicho ecológico que evitan la proliferación de patógena. Entre las distintas actividades realizadas por los microorganismos encontramos la secreción de inhibidores del crecimiento que afectan a otros organismos entre estos los patógenos. Un ejemplo claro se observa en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) que desarrolla y secretan algunos lactobacilos del sistema digestivo.

## **2.8.2 Enfermedades causadas por microorganismos**

**Enfermedades bacterianas.** Son producidas por bacterias patógenas. Tienen la capacidad de producir venenos y toxinas, en algunos casos muy potentes. Dependiendo del tipo de productos y patogenicidad pueden causar la muerte local o general en el tejido corporal, lo que bloquea el flujo de sangre y puede producir irritaciones graves. Muchas de estas bacterias causan intoxicación alimentaria en el hombre y con ello graves pérdidas en los sistemas agroalimentarios.

**Enfermedades producidas por hongos.** Este grupo producen varias enfermedades, tanto en plantas como animales. Además, estos organismos pueden generar sustancias tóxicas en los alimentos, lo que causa micotoxicosis en los organismos que las ingieren.

Los hongos transportados por el aire causan enfermedades pulmonares en animales o personas, como es el caso la aspergillosis. Igualmente son la principal causa de afecciones cutáneas.

En los animales es común encontrar afecciones graves sobre uñas, piel y cuero cabelludo; como la dermatosis.

El *Aspergillus fumigatus* es una de las especies más patógenas y se asocia tanto a afecciones alérgicas como invasivas.

Entre las enfermedades comunes causadas por hongos se encuentran:

**Coccidiomicosis.** Afecta a los animales y las personas que están en un estado de inmunosuprimidas. El agente causal *Coccidioides immitis* normalmente se adquiere por inhalación, conllevando a una grave infección pulmonar. La sintomatología incluye tos, fatiga, fiebre, fatiga y pérdida de peso. En otras ocasiones afecta las membranas que rodean el cerebro ocasionando meningitis.

**Criptococosis.** Esta enfermedad la causa *Cryptococcus neoformans*, generalmente se halla en los excrementos de las aves. Afecta al ser humano y otras especies animales. Se transmite por inhalación de polvo contaminado causando fatiga, malestar, náuseas, dolor de cabeza y de cuello, y en casos más graves pérdida de memoria, confusión mental y trastornos en el movimiento muscular y la visión. Si la enfermedad no es tratada a tiempo puede llevar a estado de coma y la muerte.

Puede afectar a gatos y perros, principalmente pulmón, mucosas y sistema nervioso central. Para los bovinos, se observa lesión del tejido mamario y ganglios linfáticos adyacentes; mientras que en el caballo se encuentran trastornos respiratorios.

**Histoplasmosis.** La origina el hongo *Histoplasma capsulatum*, se lo encuentra en las heces de murciélago y la tierra. Tiene un efecto severo sobre el pulmón, aunque puede llegar a afectar la piel, el sistema nervioso central o el sistema gastrointestinal. Se diagnostica en el fluido pulmonar, la sangre, la orina o con biopsia.

**Candidiasis.** Tiene un efecto dramático en las aves, que incluso las lleva a la muerte. En el humano se desarrolla problemas en la garganta la mucosa de la boca y la zona genitourinaria.

Algunos hongos son tóxicos y contaminan los alimentos entre los que tenemos *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, además de

alimento balanceado para animales domésticos. Este grupo de hongos produce toxinas como aflatoxina, fumonisin, ocratoxinas o zearalenona, que al ser consumidos por otros seres vivos causan enfermedades letales como la micotoxicosis (Piña-López, 2014).

**Enfermedades víricas.** Existe una gran cantidad de virus que afectan el estado de salud de los animales, entre las principales se encuentran los que causan Newcastle, anemia infecciosa equina, encefalitis, viruela aviar entre otros.

Algunos virus se pueden propagar al hijo, por parte de la madre, esto lo pueden hacer a través del huevo o la placenta. De esta manera, se puede encontrar formas resistentes para sobrevivir en el aire. En otros casos, el virus necesita tener un contacto íntimo para la transmisión o la picadura de algún insecto vector.

Los virus tienen la capacidad de atacar a varias especies. Por otra parte, el efecto del virus puede ser mayor de acuerdo con el tipo de especie o tejido infectado.



## **Capítulo 3.**

# **Aplicaciones En El Agroindustria**



### **3.1 Importancia de los Microorganismos en la Industria**

Normalmente los microorganismos se han asociado a enfermedades y al deterioro de los alimentos, pero desarrollan otras funciones importantes en los ecosistemas y los seres vivos. De igual manera, el ser humano logró aprovechar sus características para beneficio propio. Como la producción de alimentos fermentados y en otros casos sustancias farmacéuticas.

La biotecnología de alimentos habitual ha utilizado varios microorganismos en la producción de alimentos tales como productos lácteos y cárnicos, la cerveza, el pan, entre otros. En la mayoría de productos la función de los microorganismos se realiza durante el proceso de producción, aunque, el microorganismo no está vivo en el producto final. Pero, existen otros productos, como el yogur, en el que los microorganismos están vivos.

La ciencia ha permitido que estos microorganismos se puedan usar en la producción de aditivos o suplementos como aromatizantes, vitaminas, conservantes o colorantes naturales. Igualmente las enzimas producidas por microorganismos se han empleado como aditivos para el procesado de algunas sustancias como el jarabe de maíz, rico en fructosa (Barreiro et al., 2015).

Existen gran variedad de microorganismos con una larga trayectoria de uso en los alimentos, se han desarrollado técnicas para la selección entre las que se encuentra la mutagénesis. Estos procesos permiten mejorar la eficiencia y el control de los microorganismos en favor del ser humano y los animales. Los últimos avances de la ciencia han permitido el desarrollado de herramientas de ingeniería genética para continuar con el mejoramiento de los microorganismos en la obtención de productos (Barreiro et al., 2015).

### 3.1.1 Clasificación de aplicaciones biotecnológicas

Según (Pérez-Sánchez, 2008) la biotecnología se ha clasificado de acuerdo a los usos que han adquirido los microorganismos:

- **Biología roja.** Está encaminada a su utilización en los procesos médicos. Entre estos tenemos la utilización de microorganismos en la producción de antibióticos, la producción de vacunas seguras y el desarrollo de nuevos fármacos, las terapias regenerativas, el diagnóstico molecular, las terapias regenerativas y el desarrollo de la ingeniería genética en su uso contra diversas enfermedades.
- **Biología blanca.** Se la conoce como biotecnología industrial. Entre sus objetivos se tiene el desarrollo de microorganismos que produzcan sustancias químicas o enzimas como catalizadores industriales que permitan la producción de químicos valiosos o la destrucción de sustancia contaminantes peligrosas. En este grupo se encuentra la biotecnología de la industria textil, como la creación de nuevos materiales, plásticos biodegradables y biocombustibles. La biotecnología blanca se caracteriza por hacer un uso más eficiente de los recursos, ya que los consume en menor cuantía en comparación con las otras biotecnologías.
- **Biología verde.** Esta biotecnología se aplica a la producción agrícola. En este grupo encontramos a las plantas transgénicas, que se adaptan a condiciones ambientales desfavorables o que mejoran su resistencia a enfermedades o plagas.
- **Biología azul.** Se aplica a los productos marinos y acuáticos.

### 3.1.2 Microbiología industrial

Esta microbiología estudia la aplicación industrial de los microorganismos. En ella, se construye procesos catalíticos que tienen como base los microorganismos (Antequera et al., 2014).

De acuerdo con el documento (Barreiro, 2013) “existen una serie de características que comparten todos los microorganismos y que suponen ciertas ventajas para su uso en la industria:

- El tamaño de la célula debe ser pequeño para facilitar el intercambio de sustancias con el entorno y permitir, de esta forma, una elevada tasa metabólica.
- Producir la sustancia de interés.
- Estar disponible en cultivo puro.
- Ser genéticamente estable.
- Crecer en cultivos a gran escala.
- Crecer rápidamente y obtener el producto deseado en un corto período de tiempo.
- No ser patógeno para el hombre o para los animales o plantas.
- El medio de cultivo debe estar disponible en grandes cantidades y ser relativamente barato” (p. 1).

### **3.1.3 Productos microbianos de interés industrial.**

Células microbianas. También son denominadas proteínas unicelulares, ya que tiene alto contenido proteínico de los microbios, se utilizan como alimentos o producto de inoculación, siendo de interés para en semillas o plantas y en los procesos de fermentación (Beloqui et al., 2008).

Entre otros grupos tenemos:

- Enzimas.
- Metabolitos microbianos.
- Productos farmacéuticos.
- Productos químicos y aditivos alimentarios.
- Producción de energía.

**Aplicaciones ambientales.** El listado anterior, se puede usar para disminuir el impacto ambiental de los procesos industriales y actividades humanas. Esto se lo realiza a través de los mecanismos de transformación de las sustancias contaminantes en elementos reutilizables para la industria o su reincorporación al medio como sustancias no contaminantes.

### **3.1.4 Fuentes de aislamiento**

**Las principales fuentes de obtención de microorganismos de interés industrial son:**

1. 1. Colecciones internacionales de cultivos.
2. 2. Fuentes naturales de aislamiento.
3. 3. Programa de mejoramiento de cepas.

#### **Fuentes naturales de aislamiento (secundarias)**

1. Suelos (bosques, jardines, etc.).
2. Terrenos aledaños a pozos petroleros y refinerías.
3. Aguas negras.
4. Residuos vegetales en descomposición.
5. Raíces y tubérculos de vegetación.
6. Aguas dulces (lagos y ríos).
7. Frutos en descomposición.
8. Tejidos animales.
9. Residuos de los procesos de fermentación.
10. Residuos de las plantas elaboradoras de jugos.
11. Residuos de la industria alimenticia.



**12.**Residuos municipales con contenido orgánico.

**13.**Aguas salobres.

**14.**Residuos de animales.

**15.**Residuos lignocelulósicos.

**16.**Residuos de procesamiento de productos pesqueros.

La determinación de la fuente natural de la cual se pretende aislar microorganismos está determinada por los sustratos donde habitan y la principal fuente indicadora es la detección de los metabolitos producidos. Este es el caso específico de enzimas tales como amilasas que son aisladas de fuentes que contengan almidón (pan o frutas en descomposición) y las células que se aíslan de fuentes que contengan celulosa (madera podrida).

Otro elemento de selección de la fuente de aislamiento es el tipo de microorganismo que normalmente produce el metabolito deseado, ya que normalmente hay diferentes tipos de microorganismos que crecen a diferentes ambientes naturales. Por ejemplo, los hongos y actinomicetos, productores de metabolitos como los ácidos orgánicos o los antibióticos, suelen crecer en ambientes de pH bajos, tales como basura de algunos desperdicios orgánicos o aguas contaminadas.

Por último, una fuente de aislamiento que contiene gran diversidad de microorganismos productores de muchos metabolitos distintos, es el suelo de regiones en que hay una gran variedad de vida, tales como: bosques, selvas y montes (Glazer & Nikaido, 2007).

### **3.1.5 Métodos de conservación.**

Existen varios métodos de conservación de microorganismos a nivel industrial, entre los cuales se encuentran:

#### **Cualitativos**

Las cepas pueden ser almacenadas a corto plazo (semanas o meses) con medios relativamente fáciles y de bajo costo (figura 17).

- Resiembra periódica.
- Aceite mineral.
- Agua destilada.
- Tierra estéril.
- Sílica gel.
- Papel filtro.
- Perlas de porcelana.

#### **Cuantitativos**

Las cepas que van a ser almacenadas por tiempos prolongados requieren de sustancias crioprotectoras (aseguran la supervivencia de los cultivos) y tienen alto costo de mantenimiento (largo plazo).

- Liofilización.
- Criopreservación.
- Congelación.
- Nitrógeno líquido.

**Figura 17**  
**Cámaras de incubación.**



Fuente: <http://www.maestrakena.com> (2016)

### **3.1.6 Procesos que emplean microorganismos**

La información de los procesos se basa en lo propuesto por (Guerra & Villavicencia, 2007).

**Productos lácteos.** En este aspecto, las bacterias ácido lácticas muestran una gran importancia, ya que son este grupo el que realiza distintos procesos de fermentación en la elaboración de productos como el yogur, mantequilla y queso.

**Manejo de plagas.** Los estudios han demostrado que algunas especies, entre ellas, el género *Bacillus* pueden atacar distintas larvas de insectos y que son inocuas para otros animales y vegetales. Esto proporciona una forma de control de plagas en cultivos comerciales. De igual manera, se ha estudiado el uso de bacterias en la neutralización de pesticidas, un factor importante de contaminación del medio ambiente.

**Producción de dextranos.** Esta sustancia es un polisacárido de la glucosa que se obtiene a través del metabolismo de las bacterias, en este grupo tenemos a *Leuconostoc mesenteroides* que lo produce a partir de la sacarosa.

**Producción de sustancias químicas.** Existen muchos tipos de sustancias producidas por las bacterias y que tienen uso industrial. En este grupo tenemos el ácido butírico que se usa en la producción de disolventes como acetona y butanal.

**Producción de vinagre.** Esta sustancia se desarrolla a partir del vino, y este proceso se debe a la oxidación del alcohol por parte de bacterias en ácido acético.

**Manipulación de genes.** Este es un área reciente, donde las técnicas de recombinación del ADN juegan un papel muy importante en la “transformación” genética de microorganismos. Esta técnica permite realizar cambios en la composición genética de las bacterias con el fin de que produzcan una serie de compuestos químicos importantes para los procesos industriales, ya sean proteína, carbohidratos o moléculas más complejas como insulina humana (Guerra & Villavicencia, 2007).

De igual manera, (Pérez-Sánchez, 2008) menciona que:

**Alimentos funcionales.** Este tipo de alimentos tiene un efecto beneficioso adicional al nutricional, que es superior a los alimentos tradicionales. Dentro de este grupo encontramos probióticos, prebióticos y simbióticos. Los primeros son microorganismos vivos que tiene simbiosis con el organismo huésped y ayudan en procesos metabólicos e inmunológicos, los segundos son sustancias no digeribles para el organismo huésped que ayudan al desarrollo de microorganismos probióticos y los alimentos simbióticos se caracterizan por combinar los anteriores (probiótico y prebiótico).

**Levaduras en la elaboración del pan.** La fabricación de pan requiere en el proceso la utilización de levaduras desde hace 2300 A.C. La especie que se usa es *Saccharomyces cerevisiae*, aunque se pueden usar otros microorganismos que influyen en el sabor y aroma del pan (Black & Black, 2018).

### 3.1.7 Materiales y equipos en el laboratorio

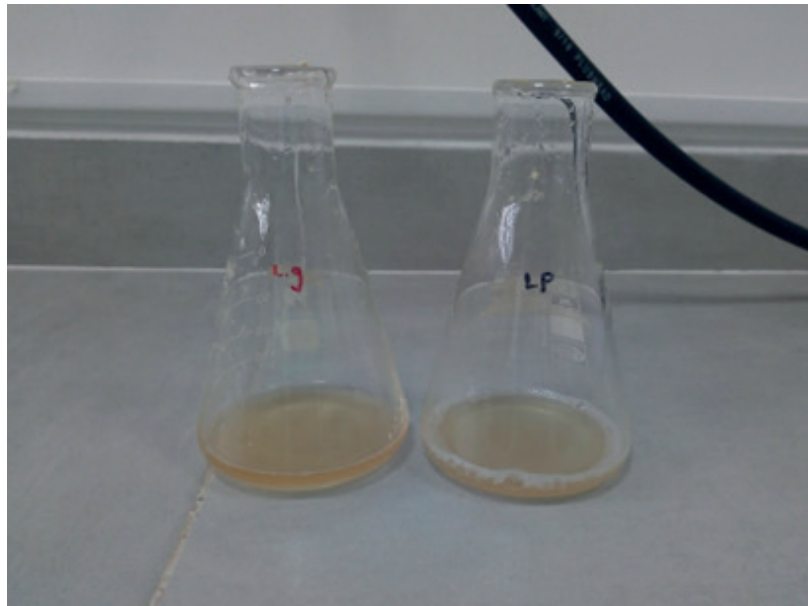
De acuerdo con (Migueluez-Murillo, 2017) entre los principales equipos empleados en el laboratorio de microbiología se mencionan:

**Material de vidrio.** La mayoría de los instrumentos que se usan en el laboratorio son en vidrio resistente a altas temperaturas, el material más usado es el vidrio PYREX, que se caracteriza por ser un excelente conductor de calor, tener una baja dilatación y en el ambiente no altera su composición (figura 18).

El material de vidrio debe cumplir con los siguientes requisitos para tener una buena calidad:

1. Difícil de quebrarse.
  2. Tener un color neutro.
  3. Resistir la variación de temperatura y sustancias fuertes como álcalis y ácidos.
  4. No perder su forma por su baja dilatación.
- **Tubos de ensayo.** Sirven como recipiente para medio de cultivo. Suelen ser de paredes neutras y vidrio neutro; se prefieren sin rebordes que faciliten su taponamiento. Se pueden encontrar distintos tamaños de acuerdo a lo que se vaya a realizar.
  - **Cápsulas o placas Petri.** Tienen una forma cilíndrica y se usan como recipiente para cultivar microorganismos. Se usan de 10, 15, 20 y 100 mm.
  - **Placas Brewer.** Se usa en microorganismo anaeróbicos. Son similares a las cajas Petri, pero la tapa está desarrollada para crear un ambiente anaerobio.

**Figura 18**  
**Material de vidrio. Matraz de Erlenmeyer**



*Fuente: Elaboración Propia.*

- **Pipetas.** Estos son tubos cilíndricos delgados que tienen una terminación en punta, se gradúan en decimas o centésimas de ml. Se usan para medir cantidades pequeñas de líquido. Se encuentran:

**Serológicas:** tienen capacidad de 0,1 a 25 mL.

**Volumétricas:** denominadas pipetas de bola, se caracteriza por tener una dilatación bulbosa en la parte central. Se encuentran valores de 0,25, 50 y 100 mL.

**Pasteur:** son diseñadas para resistir el calor, se realizan de diámetro entre 4 por 20 mm y una longitud de 30 ó 40 cm de longitud (Miguelz-Murillo, 2017).

- **Erlenmeyer y Matraces.** Este tipo de recipiente se caracterizan por su forma cónica y cuello corto, que se utiliza para preparar colorantes, medios de cultivo y soluciones (Parente, 2020).

- **Matraces aforados.** Estos recipientes tienen forma esférica y base plana. Su característica principal es un foro cerca de la parte media del cuello.
- **Kitasato.** Este recipiente es similar a los Erlenmeyers, tienen paredes gruesas.
- **Probetas.** Tiene forma cilíndrica y su capacidad es variable con base plana y graduación de acuerdo con el tamaño.
- **Frascos viales para hemocultivos, vacunas, cultivos de Tejido.** Se caracterizan por ser de vidrio neutro, tiene resistencia al calor y su característica principal es que tiene rosca y capacidad entre 50 y 100 mL, los hay de varios colores de acuerdo al tipo de uso que se realice.
- **Potenciómetro.** No pertenece a la vidriería, es un dispositivo para medir el pH en cualquier sustancia o material usado en la microbiología. Este aparato dispone de un electrodo sensible a las concentraciones de hidrógeno, que se comunica con un potenciómetro, siendo este último el que nos produce la medición del pH (figura19) (Parente, 2020).

**Figura 19**  
**Potenciómetro**



Fuente: [http://alimentos-lab.blogspot.com/\(2012\)](http://alimentos-lab.blogspot.com/(2012))

- **Centrífuga.** Es un dispositivo que permite la separación de sustancias teniendo en cuenta su densidad, y como agente separador la gravedad (Vega-Panaifo, 2014). También podemos encontrar la ultra-centrifugación cuando se necesitan alteraciones elevadas (100.000 g o más), pueden ser:

**Ultracentrifugación analítica.** Se usa para conocer las características de ácidos nucleicos o proteínas.

**Ultracentrifugación preparativa.** Se desarrolló con el fin de separar pequeños organelos en la célula (mitocondrias, etc) (Vega-Panaifo, 2014).

- **Incubadoras y Hornos.** Estos dos se diferencian porque la incubadora muestra temperaturas menores a los 100 °C y los hornos son mayores a los 100°C (Figura 20). Los hornos se usan para incinerar material, mientras que las incubadoras para permitir el crecimiento de los microorganismos a determinadas temperaturas (Vega-Panaifo, 2014).



**Figura 20**  
**Centrífuga.**



*Fuente: Elaboración Propia*

- **Baño María.** Son baños de agua. Es un equipo que sirve para mantener la temperatura sin que llegue la flama directa sobre el recipiente. Están provistos de un piso para colocar materiales y se regula mediante termostato (Parente, 2020).
- **Refrigeradoras y congeladores.** Equipos que permiten mantener los materiales, medios, etc. en refrigeración y los otros bajo congelación.
- **Elementos de Filtración.** Se usan para separar sustancias con diferencia en el tamaño, se ha utilizado de manera común para separar líquidos de sólidos. Este proceso se realiza a través de filtros (Parente, 2020).
- **Espectrofotómetro.** Equipo que utiliza un haz de luz para determinar la opacidad de una sustancia y con ello la cantidad de luz absorbida. Esto nos permite cuantificar una sustancia disuelta en un líquido y en microbiología se puede usar para medir el crecimiento bacteriano en un medio de cultivo (Vega-Panaifo, 2014).
- **Autoclave.** Se usa para esterilizar los materiales de laboratorio, se caracteriza por funcionar por presión y altas temperaturas (figura 21).

**Figura 21**  
**Autoclave.**



*Fuente: Elaboración Propia*

- **Horno Pasteur.** Se usa para esterilizar en calor seco (Parente, 2020).
- **Estufas de aire caliente.** Se utiliza para esterilizar con calor seco. Posee dos paredes y tiene una forma cúbica (Parente, 2020).
- **Microscopio.** Se pueden clasificar en ópticos y electrónicos. Los primeros se dividen en simples (monoculares, binoculares) y compuestos (fluorescencia, estereomicroscopios, contraste de fases, luz ultravioleta, luz reflejada, polarización y campo oscuro), y los electrónicos en microscopios transmisión, confocal y barrido laser.

En el microscopio óptico el área de observación se encuentra iluminada y el objetivo se estudia de forma más oscura, puede alcanzar los 1000 aumentos. El poder de resolución está dado por la onda de luz utilizada y el lente usado (Arraiza et al., 2015).

**Estereomicroscopios.** Son microscopios dobles, sus dos oculares y dos objetivos tiene dos prismas, con ello se ajusta la imagen sin perder la textura. El objeto se ilumina por incidencia o transparencia, siendo la segunda más frecuente. Pueden tener otros accesorios microfotográficos, como doble dispositivo de observación de manera simultánea, cámaras claras y microdisectores (Arraiza et al., 2015).

**Microscopio de luz ultravioleta.** Equipo que tiene longitud de onda ultravioleta de corto alcance (180-400 nanómetros), su principal mejoría esta que permite que ciertas muestras analizadas no necesiten tinción para ser observadas, ya que esto lo suple el espectro ultravioleta. Se caracteriza por tener lentes de cuarzo y la imagen ultravioleta se logra de tres formas: fotoemisión, fotografía o fluorescencia.

**Microscopio de fluorescencia.** Su funcionamiento se supedita a sustancias con propiedades de fluorescencia y su capacidad de radiaciones de onda corta. Está formado por luz con banda de longitud de onda del ultravioleta al infrarrojo (Arraiza et al., 2015).

**Microscopio de contraste de fases.** Se usa para el estudio de preparaciones con densidad homogénea y transparente, en este caso células y bacterias, su baja capacidad de absorción genera diferencias en la luminosidad entre dos elementos. Se requiere la práctica de tinción de muestras (Arraiza et al., 2015).

**Microscopio de campo oscuro.** Este microscopio se caracteriza por producir un fondo oscuro en el cual se observan el objeto iluminado de manera intensa. La resolución del microscopio depende del contraste que se pueda producir entre objetos y como son afectados por el medio circunstante. En él, se puede ver organismos sin teñir y que están suspendidos en líquidos (Vega-Panaifo, 2014).

**Microscopio de polarización.** Este microscopio utiliza luz polarizada. Para ello, se incorpora un polarizador a los microscopios ordinarios, una fuente de luz y su condensador, junto a un analizador que se posiciona entre el ocular y el objetivo (Luna-Fontalbo, 2012).

**Microscopios con luz reflejada.** Se usa para evaluar minerales metálicos. Utiliza un foco de luz polarizada que incide de forma perpendicular en una superficie suavemente pulida, con intenso brillo y sin interposición de cubreobjetos. Se requiere además un iluminador de opacos que se acople al microscopio (Gutierrez, 2018).

**Microscopio electrónico de barrido (MEB).** Se lo conoce como microscopía de exploración electrónica. En este equipo hay una incidencia de los electrones en la sustancia preparada. La muestra debe secarse por congelación o punto crítico y recubierto con una capa de oro o platino. Aunque posee menor resolución que el microscopio electrónico de transmisión, tiene una extraordinaria impresión en tercera dimensión.

**Microscopio electrónico de transmisión.** En este tipo de microscopía, el haz de electrones cruza la sustancia o material a observar. Tiene la misma operación que los microscopios ópticos. Para este microscopio se debe tener técnicas de tinción negativa, microtomía y congelación (Arraiza et al., 2015).

**Microscopio confocal de barrido láser.** Es uno de los mejores avances en la microscopía, usa técnicas láser. Permite observar secciones o cortes muy finos en muestras fluorescentes y la digitalización y reconstrucción de imágenes a gran velocidad, con alta resolución y en forma tridimensional (Arraiza et al., 2015).



## **Capítulo 4.**

# **Microbiología Zootecnica**



## **4.1 Microbiología Intestinal de Especies de Interés Zootécnico**

El sistema digestivo tiene dos objetivos básicas: adquirir y asimilar nutrientes y constituirse en una barrera de protección de microorganismos patógenos y agentes virales (Durand & Chaucheyras-Durand, 2010).

### **4.1.1 Relaciones de los hospedadores y los microbios**

Los microorganismos conviven en millones con los animales, unos están en el ambiente y otros en su parte interna donde generan su habitación e interaccionan como el organismo huésped. Este tipo de convivencia se denomina simbiosis. Existe tres formas de simbiosis entre el huésped y los microorganismos: mutualismo, parasitismo y comensalismo. Difieren en el beneficio que se obtienen el huésped y hospedero (Musto & Iserte, 2013).

En el caso del mutualismo, el beneficio está dado entre ambas partes, tanto el huésped como el hospedero. Uno de los ejemplos más identificables es la relación entre los microorganismos de nuestro sistema digestivo y como su metabolismo ayuda a la degradación de alimentos que no puede digerir el cuerpo, como contrapartida los microorganismos tiene el ambiente adecuado para vivir (Musto & Iserte, 2013).

El caso del parasitismo, es una forma de relación, donde el agente que hospeda resulta afectado en forma negativa por el huésped. Un ejemplo de este caso se puede observar en los animales que se ven afectados por hongos, ya que estos le producen lesiones en la piel.

Para el caso del comensalismo la relación entre huésped y hospedero no afecta ni beneficia a este último, aunque se beneficia el huésped. Un ejemplo de este tipo de relación se observa en los microorganismos

que se alimentan de la piel muerta de los animales, pero esto no tiene un beneficio ni afectan al hospedero (Musto & Iserte, 2013).

#### **4.1.2 Microbiología del tracto digestivo de animales no rumiantes.**

Los animales no rumiantes pertenecen a un grupo de especies donde la fermentación del alimento se realiza luego de los procesos bioquímicos del estómago del animal (postgástrico), lo que no permite utilizar el proceso en su totalidad, dado que todos los productos finales de los microorganismos no podrán ser asimilados, perdiendo parte de estos elementos, a menos que se dé un proceso de recirculación en el animal como el caso del cuy, que realiza cecotofía (Hahn-Didde & Purdum, 2016).

##### **4.1.2.1 Aves.**

Las bacterias del sistema digestivo de aves tienen una función benéfica y esencial para el organismo huésped. Los estudios han demostrado que las bacterias se desarrollan en buche, intestino y ciegos. En especies silvestres se ha encontrado que los recién nacidos obtienen por primera vez las bacterias de la boca, buche o excremento de la hembra. Lo que indica la importancia de la colonización del tracto digestivo de estos animales en sus primeras etapas de vida. Por ello, en estudios realizados en incubadoras comerciales se observa una disminución de la variedad y tipo de cepas que presenten los polluelos en comparación de los incubados por sus madres.

Por otra parte, (Olvera et al., 2020) menciona que, el mejoramiento genético del pollo ha maximizado la conversión de alimento en masa muscular. Junto a esto, se ha estimado mejor los requerimientos nutricionales de esta especie.

En los procesos nutricionales la fibra dietética (FD) se ha considerado antinutricional en animales no rumiantes esto como consecuencia de un aumento de la pérdida de células endógenas. Sin embargo, (Olvera et al., 2020) argumenta que, la FD es uno de los precursores para el crecimiento microbiano a nivel intestinal y con ello la salud de hospedero. Se puede ver que el tipo de fibra puede influir en los resultados y el mejoramiento de la salud intestinal de las aves.



El objetivo central para conservar la salud intestinal de las aves radica en la identificación y comprensión de las relaciones existentes entre el microbiota intestinal y el animal. Cuando se altera el equilibrio de la microbiota intestinal, las funciones nutricionales (digestión, absorción y metabólica) se alteran (Overa-García, 2022).

**Los microorganismos en la salud intestinal de las aves.** Al respecto, (Overa-García, 2022) menciona que hay una compleja comunidad de hongos, bacterias y protozoarios en el intestino de las aves. Se ha observado que tienen distintas funciones en el hospedero, entre estas tenemos como barrera contra organismo patógenos, además e ha encontrado que puede modular otras funciones vitales como el sistema inmune e incluso el sistema nervioso.

Se ha observado que la gallina inocula algunas bacterias antes de producir la cáscara del huevo con los géneros *clostridium*, *propionibacterium* y *lactobacillus*. Los estudios demuestran que los pollitos comerciales tienen un menor microbiota intestinal cuando se comparan con aves provenientes de sistemas alternativos. Esto demuestra los efectos que puede causar trabajar con los sistemas intensivos en los sistemas de producción (Overa-García, 2022).

Junto a lo anterior, se ha determinado que hay una segunda inoculación en los pollitos, y esta se debe al ambiente en el cual eclosionan, entre las fuentes tenemos la incubadora, el transporte, la vacunación y el manejo. En este proceso se puede encontrar con patógenos, pero se ha determinado que la madre suministra anticuerpos en la yema (IgY) y que estos pueden activar el sistema inmune (Mahmood & Guo, 2020). Luego de su ingreso a la granja, se observará cambios en la microbiota por la exposición a otras dietas y un nuevo ambiente. Se observa una microbiota inicial de *Lactobacillus*. Luego de 7 días de eclosionar, se encuentra un incremento de *Enterococcus* y *Lachnospiraceae*, siendo estos los géneros que tendrán mayor predominancia. A los quince días, ya hay diferencia entre los microorganismos del ciego y los presentes en el intestino; esto demuestra el proceso de maduración del sistema digestivo. La diferencia entre ambas partes se debe a que se han establecido distintas condiciones para cada sección. Esto es lo que hace que haya diferencias en la microbiota de los pollos. Finalmente, al acercarse a los 21 días se observa una predominancia de *Lactobacillus* en la mayoría del intestino, pero al final diferentes *Clostridium* en lo que se denomina "ciego" (Overa-García, 2022).



A continuación, se realiza una lista de funciones realizadas por la microbiota:

- 1) Protección.** Los microorganismos generan un ambiente con los distintos metabolitos que segregan, además compiten por el espacio, lo que crean una barrera efectiva de organismos extraños.
- 2) Nutrición y metabolismo.** Los procesos metabólicos de los microorganismos degradan compuestos que el cuerpo no puede asimilar y como resultado del proceso se obtiene otro tipo de sustancias que se pueden absorber por parte de las vellosidades intestinales.
- 3) Funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal.** Este proceso permite modular el sistema inmune.

La microbiota intestinal crea una barrera para microorganismos patógenos. Este hábitat, que es desarrollado por las bacterias, produce distintos metabolitos que inhiben el crecimiento bacteriano. En este grupo de sustancias se observan ácidos grasos de cadena corta (AGCC), ácidos orgánicos, bacteriocinas, entre otros, que ayudan al equilibrio ambiental. Se debe tener en cuenta que la alimentación influye sobre el tipo de microorganismos presentes en el sistema digestivo, por lo que su importancia en los sistemas de producción avícola es alta (Overa-García, 2022).

**El Sistema Inmune.** Los estudios indican que los anticuerpos, especialmente la IgA (inmunoglobulina A) ayudan a las bacterias comensales, las cuales son benéficas para el ave, dado que estos son las que reducen la proliferación de microorganismos patógenos mediante el mecanismo o sustancias mencionadas en párrafos anteriores.

Es interesante saber que la microbiota intestinal modula de manera eficiente la fisiología del hospedero, y este proceso lo realiza mediante el eje cerebro-intestino. Los estudios indican que hay comunicación entre microorganismo y hospedero de forma bidireccional y que esta se realiza mediante fenómenos inmunológicos, endocrinos o neuronales. Aunque del mecanismo falta mucho por investigar (Overa-García, 2022).

**Genes microbianos.** La alta variedad de microorganismos presentes en el tracto digestivo genera una alta diversidad de genes que permiten sintetizar un gran número de enzimas y con ello, obtener distintas vías bioquímicas para acceder a nutrientes que, de otra manera, el ave no podría conseguir por cuenta propia. Como ejemplo, se encontró como la fracción indigestible de la fibra presente en el alimentos es degradada por la mucha de la microbiota presente en el ciego y como resultado se obtiene del proceso complejos de vitaminas K, AGCC, ácidos pantoténico y fólico y vitamina B12 (cobalamina) (Overa-García, 2022).

El desarrollo de una población en el tracto gastrointestinal se ve modulada por factores propios del organismo hospedero: como temperatura, pH y tipo de alimentación. En las aves, el buche y el intestino muestra una alta producción de ácido láctico, a diferencias del ciego que tiene un alto contenido de ácido propiónico, butírico y acético (ácidos grasos volátiles) (Cox & Pavic, 2010).

En el tracto digestivo hay mayor cantidad de anaerobios que aerobios facultativos. Las especies que producen ácido láctico (LAB) son generalmente consideradas benéficas. Ellas incluyen los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, y *Streptococcus*. Algunas de las bacterias más comunes presentes en las aves son bacteroide, bifidobacterias, *Clostridium*, *E. coli*, eubacterias, lactobacilos, micrococos, streptococos, y ruminococos. Las bacterias patógenas comunes son las especies de *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. coli* enterotoxigénica y *Salmonella*. Pero también incluye *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Veillonellae* y algunos *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Bacteroides*.

En el polluelo recién nacido, el buche está poblado inicialmente por *Coliformes*, *Streptococos* y quizás *Clostridium*. En pocos días, son desplazados y dominados por el Lactobacilo.

Al respecto, (Choque-López, 2008) citando a otros autores indica que, "después de la eclosión se establece una abundante carga bacteriana (con valores que oscilan entre 10<sup>9</sup> y 10<sup>13</sup> UFC/g de digesta). El desarrollo microbiano en las primeras horas de vida del ave es muy acelerado. A las dos horas de eclosión puede ser detectados *E. coli* y bacterias del género *Streptococcus* en la excreta de los pollos; entre las 3 a 6 horas posteriores continua el desarrollo de un gran número de bacterias anaeróbicas en el ciego, capaces de la descomposición de ácido úrico, principal sustrato disponible, dada la proximidad del conducto urinario (Cloaca) en esta especie.

En pollos de 1 día de vida se han contabilizado hasta 108 y 1010 UFC/gramo de digesta en íleon y ciego respectivamente”.

El mismo autor también establece que entre el primero y el tercer día del pollito se ve un incremento en la cantidad de microorganismos, ya que hay un aumento de UFC. El crecimiento es paulatino y llega hasta cerca de los 40 días de edad, tiempo en el cual la microbiota se establece y presenta menos cambios como consecuencia del medio. A partir de lo anterior, se concluye que las aves jóvenes necesitan tiempo para establecer su microbiota y que esta es variable y fácil de perturbar (Choque-López, 2008).

La población cecal de bacterias se estabiliza entre las 4 a 6 semanas de edad. El *Lactobacilo* y cantidades pequeñas de *Streptococos* predominan sobre la *Escherichia coli* en el buche de los pollos. Las principales especies de *Lactobacilo* que coloniza el buche son *L. salivarius* (el cual predomina), *L. acidophilus* y *L. reuteri*. Algunos producen enzimas amilolíticas y todos metabolizan la glucosa a ácido láctico, el cual ayuda a mantener el pH del buche por debajo de 6.

Los lactobacilos predominan en el intestino delgado. Los homofermentadores producen solo ácido láctico del metabolismo de la glucosa y los heterofermentadores, también alcohol y ácido acético entre otros productos.

Grandes cantidades de *Enterococcus* y *Clostridium*, así como *Lactobacillus* están presentes en los ciegos. La *Salmonella* sp. puede colonizar tanto el buche como los ciegos. Los Cocos anaerobios Gram positivos constituyen el 30%, los abastionados Gram negativos no formadores de esporas constituyen el 20%, los abastionados Gram positivos no formadores de esporas, incluyendo el *Eubacterium* constituyen el 16 %, las bacterias en proceso de formación son el 10% y hay aproximadamente los mismos porcentajes de *Bifidobacterium*, *Clostridium* y menores cantidades de *E. coli* (Kogut, 2019).

#### **4.1.2.2 Cerdos.**

La colonización microbiana ocurre en el ganado porcino en un periodo de tiempo relativamente corto, pudiéndose determinar algunos géneros en tan solo las tres primeras horas de vida del lechón. Se ha comprobado que durante los tres primeros días la flora digestiva de los lechones es similar a la de la madre, al igual que la composición microbiológica de sus heces, lo que indica claramente que las heces son el principal origen de las bacterias que inciden

en la colonización del sistema gastrointestinal. Esta similitud se va perdiendo al transcurrir el tiempo, obteniendo similitudes entre camada, pero con muchas diferencias en relación a la madre (Roca-Canudas, 2008)

Durante el parto se inicia la colonización del sistema digestivo, con el contacto del lechón con los microorganismos presentes en la vagina de la cerda. Después, a través de las heces y la piel.

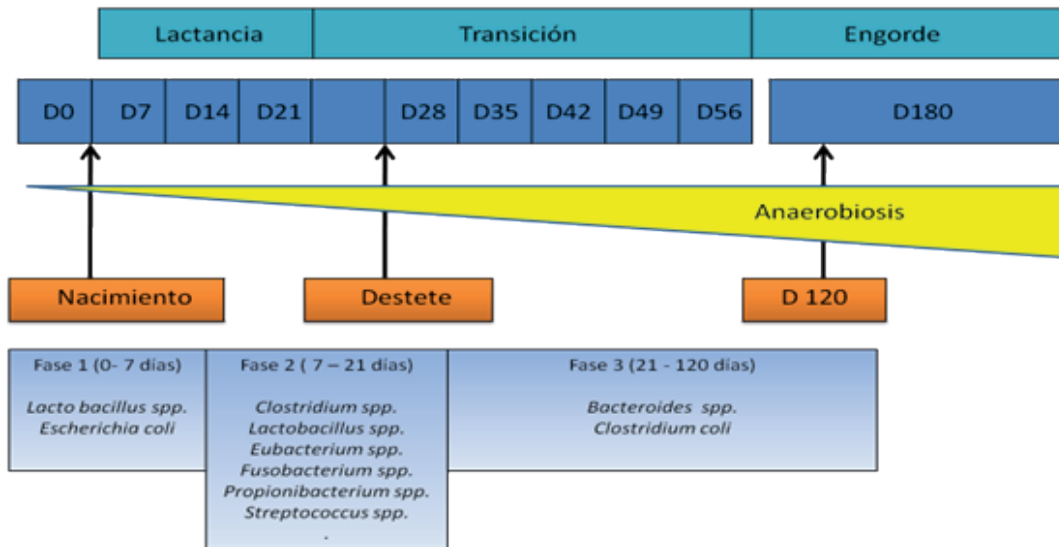
(Swords et al., 1993) evaluaron la variación de las poblaciones microbianas en el colon distal del cerdo en los primeros 120 días, encontrando valores de 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> UFC/g en las primeras horas de vida hasta 10<sup>9</sup> UFC/g al final de este tiempo. Durante la primera fase (después del parto hasta la primera semana de vida) se encontró que la microbiota estaba formada mayoritariamente por bacterias aeróbicas o anaeróbicos facultativos, que representan cerca del 80% de las bacterias colonizantes. Días después este número de bacterias disminuye en forma gradual y hay un reemplazo de bacterias anaeróbicas estrictas. Los *Lactobacillus* sp son el grupo más representativo de esta fase, pudiendo constituir un 8 - 10% del total de la población microbiana (Roca-Canudas, 2008).

Para la segunda fase (final de la primera semana a terminar la fase de lactancia) se encontró un continuo cambio de microorganismos aerobios por anaerobios. En esta fase se encontraron *Clostridium* sp., *Eubacterium* sp., *Fusobacterium* sp., *Propionibacterium* sp., al igual que microorganismos anaerobios del grupo *Streptococcus*.

La tercera fase se caracteriza por el cambio de microorganismos anaerobios Gram-positivos con organismos Gram-negativos aerobios, especialmente del genero *Bacteroides* sp. Con el tiempo, a eso de los 120 días de edad, se observa una reducción de las bacterias aeróbicas, ya que representan solo el 0,1% del total de las poblaciones bacterianas (Gao et al., 2019).

En animales adultos, la población de microorganismos alcanza un valor de 10<sup>11</sup> UFC/g en materia fresca (figura 22).

**Figura 22**  
**Colonización del colon distal de los cerdos**



Fuente: (Roca-Canudas, 2008)

**Contenido de microorganismos en las diferentes partes del sistema digestivo.** La cavidad oral contiene distintos tipos organismos anaerobios, aeróbicos, facultativos y anaeróbicos estrictos, que puede a llegar a crecimientos de  $10^7$  UFC/g.

El estómago alcanza valores de  $10^7$  a  $10^9$  UFC/g. se han aislado *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus*, *Clostridium sp.*, *Eubacterium sp.* y *Bifidobacterium sp* (Roca-Canudas, 2008).

En el intestino delgado, existe una variación de acuerdo con la sección. En la parte inicial del intestino se observa cantidades de  $10^7$  UFC/g de digesta y en las dos partes posteriores se encuentra valores de  $10^8$  -  $10^9$  UFC/g de digesta. Se ha encontrado que los movimientos peristálticos limitan el crecimiento de las bacterias, razón por la cual está colonizado por bacterias con una alta capacidad de adherencia al epitelio. Esta propiedad aunada al pH (6) y la presencia de sales biliares suministran las condiciones necesarias para el crecimiento de bacterias de diferentes tipos de la familia Bacillaceae (*Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*), Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*) y Lactobacillaceae (*Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.*).

En el intestino grueso, las bacterias alcanzan contenidos de  $10^{11}$  -  $10^{12}$  bacterias/g de contenido digestivo. Este fenómeno se puede explicar por el aumento del pH (5 - 8), una disminución del tránsito

intestinal y el pequeño potencial redox, que permiten las mejores condiciones ambientales para algunas especies bacterianas, sobre todo de bacterias anaeróbicas como *Clostridium cluster IX* y *Bacteroides/Prevotella* (Castell et al., 2019). El intestino grueso alberga entre 400 – 500 especies de microorganismos los cuales conviven en un ecosistema muy complejo.

La existencia de poblaciones bacterianas en el estómago e intestino cumplen la función de evitar la colonización de estas zonas por bacterias potencialmente patógenas, esto se logra ocupando físicamente un nicho biológico.

Por otra parte, la capacidad biológica de las bacterias permite aprovechar las fracciones que difícilmente aprovecha el animal a través de procesos de fermentación. La adaptación de la microflora al tipo del sustrato que alcanza el intestino es bastante alta y los cambios se originan en espacios de tiempo muy reducidos. Sin embargo, el cambio brusco en el alimento (sustrato) con características químicas distintas puede generar disbiosis y diarrea.

En la actualidad, el desarrollo de la microbiota del intestino en animales jóvenes ha sido de mucho interés, esto con el fin de reducir los problemas ocasionados durante el destete, cambios bruscos de alimentación o ayunos prolongados.

El precebo es una de las etapas con mayores problemas sanitarios, durante este periodo se presentan diarreas por *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*. Estas enfermedades disminuyen la ganancia de peso de los lechones, empeora su conversión alimenticia, produce trastornos al sistema inmunológico y en los peores casos la muerte del animal (Jurado et al., 2009).

Estos trastornos digestivos son habituales durante la primera etapa de los lechones y especialmente durante el destete. En este último, el cambio físico de la hembra, la mezcla con otras camadas, cambio en el lugar y modificación de la alimentación producen estrés en el lechón. Como consecuencia de lo anterior, se encuentra un incremento de los microorganismos patógenos (bacterias, virus, etc) (Bellaccini, 2014).



#### 4.1.2.3 Cuy.

Algunas de las enfermedades que presentan los cuyes pueden estar relacionadas con la población bacteriana que se encuentra en sistema digestivo de este, por lo cual es necesario tener en cuenta cuales son estos microorganismos.

De acuerdo con (Caycedo-Vallejo et al., 2009), en el estudio del pH del tracto digestivo de varias especies animales, entre ellas el del cuy (*Cavia porcellus*), encontrando gran variabilidad en las distintas porciones del tracto con pH para cada porción así: porción anterior del estómago 4,5; duodeno 7,6; íleon 8,2; ciego 7,0 y colon 6,7.

Estudios anteriores realizados por el mismo autor, en los cuales se diagnosticó la población bacteriana en el tubo gastrointestinal del cuy, se encontró que el 74% de los animales resultaron positivos a bacterias localizadas en el ciego, porcentaje igual al encontrado en la porción del intestino; respecto a la identificación se encontraron *Staphylococcus* sp., *Yersinia* sp., *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp. y *Enterococcus* sp. con mayor proporción en ciego e intestino.

(Ríos-Tobón et al., 2017) mencionan que el tracto intestinal contiene gran número de no patógenos como protozoarios y *Candida albicans* que también están presentes en la flora normal del intestino. Las bacterias gastrointestinales que componen la flora normal están en su mayoría distribuida entre bacterias Gram positivas anaeróbicas y *Lactobacillus*. Las bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y *Clostridium* están ausentes de la flora normal o están presentes únicamente en muy pequeñas cantidades.

En una investigación realizada por (Correa et al., 1994) se identificaron las bacterias existentes en diferentes partes del tracto intestinal (ciego, intestino y estómago) de cuyes que comprendían edades entre los 0 - 12 días, 13 - 30 días y mayores de 30 días de edad, identificándose en ciego las siguientes bacterias *Escherichia coli*, *Yersinia* sp., *Shiguella* sp., *Citrobacter diverssus*, *Estreptococcus viridans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus* sp., *Proteus mirabilis*, *Alcaligenes faecales*, *Proteus* sp. y *Staphylococcus dorado*. En intestino, *Escherichia coli*, *Yersinia* sp., *Staphylococcus dorado*, *Shiguella* sp., *Enterobacter aerogenes*, *Protusmirabilis*, *Proteus* sp., *Staphylococcus* sp., *Alcaligenes fecales* y *Citrobacter diverssus*, y en estómago: *Staphylococcus viridans*, *Staphylococcus dorado*, *Shiguella* sp., *Escherichia coli* y *Yersinia* sp.

El germen predominante en las tres porciones correspondientes a ciego, intestino y estómago fue la bacteria *Escherichia coli*, con un mayor nivel de presencia en la etapa comprendida entre los 13 - 30 días de edad del cuy (levante), con ausencia de este germen en la porción del estómago para el mismo periodo; en segunda medida de prevalencia se encontró la bacteria *Yersinia* sp., la cual está representada para todas las edades en ciego e intestino, en cuanto a estómago solamente se resalta su disposición para edades superiores a los 30 días de edad. En la tercera posición con mayor grado de prevalencia se encuentra el germen *Shigella* sp. distribuida de forma uniforme para las edades de destete, levante y ceba en las tres porciones, no obstante, en el estómago de los animales de levante no se presentó esta bacteria.

#### **4.1.24 Equino.**

Hasta hace poco, la identificación de microorganismos intestinales se realizaba mediante métodos dependientes del cultivo que limitaban los resultados a especies cultivables únicamente. Sin embargo, estos métodos están siendo reemplazados o complementados con nuevos enfoques integrales como la culturomica, un método que incluye múltiples condiciones de crecimiento para una muestra original subdividida junto con tiempos de incubación extendidos, en combinación con métodos de identificación rápida de bacterias como la espectrometría de masas por desorción láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (MALDI-TOF-MS). Con estos métodos es posible obtener una descripción general, rápida y ampliada de los componentes bacterianos cultivables de una muestra de interés. Los espectros de masas de especies hasta ahora no identificadas podrían generarse y asignarse mediante el uso adicional de secuenciación de ARNr 16S. En consecuencia, la culturomica puede verse como una especie de renacimiento de las técnicas basadas en el cultivo en microbiología, produciendo resultados que son fáciles de combinar con otros métodos comúnmente utilizados para estudiar microbiomas animales (Ericsson et al., 2016).

Comprensión del microbioma equino. En la actualidad es necesario distinguir dos regiones principales: el tracto gastro intestinal (TGI) superior e inferior. A modo de comparación, el intestino equino superior (estómago, yeyuno e íleon) muestra un microbiota más variable corroborada por un alto rendimiento de bacterias ambientales presentes en el forraje. Además, miembros de las



*α-Proteobacteria* tales como *Methylobacterium* sp., *Rhizobium* sp. y *Sphingomonas* sp. son comúnmente abundantes en esta región intestinal. Por el contrario, la composición de la microbiota que reside en el TGI inferior de los caballos (ciego y colón) parece notablemente estable, a pesar de variables como la historia individual, la raza o la edad.

Además de una población rica que incluye un espectro diverso de especies bacterianas con sus bacteriófagos, la microbiota del intestino posterior equino también incluye protozoos, hongos, levaduras y arqueas. Teniendo en cuenta las bacterias residentes, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Verrucomicrobia* se encuentran entre los filos predominantes en el intestino posterior equino. Otros estudios revelaron una población abundante de arqueas metanogénicas en el colon equino. Estos microbios metabolizan el H<sub>2</sub>O y el CO<sub>2</sub> para producir metano y probablemente apoyen la degradación de las bacterias celulolíticas en el intestino inferior. Las vías metabólicas esenciales para una nutrición suficiente de los caballos dependen de las interacciones funcionales de los microbios obligatorios necesarios para una degradación exitosa de los nutrientes. Algunas familias de bacterias pertenecientes a los filos residentes, así como otros microorganismos del TGI equino se han caracterizado con respecto a su actividad (prevista) asociada a la nutrición.

(Mura et al., 2019) encontraron un papel importante en la degradación enteral de las fibras vegetales para los hongos anaeróbicos. En 2013, se informó que *Piromyces equi*, un hongo monocéntrico anaeróbico, poseía una exoglucanasa importante, que es totalmente capaz de digerir la celulosa. Junto a *Piromyces equi* solo se describieron otras dos especies de hongos morfológica y metabólicamente diferentes: *Piromyces citronii* y *Caecomyces equi*. También existe evidencia de otros nuevos taxones de hongos cultivados a partir de heces equinas, que aún deben caracterizarse e investigarse más.

En la actualidad, el conocimiento sobre el papel de los bacteriófagos en el intestino equino es escaso. Varios estudios estiman una proporción de 10<sup>10</sup> a 10<sup>11</sup> bacteriófagos por gramo de heces, que incluyen hasta 60 tipos de fagos morfológicamente distintos. (Golomidova et al., 2018) proporcionaron pruebas de la afinidad de los fagos por las bacterias con un elevado número de poblaciones. Una población densa suele estar más incrustada y ajustada en su entorno biológico que las bacterias con un número de población menor. Los autores señalaron un vínculo directo entre la diversidad

y la abundancia de cepas de *Escherichia coli* y la abundancia relativa de colifagos específicos.

Muchos sistemas ecológicos se forman a partir de interacciones depredador-preso. Sin embargo, el TGI a menudo promueve relaciones comensales entre diferentes miembros de la comunidad. Se supone que los bacteriófagos influyen en la aptitud de las bacterias intestinales y apoyan la colonización y la adaptación del huésped, particularmente en casos de cambios ambientales, incluidas las fuerzas antibióticas.

#### **4.1.3 Microbiología del tracto gastrointestinal de rumiantes**

Los microorganismos presentes en el rumen provienen de diversas fuentes y la primera implantación proviene del contacto del neonato con su ambiente, ya sea por aire o alimento (calostro), las bacterias que logran implantarse son enterobacterias (*E. coli*), *Enterococcus*, *Bacillus esporulados* y *Clostridium perfringens*. Este grupo de bacterias establecerá paulatinamente la función de fermentación del rumen y se incrementará su volumen con la edad del animal, convirtiendo a este órgano en un medio especialidad para la actividad microbiana.

Un variado número de géneros aerobio facultativos y otros esporógenos también se reproducen en el rumen para hacer más complejo el sistema ruminal.

Debido a que en la superficie del alimento (forraje, heno, etc) se desarrollan millones de microorganismos, estos pueden ingresar al rumen y se adaptan fácilmente al ambiente ruminal, que selecciona y garantiza las mejores condiciones ambientales para su supervivencia.

Según (Rios-Díaz, 2014) el ecosistema ruminal está compuesto por una compleja población de hogos, bacterias anaeróbicas y protozoarios que se desarrollan en un ambiente altamente selectivo. Estos microorganismos se adaptan para vivir en condiciones anaerobias, elevada densidad celular y grandes ritmos de dilución, se observa predación de los protozoarios y se han adaptado a la utilización de polímeros vegetales como la celulosa y la hemicelulosa. Estos microorganismos le permiten al animal digerir compuestos que de otra manera no los podría utilizar el hospedero. Por los procesos bioquímicos realizado por estos microorganismos se obtienen productos metabólicos como los ácidos grasos volátiles.

Las bacterias representan el 50% de la biomasa ruminal y tienen como función el metabolismo del rumen. Cerca del 8% de esta la constituyen los hongos, los microorganismos permanecen en la zona de movimiento lento de la ingesta para evitar un lavado (Gonzales & Pérez, 2014).

Dentro de los microorganismos en el rumen, los protozoos son los de mayor tamaño, por lo que a pesar de un bajo porcentaje en la biomasa, representa una gran proporción del peso de este, con valores que representan hasta un 40% del peso de la biomasa (Gonzales & Pérez, 2014).

El rumen alberga entre  $10^{10}$  a  $10^{11}$  UFC/mL. Estos valores son poco afectados por la dieta, aunque el tipo de especies presentes varía de acuerdo con el sustrato que se le suministra a través de la dieta del animal.

Dado que el ambiente del rumen tiene características anaeróbicas, la mayoría de bacterias que predominan son anaerobias estrictas. Aunque esto no impide el crecimiento de bacterias anaerobias facultativas, que se desarrollan sobre la pared del rumen y usan el oxígeno que se encuentra en la circulación del animal. De este grupo, las bacterias que realizan la fermentación de la celulosa tienen un lugar importante en el metabolismo de los forrajes, siendo estos el alimento principal de los rumiantes (Gonzales & Pérez, 2014).

El mismo autor menciona que, las bacterias en el rumen se han especializado y ha incrementado su requerimiento nutricional. Sin embargo, otras necesitan menores requerimientos energéticos y por consiguiente son menos constantes.

En el rumen se observa sintropia entre las bacterias presentes, por lo que deben combinar su capacidad metabólica para degradar distintas sustancias, y que no podrían metabolizarlas de manera individual. Los estudios realizados en la flora ruminal han descubierto varios grupos sintróficos que están relacionados con la degradación de celulosa, hemicelulosa y las bacterias que producen metano (Xie et al., 2021).

- **Bacterias celulolíticas:** Este grupo es muy importante, ya que digerir la celulosa es la función principal del rumen. Las bacterias se adhieren a las partículas vegetales y sobre ellas secretan distintas enzimas para hidrolizar los oligosacáridos, de manera especial la celobiosa. Cuando no se puede

hidrolizar la celulosa, habrá inhibición en el crecimiento de otro tipo de bacterias como se mencionó anteriormente, por el efecto de sintropia.

En el rumen se puede encontrar muchas bacterias celulolíticas. De acuerdo con (Blanco, 1999), entre este tipo de bacterias tenemos a *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides succinogenes* y *Butyrivibrio fibrisolvens*. Bajo determinadas condiciones, otras especies como *Eubacterium cellulosolvens* puede constituir la bacteria celulolítica más importante en el rumen. Muchas de las especies celulolíticas pueden también degradar la fracción mal llamada hemicelulosa.

- **Bacterias hemicelulíticas:** este polisacárido complejo, se diferencia de la celulosa por un enlace por hexosas y pentosas (enlace B 1,4), en la pared celular la podemos encontrar formando enlaces con proteínas, celulosa y lignina, lo que incrementa su resistencia al ataque de enzimas de animales no rumiantes y hace necesario la simbiosis con microorganismos que poseen la capacidad de degradar estos enlaces para liberar los carbohidratos simples que la estructuran. La hemicelulosa es el segundo carbohidrato estructural de la fibra presente en el forraje, lo que demuestra la importancia de la microbiota ruminal para su degradación y utilización por parte de los animales rumiantes.
- **Bacterias amilolíticas:** este grupo de bacterias no pueden usar la celulosa como fuente de energía. Este conjunto es muy diverso y solo degradan material amiláceo como cereales, ácidos grasos volátiles (AGV), entre otros. Su proliferación en el rumen depende de la dieta del animal, ya que se incrementa cuando se suministra suplemento balanceado a los animales. Las bacterias amilolíticas más importantes en el rumen son: *Bacteroides amylophilus* o *ruminicola*, *Succinivibrio dextrinosolvens* y *Streptococcus bovis* (Blanco, 1999).
- **Hongos:** “Los flagelados poseen zoosporas móviles y colonizan regiones dañadas de los tejidos vegetales en las 2 horas de la ingestión, en respuesta a materiales solubles. En las 22 horas, más del 30% de las partículas mayores se ven invadidas por rizoides. Su rol principal es facilitar la

desaparición de la pared celular de la célula vegetal. Se han identificado especies de 4 géneros: *Neocallimastix*, *Caecomyces* (formalmente *Sphaeromona*), *Pyromyces* (formalmente *Phyromonas*) y *Orpinomyces*" (Montalbetti, 2010).

"Los hongos liberan un complejo celulósico más soluble que el de las bacterias y atacan partículas rugosas a las que fermentan más rápidamente que las bacterias. Alimento altamente molido o concentrado presenta menos cantidad de hongos"(Lugo-Peña, 2011)

- **Protozoos:** junto con las bacterias existe otro grupo de microorganismos que están presentes en el rumen; los protozoarios, este es un grupo adaptado a las condiciones ruminales, se pueden considerar como endosimbiontes en los rumiantes, ya que ayudan en la degradación de celulosa y en la regulación de otro tipo de bacterias, ya que son depredadores de estas. Este grupo es el segundo más abundante en el ecosistema ruminal, se han encontrado más de 24 géneros y su biomasa representan cerca del 50% del rumen, debido entre otras cosas a su tamaño. Entre las especies que podemos encontrar a nivel del rumen están: *Dasytricha ruminantium*, *Isotricha prostoma*, *Diplodinium dentatum*, *Eudiplodinium maggi*, *Ophryoscolex caudatus* y *Eudiplodinium affine*.

## **4.2 Microbiología de los productos de origen pecuario**

### **4.2.1 Microbiología de la carne**

Aunque el músculo como tal es prácticamente estéril, la preparación de derivados cárnicos produce susceptibilidad de alimento a la contaminación, por ofrecer un medio óptimo para el desarrollo microbiano que, sin las adecuadas medidas o prácticas de manejo durante el proceso, pueden desencadenar no solo alteración de la calidad sino también graves problemas de salud pública.

La carne puede contaminarse por microorganismos a través de dos vías; por infecciones adquiridas por el animal vivo, invasión postmortem, contaminación endógena, las dos vías son importantes, pero la contaminación exógena que es la principal causa de infecciones e intoxicaciones.

La carne es expuesta a los microorganismos desde el desangrado hasta su consumo. En el desangrado es posible que el cuchillo empleado este contaminado por microorganismos o que al seccionar los vasos sanguíneos se introduzcan microorganismos procedentes de la piel del animal provocando una bacteriemia e infección de los tejidos. Otra vía de contaminación inicial es el percutor de una pistola de perno cautivo, el cual puede tener una carga bacteriana del orden de  $4 \times 10^5$  microorganismos por  $\text{cm}^2$  de metal (tabla 4).

En la planta de beneficio hay muchas fuentes de contaminación, como la piel y suciedad impregnada en la misma, el contenido gastrointestinal, el agua, el aire, el personal, los recipientes y utensilios (Cervený et al., 2009).

**Tabla 4**

**Carga microbiana encontrada en una planta de sacrificio**

<b>Fuentes y método de calculo</b>	<b>Temperatura de incubación °C</b>	<b>Bacterias</b>	<b>Levaduras</b>	<b>Mohos</b>
<b>Piel (No. /cm2 superficie)</b>	20	3,3 x10 <sup>6</sup>	580	850
	-1	1,5 x 10 <sup>4</sup>	89	89
<b>Suciedad superficial (No. / g de peso seco)</b>	20	1,1 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>	1,2 x 10 <sup>5</sup>
	-1	2,8 x 10 <sup>6</sup>	1,4 x 10 <sup>4</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>
<b>Contenido gastrointestinal: heces (No. / g de peso seco)</b>	20	9,0 x 10 <sup>7</sup>	2,0 x 10 <sup>5</sup>	6,0 x 10 <sup>4</sup>
	-1	2,0 x 10 <sup>5</sup>	70	1700
<b>Aire (No. Depositado en el aire por cm2 / hora)</b>	20	140	-	2
	-1	8	-	0,1
<b>Agua de lavado de pisos (No. Max. / mL)</b>	20	1,6 x 10 <sup>5</sup>	30	480
	-1	1000	10	50

Fuente: (Blanco-Suarez, 2017).

La piel de los animales es la principal fuente de contaminación. En canales almacenadas a -1 °C, los cuatro principales géneros bacterianos son *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas*. Entre los mohos los géneros más comunes son *Mucor*, *Cladosporium*, *Alternaria* y *Esporastrichum*.



#### **4.2.1.1 Carnes rojas.**

La carne roja está formada por tejido muscular esquelético voluntario y proviene de bovinos, ovinos, porcinos, caprinos, ciervos, equinos y camellos. Si bien estas carnes se pueden preparar de muchas formas diferentes, todos los métodos tienen en común la necesidad de evitar que las carnes se echen a perder, por lo general manteniendo el contenido microbiano lo más bajo posible. Por lo general, esto se hace mediante las condiciones adecuadas de sacrificio, el almacenamiento de la carne y la cocción a una temperatura lo suficientemente alta.

Las condiciones en las que se sacrifica a un animal pueden marcar una gran diferencia en el contenido microbiano. Dado que la suciedad y las heces a menudo contaminan la piel del animal, la manipulación de la piel, las pieles y las fugas de partes del tracto digestivo pueden contaminar el resto del cadáver. Asimismo, los cuchillos sucios y los pernos cautivos también presentan un riesgo de contaminación. Por esta razón, es muy importante evitar la contaminación de la canal y mantener limpias las condiciones de trabajo (Cervený et al., 2009).

Después de cortar la carne, se lleva a almacenamiento. Según (Alarcon-Rojo et al., 2015) esta etapa es donde ocurre la mayor parte del crecimiento microbiano. Una forma sencilla de almacenar carne es envolverla y envasarla al aire; sin embargo, la carne tendrá una vida útil más corta. En estas condiciones, la población bacteriana está dominada por bacterias psicrótroficas aeróbicas como *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter*, *Enterobacter* y, a veces, *Brochothrix thermosphacta*.

El almacenamiento en envases al vacío ayudará a eliminar la formación de metamioglobina (dando una coloración marrón) e inhibirá los organismos aeróbicos; sin embargo, *Lactobacillus*, *Carnobacterium* y *Leuconostoc* aún pueden crecer. Incluso el almacenamiento en condiciones atmosféricas modificadas de niveles elevados de oxígeno (70 - 80%) y dióxido de carbono (20 - 25%) todavía no eliminará el crecimiento.

Para disminuir aún más el riesgo de crecimiento microbiano, las carnes se procesan, curan y cocinan con mayor frecuencia. Las carnes molidas como hamburguesas o salchichas tendrán un crecimiento microbiano en todas partes, no solo en la superficie, por lo que es necesaria una cocción adecuada a un mínimo de 70 °C durante dos minutos (equivalente) en el punto de calentamiento más lento. Pasado este punto, la carne debe consumirse inmediatamente,



manteniéndose a una temperatura  $> 63$  °C antes del consumo; o se enfría rápidamente a  $< 8$  °C y se almacena a temperaturas frías (un máximo absoluto de 8°C, pero una menor prolongará la vida del producto en mayor medida).

***E. coli* patógena.** Los patógenos transmitidos por los alimentos representan un riesgo para la salud pública para los consumidores y una preocupación importante para la industria alimentaria. Un agente infeccioso en particular, *Escherichia coli* O157:H7, es un patógeno potente productor de toxina shiga (STEC) con la distinción de ser el serotipo más común en América y el agente culpable en los principales brotes transmitidos por alimentos en todo el mundo. Las STEC prosperan en el tracto gastrointestinal de los rumiantes, los vectores más comunes de la infección humana por *E. coli* O157:H7 son los productos de carne de vacuno poco cocidos y los productos lácteos no pasteurizados.

Lo anterior muestra la importancia de protocolos de detección rápidos y precisos para un control de los alimentos eficaz. Sin embargo, incluso esto no está exento de desafíos importantes. Los métodos de detección tradicionales requieren un mínimo de 48 horas para obtener resultados. Otro problema específico de los métodos basados en cultivos es la tolerancia al ácido de *E. coli* O157:H7 y el escaso crecimiento en el punto de temperatura de 44 - 45 °C, lo que dificulta la obtención de una detección precisa y confiable.

Cuando se trata de enfermedades transmitidas por los alimentos, mantener los estándares de la industria para el monitoreo de los alimentos es clave para la seguridad del consumidor. Esto es especialmente cierto para patógenos ubicuos como *E. coli* O157:H7. La tecnología innovadora puede ofrecer a los profesionales de la industria los medios para gestionar mejor y prevenir los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos.

Aunque actualmente las canales no entran en contacto con el piso, la carne se puede contaminar durante las demás operaciones incluidas durante el proceso, entre las cuales se pueden mencionar la refrigeración, congelación, industrialización, empaquetado, transporte y distribución (Bolton et al., 1996).

Entre los microorganismos contaminantes, procedentes de personas enfermas o de los portadores sanos se pueden mencionar: *Bacillus proteus*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Clostridium welchii*, *Streptococcus faecalis* y *Bacillus cereus*.

Entre los procedentes del suelo se destaca principalmente *Clostridium botulinum*.

Los microorganismos en la carne son la fuente principal de intoxicaciones alimentarias. Su presencia altera factores como el color, el olor y el sabor a demás de las características fisicoquímicas. Los cambios de coloración se producen por la alteración o destrucción de los pigmentos del músculo o por producción microbiana de pigmentos; los olores pútridos se deben principalmente a la descomposición de proteínas y aminoácidos por la acción de microorganismos anaerobios, mientras que los olores ácidos se deben a la descomposición de azúcares y otras moléculas pequeñas (figura 23).

Muchos microorganismos alteran la carne produciendo ácidos grasos libres y pigmentos amarillos o verdes a partir de la grasa de la superficie.

Los síntomas de alteración de la carne o sus productos se relacionan en forma directa con la ausencia o presencia de oxígeno y con el tipo de microorganismo contaminante que predomine (Alarcon-Rojo et al., 2015).

**Figura 23**  
**Alteración de la carne por microorganismos.**



Fuente: *dreamstime.com* (2000)

Entre “los factores que influyen en el crecimiento de los microorganismos en las carnes se mencionan la actividad de agua (Aw), el potencial de óxido–reducción (Eh), el pH, las necesidades

nutritivas y la temperatura. En productos cárnicos también influye la inclusión de aditivos” (Restrepo-Molina et al., 2010).

Actividad de agua (Aw). Según (Huatuco, 2014) “la Aw mide la disponibilidad de agua del medio donde se encuentran los microorganismos, lo que es igual a la relación entre la presión de vapor de agua de la solución y la presión de vapor de agua del agua pura. El Aw de la carne fresca es de 0,98 – 0,99, cifras que son sumamente favorables para la multiplicación de todas las especies microbianas. Las variaciones en el Aw de la superficie de la carne (relacionada con la humedad relativa) tiene grandes repercusiones sobre el crecimiento microbiano superficial; todo descenso en el Aw supone una desecación que se opone a la multiplicación microbiana. Podría pensarse entonces que debería descartarse la conservación de la carne en ambientes húmedos, sin embargo, el ambiente seco asociado con el frío, que provoca una buena inhibición microbiana, trae consigo problemas como pérdida de masa y por consiguiente pérdidas económicas”. (p. 7)

Potencial de óxido - reducción (Eh). Luego de la muerte del animal, los músculos tienen reservas de oxígeno en las células, esto hace que el potencial de óxido-reducción tome un valor elevadamente positivo, esto favorece la proliferación de microorganismos aeróbicos. Dentro de este grupo de microorganismos que contaminan la carne se encuentra los géneros *Pseudomonas* y *Micrococcus*. Después de un lapso de tiempo, el oxígeno reservado se agota por la falta de circulación sanguínea que lo remueva, lo que conllevando a que el Eh profundo se vuelva negativo. Durante el proceso de maduración de la carne, se producen condiciones reductoras que propician el crecimiento de microorganismos anaerobios, especialmente los de putrefacción, en este grupo tenemos al género *Clostridium* como el más representativo. Entre los organismos facultativos más representativos están los géneros coliformes, *Streptococcus*, *Estafilococcus* y *Lactobacillus*. Los géneros *Pediococcus* y *Streptococcus* son aerobios y se pueden encontrar como contaminantes de la carne.

pH. Para esta caso (Huatuco, 2014) menciona que, el músculo vivo tiene un pH cercano a la neutralidad. Cuando el animal muere, este valor baja rápidamente hasta valores de 5,4 a 5,8, aunque este parámetro puede variar de acuerdo con las condiciones de sacrificio y la especie.

El pH afecta a los microorganismos, ya que estos son sensibles a la variación del pH, cuando el pH desciende rápidamente las bacterias son las más afectadas, seguidas por la levadura y los mohos son los que más resisten pH bajos. De acuerdo con lo anterior, las carnes que tienen pH elevado presentan mayor acción microbiana y por consiguiente más problemas de putrefacción. Los estudios han demostrado que las bacterias pueden crecer en rangos de pH de 5 y 8, aunque se debe aclarar que cada especie tiene un rango más específico.

Necesidades nutritivas. El músculo presenta distintos procesos bioquímicos, luego de la muerte del animal, y en este proceso, se liberan nutrientes que pueden ser aprovechados de manera efectiva por los microorganismos. Es tan complejo los nutrientes que aporta la carne, que puede satisfacer necesidades nutricionales simples como las requeridas por *Escherichia coli* hasta los complejos requerimientos nutricionales del *Streptococcus faecium*.

Temperatura. El músculo tiene una temperatura alta, aproximadamente 37°C, temperatura que se mantiene inmediatamente después del sacrificio. Los microorganismos mesófilos pueden crecer a temperaturas de 25 a 40 °C, aunque algunas especies lo pueden hacer a los 10°C. Por lo anterior, la canal se refrigera lo más rápido posible, y durante los procesos de corte, almacenamiento y comercialización se debe continuar con la cadena de frío. Sin embargo, hay organismos psicrófilos que pueden crecer, aunque de forma lenta, a los 0°C, con una temperatura óptima entre 10 y 30°C, a este grupo pertenecen los géneros *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas*.

#### **4.2.1.2 Microbiología de la carne de pollo.**

Al respecto (Organización de Consumidores y Usuarios de España (OCU), 2016) la Organización de Consumidores y Usuarios de España (OCU [2016]) menciona lo siguiente:

“En la carne de pollo, **las bacterias suelen albergarse en su interior y pueden provocar intoxicaciones** alimentarias. De igual manera, se puede observar la presencia de antibióticos y de bacterias resistentes a los mismos. El estudio microbiológico de Bolder (2007) realizado en distintas muestras de carne de pollo demostró los siguientes resultados el número de bacterias psicrótróficas, que es un indicador general de higiene, es aceptable en todas las muestras analizadas a las 24 horas de la compra. A este respecto, descubrimos una ligera

diferencia en el número de bacterias psicrófilas, menor en los productos de bandeja que en los productos comprados a granel. Algo lógico porque los productos están envasados en una atmósfera modificada que retrasa el crecimiento de bacterias para aumentar su duración” (p. 3).

El estudio demostró que *Listeria*, *Salmonella* y *E. coli*, estaban presentes en la mayoría de muestras y la especie *Campylobacter* se postula como un problema emergente que causa preocupación, ya que está en un 88% de muestras.

#### 4.2.2 Microbiología de la leche cruda

“Por ser la leche un producto biológico rico en hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y oligoelementos, y por poseer un pH óptimo (cerca de la neutralidad), se constituye en un medio adecuado para la multiplicación de la mayoría de las bacterias contaminantes” (Doria-Betin & Rivero-Vilora, 2007). Además, tiene gran cantidad de compuestos nitrogenados y citrato. Entre los compuestos nitrogenados se encuentran: aminoácidos, proteínas, urea y amoníaco, entre otros (Ellner, 2000).

De acuerdo con (Castillo-Albarracín & Álvarez-Martínez, 2016), los microorganismos pueden alcanzar la leche a través de dos vías importantes: mamaria y medio externo.

- **Vía Mamaria.** Los microorganismos que pueden alcanzar la ubre igualmente pueden llegar a contaminar la leche antes o después del ordeño. Estos microorganismos pueden alcanzar la leche por vía mamaria ascendente o mamaria descendente. Por vía ascendente lo hacen bacterias que se adhieren a la piel de la ubre y posterior al ordeño entran a través del esfínter del pezón (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, coliformes). La vía descendente o hematógena la utilizan los microorganismos que pueden causar enfermedad sistémica o tienen la propiedad de movilizarse por la sangre y a través de los capilares mamarios llegar a infectar la ubre (*Salmonellas*, *Brucellas*, *Mycobacterium tuberculosis*).

“En la leche procedente de vacas con infecciones agudas el contenido de bacterias por cuarto al comienzo del ordeño puede superar el 1.000.000/ml. Ejemplo: una vaca con mastitis puede producir leche

con 107 bacterias/ml y si es subclínica de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> bacterias/ml, entre las cuales están *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. uberis*, bacterias comúnmente asociadas a cuadros de mastitis. Igualmente, aunque poco frecuente, pueden causar mastitis; *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Pasteurella*, *Proteus*, *Serratia*. Uno de los microorganismos más frecuentemente causante de mastitis es el *Staphylococcus aureus*, el cual además es resistente al tratamiento antibiótico común y es capaz de producir una enterotoxina, que por su termo - resistencia no es destruida en la pasteurización, pudiendo llegar a causar enfermedad en el consumidor” (Wonalixia, 2011).

Se ha observado que la leche con infecciones subclínicas causadas por streptococos y estafilococos tiene un contenido aproximado de 25.000 bacterias/ml.

Los estudios demuestran que en la piel se desarrollan varios tipos de microorganismos entre los que se encuentran micrococo. A nivel de canal del pezón, se puede encontrar *Staphylococcus aureus* coagulasa, *Micrococcus*, *Corinebacterium* (especialmente bovis) y estreptococos no patógenos (Spuria et al., 2017).

- **Medio externo.** “La contaminación de la leche puede ocurrir una vez que esta ha sido extraída de la glándula mamaria. Los utensilios, tanques de almacenamientos, transportes e incluso el personal que manipula la leche son fuentes de contaminación de microorganismos que utilizan esta vía” (Fuentes-Coto et al., 2013).

Las Principales fuentes de contaminación de la leche cruda de acuerdo con (Wonalixia, 2011) son el animal y el aire.

- **El animal.** La leche debe ser estéril al salir del pezón, su carga bacteriana es baja, entre 100 a 10.000 bacterias/mL, valores que se pueden incrementar por una mal manipulación. Las bacterias pueden ingresar por el pezón a la vía mamaria, especialmente cuando se presentan lesiones que afectan su integridad. El medio también puede afectar la ubre, ya que esta entra en contacto con el alimento, el suelo y muchas superficies que pueden contaminarla.
- **El aire.** Es un medio hostil para los microorganismos debido a la presencia de oxígeno, el contenido de humedad, las variaciones en la temperatura, la cantidad de radiación solar,



entre otros. Para ello, se necesita que los microorganismos tengan una maleabilidad a los cambios que le permita adaptarse, mantenerse en el aire y poder contaminar la leche. Dentro de este grupo, las bacterias Gram negativas son más sensibles que las Gram positivas, lo que los hacen más efectivos para la colonización de distintos ambientes a través del tiempo. Al estudiar el aire se ha encontrado esporas de mohos como *Penicillium* y *Aspergillus* y bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Streptomyces* (tabla 5).

**Tabla 5**  
**Origen de los microorganismos de la leche**

<b>Origen</b>	<b>Numero de bacterias</b>
<b>Bacterias provenientes del aire</b>	100 - 1.500 UFC/ml
<b>De la ubre</b>	300 - 4.000 UFC/ml
<b>Piel de los pezones</b>	500 - 15.000 UFC/ml
<b>Infecciones de la ubre</b>	300 - 25.000 UFC/ml
<b>Equipamientos</b>	Desde miles hasta millones de UFC/ml
<b>Equipo de ordeño</b>	1000 - 10000 bacterias/ml
<b>Tanque de refrigeración</b>	5000 - 20000 bacterias/ml

Fuente: Heer (2007), p.1.

De acuerdo con (Fuentes-Coto et al., 2013) otras fuentes de contaminación son:

**Agua.** Se usa para la limpieza de utensilios y equipos del ordeño, la limpieza del personal y los animales, por lo que debe ser lo más limpia. Se ha encontrado que este fluido es una importante fuente de contaminación microbiana, se puede encontrar organismos psicrófilos como *Pseudomonas* e incluso bacterias coliformes. Para garantizar un agua adecuada los resultados de microbiología deben presentar 0 coliformes y no más de 100 bacterias saprófitas totales por cada 100 mL de agua.

**Suelo.** Este es una de las principales fuentes de microorganismos, ya sean termodúricos o termófilos. Las buenas prácticas evitan que la leche entre en contacto con el suelo, sin embargo, el personal, los animales y los utensilios de manera indirecta los pueden diseminar sobre la misma.

**El ordeñador.** Este empleado es un vector importante de microorganismos que contaminan la leche, especialmente cuando el ordeño se realiza de manera manual. A través del ordeñador, la leche se puede contaminar con agentes patógenos como *S. aureus*, *Leptospira*, *E. coli*, *M. tuberculosis*, *Streptococcus*, etc.

**Estiércol.** Al respecto (Fuentes-Coto et al., 2013) menciona que el estiércol presenta una alta carga microbiana, especialmente coliformes, por lo que es una fuente importante de estos microorganismos. Malas prácticas de ordeño y manejo animal pueden permitir que este alcance la leche o de manera indirecta los utensilios de ordeño.

**Utensilios y Transporte.** El mismo autor (Fuentes-Coto et al., 2013) indica que los materiales usados en la extracción y conservación de la leche pueden incrementar la carga microbiana de la leche un factor de 2 a 50. A partir de esto, se puede mencionar que la higiene de este tipo de utensilios es fundamental para mantener la calidad sanitaria de la leche.

La leche se caracteriza por tener una elevada cantidad de azúcares fermentables, que son aprovechados de manera ordinaria por bacterias ácido lácticas, sin embargo, un descuido en la sanidad de la leche puede hacer que se produzcan otro tipo de reacciones que afecte la calidad de la misma (Grande-Gonzales & Vasquez-Madrid, 2014).

Las principales alteraciones son las siguientes:

- **Agriado o formación de ácido.**

La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor agriado y la coagulación de la leche, esta última produce un cuajado extraño de consistencia gelatinosa y el suero que produce es claro. El proceso de fermentación de la leche se da cuando la



leche no es refrigerada y se deja al ambiente durante algún tiempo. Las bacterias que producen este fenómeno pueden ser homofermentativas, que se caracterizan por producir de manera exclusiva ácido láctico y muy poca cantidad de otras sustancias; o heterofermentativas, producen otro tipo de sustancias y ácido láctico en proporciones similares. Se ha encontrado que la leche agria se produce principalmente por *Streptococcus lactis* cuando la leche cruda está a una temperatura de 10 a 37°C (Navarrete, 2013).

Otro grupo de bacterias, como las termófilas pueden desarrollarse a temperaturas superiores, en este grupo encontramos a *Bacillus calidolactis* y *Lactobacillus thermophilus*.

Entre los principales microorganismos que producen ácido láctico están los géneros *Bacillus*, *Micrococcus* y *Microbacterium* y *Bacillus*. Muchas especies del género *Clostridium* originan ácido butírico, lo que impide la formación de ácido láctico. Para evitar este tipo de problemas en la leche, esta recibe tratamiento térmico, que puede destruir todo tipo de forma bacteriana, aunque se ha encontrado que las esporas de *Clostridium* pueden resistir este proceso y afectar la calidad de la leche (Navarrete, 2013).

- **•Proteólisis.** La hidrólisis de las proteínas lácticas realizada por microorganismos, genera sabores amargos que se producen por cierto tipo de polipéptidos.

Estas alteraciones que producen las bacterias proteolíticas son:

- Proteólisis ácida, en ella se desarrolla de manera simultánea la proteólisis y la producción de ácido
- Proteólisis con acidez mínima e incluso con alcalinidad.
- Leche “cortada”, la cual se produce por la acción de enzimas bacterianas, similares a la renina.
- Proteólisis lenta, esta alteración se da por endoenzimas que liberan bacterias cuando se autólisis.

El anterior fenómeno se produce por una diversidad de especies del género *Micrococcus* y que pueden encontrar en la ubre de la vaca.

- **Leche Filante.** Su nombre se debe a que la leche, al igual que la crema o suero adquieren un aspecto filante; este fenómeno es importante en la leche y crema que se vende. Este proceso se puede realizar con otros métodos que son de origen bacteriano; se produce con bacterias encapsuladas, esta cápsula puede estar compuesto por gomas y mucinas. En los casos que el fenómeno es superficial la causa es *Alcaligenes viscolactis*, este microorganismo procede del suelo o del agua y tiene una temperatura de crecimiento alrededor de los 10 °C.

En la leche esta viscosidad se produce por distintos tipos de bacterias como: *Aerobacter aerogenes*, *A. cloacae*, y en pocas ocasiones *E. coli*.

- **Alteraciones Sufridas Por La Crema o Nata.** De acuerdo con (Guerrero, 2009) "puede ser descompuesta por diversas bacterias, levaduras y mohos que no constituyen grupos definidos si intentan clasificarse de acuerdo con otras características. Las bacterias son en su mayor parte aeróbicas o facultativas, proteolíticas y no producen ácido".
- **Producción de álcali.** Las bacterias que producen álcali son aquellas que pueden alcalinizar la leche, pero no producen proteólisis. Esta reacción puede formar urea, amoníaco o carbonato o producir ácido cítrico a partir de ácidos orgánicos.

Este tipo de bacterias crecen a temperatura moderada o baja y tienen la capacidad de sobrevivir a la pasteurización de la leche. En este grupo encontramos: *Micrococcus ureae*, *Pseudomonas fluorescens* y *Trifolii alcaligenes faecalis*.

- **Alteraciones del aroma.** Los procesos metabólicos y químicos que producen las alteraciones mencionadas en párrafos anteriores generan cambios en el aroma de la leche. Entre estos cambios tenemos:

- **Aromas agrio o ácido.** El olor que produce *Streptococcus lactis* se lo considera limpio, mientras que hay otros que producen olores aromáticos como es el caso de los estreptococos, que crecen de manera simultánea con *Leuconostoc*. Estos últimos producen sustancias aromáticas.
  - **Aromas amargos.** Son producto de la proteólisis, en otros casos de la lipólisis y en muy pocos de fermentación de la lactosa.
  - **Sabor acaramelado.** Esta sensación a leche quemada se debe al crecimiento de ciertas de cepas de *Streptococcus lactis*.
- **Modificaciones del color.** De acuerdo con (Guerrero, 2009), “los microorganismos pueden alterar el color al mismo tiempo que producen otras de las alteraciones anteriormente citadas. El color puede estar producido por el desarrollo de bacterias o mohos pigmentados en la superficie sobre la que forman un velo o anillo, o inclusive la diseminación por toda la leche”.
    - **Leche de color azul.** *El mismo autor menciona que “Pseudomonas syncyanea en cultivos puros produce colores en la leche que oscilan entre el gris azulado y el pardo; si junto a él se desarrolla un germen formador de ácido tal como el Streptococcus lactis, produce un color azul oscuro”(Guerrero, 2009)*
    - **Leche parda.** *Este color es consecuencia de la oxidación enzimática que los microorganismos realizan sobre a tirosina, de forma especial Pseudomonas fluorescens (Guerrero, 2009).*
  - **Mastitis y células somáticas.** En esta sección se describe brevemente la relación entre la infección por mastitis en vacas y la presencia de células somáticas en la leche. La mastitis es una inflamación de la ubre, generalmente causada por una infección microbiológica. La mastitis puede ocurrir en todos los mamíferos, incluidos los humanos. Muchos

tipos de microbios pueden causar infecciones y pueden transmitirse tanto de fuentes ambientales (por ejemplo, agua contaminada, suelo, ropa de cama) como de fuentes contagiosas (de otras vacas infectadas). Los microbios pueden entrar en la ubre y multiplicarse. Los microbios pueden ingresar a la leche a medida que pasa por la ubre durante el proceso de ordeño. La mastitis en las vacas (u otros animales lecheros) puede ser una fuente de bacterias que causan enfermedades (patógenos) y organismos que deterioran la leche.

La leche de vacas infectadas con mastitis generalmente tiene recuentos totales de bacterias y células somáticas más altos que la leche de vacas no infectadas. Por lo tanto, los productores de leche y los procesadores utilizan los recuentos de bacterias y de células somáticas como indicadores de la calidad higiénica y sanitaria respectivamente, de la leche. En general, cuanto mayor sea el recuento, menor será la calidad de la leche. La leche de vacas con mastitis puede tener sabores desagradables y puede sufrir un deterioro de la grasa y proteína de la leche más rápidamente que la leche de vacas sanas.

Existen normas reguladoras para el número de microbios (recuento total de bacterias), así como para el control de calidad y los parámetros de salud humana (recuento de células somáticas y residuos de antibióticos) en la leche, según lo especificado por la Ordenanza de leche pasteurizada de grado A (2015). Las vacas con mastitis generalmente se separan del rebaño para evitar la propagación de la infección y garantizar la calidad de la leche producida en esa granja. En algunas granjas, las vacas con mastitis son tratadas por la infección con antibióticos. La leche de las vacas tratadas se desecha o se desvía a un tanque separado para evitar la contaminación de la leche recolectada de vacas sanas. La leche de vaca tratada con antibióticos no se utiliza para consumo humano (Bagri et al., 2018).

- **Células somáticas.** Son células de la vaca (predominantemente glóbulos blancos, también conocidos como leucocitos) que normalmente están presentes en la leche. Durante la mayoría de las infecciones por mastitis, la cantidad de células somáticas presentes en la ubre aumenta para ayudar a la vaca a combatir la infección. Hay varios tipos de células somáticas que tienen diferentes funciones en la lucha contra las infecciones. “Las células somáticas pueden contener enzimas lipolíticas y proteolíticas, que degradan grasas y proteínas, respectivamente. Un aumento en el recuento de células somáticas durante una infección por mastitis aumenta la cantidad de enzimas destructivas presentes en la leche, lo que aumenta la tasa de deterioro de la grasa y proteína de la leche” (Benavides, 2016).

#### 4.2.3 Microbiología de los huevos

Aunque se considera que el huevo es estéril hasta el momento de la puesta, se debe tener en cuenta que esta afirmación solo es posible cuando se trata de bacterias causantes de la putrefacción, ya que algunos tipos de bacterias como *Salmonella enteritidis* se transmiten de manera vertical y por consiguiente el huevo procedente de gallinas infectadas está contaminado mucho antes de la ovoposición. Si tenemos en cuenta lo anterior la contaminación bacteriana en los huevos puede proceder de 3 vías distintas según (Benavides, 2016).

1. **Transovárica:** “La yema se contamina con los microorganismos en el momento de ser aspirada por el infundíbulo.
2. **Oviductal:** La membrana vitelina y/o el albumen se contaminan en su tránsito a través del oviducto.
3. **Transcáscara:** Ciertas circunstancias permiten la migración de las bacterias desde el exterior de la cáscara hacia el interior del huevo”. (p. 2)

Respecto a la contaminación horizontal, la primera infección microbiana ocurre durante el paso del huevo a través de la cloaca, por materia fecal, a partir de este momento la contaminación de la cáscara se adquiere de cualquier superficie que entre en contacto

con los huevos: nidales, baterías, sacas, hilos, manos del operario, embalajes, etc, y por consiguiente la flora presente y la cantidad será muy heterogénea (16 géneros de bacterias). Aunque las fuentes importantes de contaminación son el suelo, el polvo y las heces.

Se han encontrado valores bacterianos que van desde cientos hasta millones, siendo la cifra media aceptable de 105 UFC por cáscara. Se encuentra que las bacterias Gram positivas se establecen principalmente sobre la superficie del huevo, ya que tienen una elevada tolerancia a la baja humedad. Por otra parte, en los huevos podridos, se observa un predominio de bacterias Gram- negativas, con especies como *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Proteus* y *Aeromonas*. En general estas bacterias se caracterizan por ser nutricionalmente poco exigentes y por su capacidad de reproducirse a bajas temperaturas (psicrótrofa).

Algunas bacterias presentes en los huevos son incapaces de digerir proteínas, para causar putrefacción, pero pueden formar H<sub>2</sub>S, degradar la lecitina o producir pigmentaciones.

Las características de los huevos alterados permiten identificar que agente es el contaminante:

- Putrefacción blanca, causada por coliformes y *Micrococcus*.
- Putrefacción roja, se produce por *Pseudomonas*.
- Putrefacción verde, la produce *Bacilo piociánico*.
- Putrefacción negra, el organismo causante es *Proteus melanogenes*.

A esto hay que añadir el típico olor a huevo podrido, cuyo origen está en la producción de anhídrido sulfuroso. Con el avance de la putrefacción, se observa modificaciones en la cáscara, normalmente aspectos jaspeados de distintas tonalidades grises o azuladas.

La contaminación por hongos se adquiere cuando los huevos son almacenados en ambientes húmedos, las hifas ingresan por los poros y crean placas coloreadas sobre las membranas testáceas, las cáscaras muestran un color verdoso, de consistencia más o menos mucosa. Pueden llegar a colonizar las yemas cuando las condiciones de crecimiento son óptimas.

En el caso de contaminación interna por hongos es posible observar en las claras de los huevos contaminados colonias con coloraciones específicas; las colonias son verdes si el contaminante es *Aspergillus*, azuladas en el caso de contaminación por *Penicillium*, grises cuando el hongo contaminante es *Mucor*. Cuando estos huevos se ven al ovoscopio se observa manchas de diferentes tamaños.

Se ha encontrado que bacterias del género *Bacillus*, *Micrococos* y *Enterococos* pueden sobrevivir a la pasteurización de los huevos, dada su elevada resistencia al calor. La *Salmonella* muere a temperaturas de pasteurización y por consiguiente su presencia se debe exclusivamente a recontaminación (Stadelman et al., 2013).

## 4.3 Microbiología de alimentos empleados en la alimentación animal

### 4.3.1 Microbiología de alimentos balanceados

Para este tipo de alimento, la microbiología de la materia prima es transcendental para el rendimiento productivo y la seguridad sanitaria de los animales que lo consumen. Además, un mal manejo puede traer consecuencias graves para el hombre, por la aparición de enfermedades alimentarias como *Campylobacter* sp., *E. coli*, *Listeria* sp. y *Salmonella* sp. Por otra parte, la contaminación fúngica de los alimentos balanceados para animales muestra problemas sanitarios en la cadena alimentaria, ya que puede introducir micotoxinas en esta cadena.

Por otra parte, (Adiveter, 2021) mencionan que “la calidad microbiológica del concentrado terminado depende en gran medida de la calidad microbiana de las materias primas utilizadas en su elaboración. Sobre estas materias primas actúan una serie de factores (vectores, temperatura, humedad, tiempo, higiene de instalaciones, temperatura de granulación, etc) que influirán en su calidad microbiana final. Sin embargo, la base de calidad microbiológica de las materias primas deberá considerarse como el punto de contaminación de origen que más afectará a la calidad del producto final”.

Entre los principales agentes contaminantes se encuentran principalmente los hongos, los cuales elaboran metabolitos secundarios (micotoxinas) que provocan en los animales Micotoxicosis. Los hongos capaces de atacar a las plantas en campo son especies pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Claviceps*, *Fusarium*, *Helminthosporium* y *Rhizopus* y los capaces de afectar los productos después de la cosecha son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.



Respecto a los agentes de mayor incidencia en intoxicaciones alimentarias se piensa que *Salmonella* es uno de los principales microorganismos a controlar en plantas procesadoras de concentrados, aunque últimamente vienen adquiriendo importancia los colibacilos, *Listeria*, *C. perfringens* y *Campylobacter*.

También debe considerarse el riesgo de producción de toxinas de algunos hongos. Algunas micotoxinas como las Aflatoxinas se encuentran fácilmente en semillas de algodón, trigo, maíz, sorgo, maní, soya y son capaces de afectar el sistema inmune de los animales que consumen alimentos contaminados provocando que su organismo se vuelva susceptible a agentes patógenos oportunistas (tabla 6 y 7). El valor aceptable de aflatoxinas en alimentos animales debe estar alrededor de los 50 - 100 ppb (Bruch, 1967).

**Tabla 6**

***Criterios micológicos para algunas materias primas empleadas en la elaboración de alimentos balanceados***

<b>Ingrediente</b>	<b>Bueno</b>	<b>Regular</b>	<b>Malo</b>
	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>
<b>Algodón</b>	0 - 10000	10.000 - 25.000	>25.000
<b>Arroz</b>	0 - 3000	3.000 - 7.000	>7.000
<b>Avena descascarillada</b>	0 - 3000	3.000 - 7.000	>7.000
<b>Cebada</b>	0 - 20000	20.000 - 40.000	>40.000
<b>Centeno</b>	0 - 20000	20.000 - 40.000	>40.000
<b>Maíz grano</b>	0 - 40000	40.000 - 100.000	>100.000
<b>Maíz gluten</b>	0 - 8000	8.000 - 15.000	>15.000
<b>Sorgo</b>	0 - 30000	30.000 - 50.000	>50.000

<b>Ingrediente</b>	<b>Bueno</b>	<b>Regular</b>	<b>Malo</b>
	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>
<b>Salvado de trigo</b>	0 - 30000	30.000 - 50.000	>50.000
<b>Girasol peletizado</b>	0 - 15000	15.000 - 30.000	>30.000
<b>Girasol integral</b>	0 - 3000	3.000 - 8.000	>8.000
<b>Torta de soya</b>	0 - 10000	10.000 - 20.000	>20.000
<b>Alfalfa henificada</b>	0 - 10000	10.000 - 25.000	>25.000
<b>Alfalfa deshidratada</b>	0 - 5000	5.000 - 10.000	>10.000
<b>Harina de carne</b>	0-2.000	2.000 - 5.000	>5.000
<b>Harina de pescado</b>	0-2.000	2.000 - 5.000	>5.000
<b>Subproductos de matadero</b>	0-2.000	2.000 - 5.000	>5.000

Fuente: Lopez y Guinovart (2005).

**Tabla 7**

**Criterios micológicos para productos terminados**

<b>Ingrediente</b>	<b>Bueno</b>	<b>Regular</b>	<b>Malo</b>
	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>
<b>Balanceado para aves</b>	0 - 30.000	30.000 - 70.000	>70.000
<b>Balanceado para conejos</b>	0 - 35.000	35.000 - 70.000	>70.000
<b>Balanceado para cerdos</b>	0 - 40.000	40.000 - 80.000	>80.000

<b>Ingrediente</b>	<b>Bueno</b>	<b>Regular</b>	<b>Malo</b>
	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>	<b>(UFC/g)</b>
<b>Balanceado para rumiantes</b>	0 - 70.000	70.000-150.000	>150.000
<b>Ensilajes</b>	0 - 50.000	50.000 - 75.000	>75.000

*Fuente: Lopez & Guinovart (2005).*

Según argumenta la (FAO, 2000) se ha logrado identificar diferentes tipos de micotoxinas, que poseen distintas estructuras químicas y por consiguiente con diferente actividad biológica. En este grupo podemos encontrar toxinas carcinógenas como las aflatoxina B1, ocratoxina A, fumonisina B1, otras del tipo estrógenas (zearalenona), otras neurotóxicas como fumonisina B1, nefrotóxicas como ocratoxina, citrinina, osporeína entre otras.

La (FAO, 2000) también menciona que, muchos de micotoxinas permanecen estables durante la elaboración y almacenamiento del alimento balanceado. El metabolismo de las micotoxinas difiere con la especie. Para el caso del cerdo, se observa que la ocratoxina A pasa la circulación enterohepática y se elimina en forma lenta, a diferencia de las aves, que la metabolizan rápidamente.

Los animales que consumen cantidades considerables de micotoxinas presentan algún grado de intoxicación, la mayoría mueren y los que logran sobrevivir tienen una lenta recuperación. Las micototoxinas provocan disminución en la tasa de crecimiento, disminución en los niveles de proteína muscular, poca o nula ganancia de peso, disminución de la postura, elevada mortalidad y varios casos de lesiones hepáticas.

Respecto al alimento balanceado se dice que se trata de un producto con microbiología estable debido a su baja humedad (10 - 12%). Cuando la humedad es mayor se incrementa el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras, lo que produce pérdidas de nutrientes en el alimento reduciendo su valor nutricional y la contaminación con micotoxinas (tabla 8).

La composición de la flora presente en los concentrados varía según las condiciones climáticas. Aunque en todas ellas hay dominio de las levaduras que consumen gran cantidad carbohidratos del alimento y por lo tanto, reducen su valor energético (Hussein & Brasel, 2001).

**Tabla 8****Las micotoxinas y sus impactos en los animales domésticos**

<i>Micotoxinas</i>	<i>Animales</i>	<i>Efectos observados</i>
<i>Aflatoxina B1</i>	<i>Aves</i>	<i>Descenso en el crecimiento y en la producción, peso y calidad de los huevos, incluida incubabilidad. Presencia de residuos de aflatoxina B1 y M1 en huevos y carne. función n de la unción inmune e incremento de la mortalidad.</i>
	<i>Cerdos</i>	<i>Descenso en el crecimiento, consumo y eficiencia de utilización del alimento. Inmunosupresión, incremento en la incidencia de otras enfermedades, diarreas, desajustes reproductivos y mortalidad.</i>
	<i>Vacuno, ovino y caprino lechero</i>	<i>Reducción de la producción de leche y crecimiento. Presencia de residuos de aflatoxina M en la leche.</i>
	<i>Otros rumiantes</i>	<i>Reducción en el consumo, crecimiento y respuesta inmune.</i>
<i>Ocratoxina A</i>	<i>Aves</i>	<i>Descenso en el crecimiento y producción de huevos, consumo y eficiencia de utilización del alimento. Descenso en la utilización de la energía y la proteína, inmunosupresión e incremento en la mortalidad.</i>
	<i>Vacuno, ovino y caprino lechero</i>	<i>Residuos de Ocratoxina A y sus derivados en la leche.</i>
	<i>Cerdos</i>	<i>Significativo descenso en el crecimiento.</i>
<i>Zearalenona</i>	<i>Cerdos</i>	<i>Infertilidad, hioerestrogenismo, anoestro y reducción de las camadas</i>
	<i>Rumiantes</i>	<i>Hiperestrogenismo y reducción de la producción lechera.</i>

<i>Micotoxinas</i>	<i>Animales</i>	<i>Efectos observados</i>
<i>Deoxinivalenol</i>	<i>Todas las especies</i>	<i>Descenso en el consumo de alimento y ganancia de peso</i>
<i>Fumonisin</i>	<i>Todas las especies</i>	<i>Lesiones hepáticas en cerdos y vacas, leucoencefalomacia equina (ELEM). Edema porcino pulmonar (PPE)</i>
<i>Diacetoxycirpenol y toxina T2</i>	<i>Aves y cerdos</i>	<i>Pérdida de peso, lesiones cutáneas, hemorragias.</i>
<i>Ergotina y otros</i>	<i>Todas las especies</i>	<i>Reducción en el crecimiento. Descenso en la producción lechera</i>

*Fuente: Denli & Pérez (2006)*

En las épocas frías el segundo grupo más importante es el género *Fusarium* que incluye muchas especies productoras de micotoxinas, principalmente fumonisin y tricotecenos. Las fumonisin son neurotoxinas y el grupo de los tricotecenos presenta, entre otras, toxicidad necrosante (tabla 9).

En verano es muy importante la presencia del género *Penicillium* con muchas especies productoras de aflatoxinas que causan hemorragias y hepatotoxicidad.

**Tabla 9**

***Microorganismos presentes en el concentrado para animales según las condiciones climáticas***

<b>INVIerno</b>	
<i>Levaduras</i>	34,67 %
<i>Fusarium</i>	27,54 %
<i>Penicillium</i>	14,80 %
<i>Mucorales</i>	13,97 %
<i>Rhodotorula</i>	6,97 %
<i>Cladosporium</i>	1,27 %
<i>Aspergillus</i>	1,01 %

<b>VERANO</b>	
<i>Levaduras</i>	57,26 %
<i>Penicillium</i>	12,00 %
<i>Cladosporium</i>	6,600 %
<i>Fusarium</i>	6,400 %
<i>Mucorales</i>	6,30 %
<i>Aspergillus</i>	6,00 %
<i>Rhodotorula</i>	4,60 %
<i>Micelios esteriles</i>	0,80 %

Fuente: Agulles (2008), p. 23.

De acuerdo con (Yuquilema- Atupaña, 2017), las especies de microorganismos encontrados en los alimentos balanceados se agrupan en:

**Microorganismos indicadores:**

- Aerobios (indicador útil de conservación de la mercancía).
- Enterobacterias (detección de contaminación fecal antigua).
- Coliformes (indicador de contaminación fecal reciente).
- Enterococos (indicador de la buena desinfección en fábrica).
- Hongos y levaduras (indicador de riesgo de micotoxinas y estado de conservación). (p. 1)

**Microorganismos patógenos:**

- *C. perfringens* (mejor que sulfito-reductores).
- *E. coli*, *Staphylococcus* y *Listeria* para los ensilados.
- *C. perfringens*.
- *Campylobacter* sp.
- *Salmonella* sp.

### 4.3.2 Microbiología de los ensilajes

De acuerdo con (Caballeri & Audel, 2017), los forrajes frescos como el cultivo de maíz, trigo, alfalfa entre otros, se conservan a través de una técnica llamada ensilaje. Este material es muy apetecido en la alimentación animal por su capacidad de conservación entre otras características.

Para lograr un ensilaje de excelente calidad se requiere garantizar una buena fermentación bacteriana de la materia prima. Los resultados del proceso no solo se deben al tipo y calidad del forraje, sino también al proceso de cosecha y la técnica usada.

Como se mencionó anteriormente, la microbiota del ensilado juega un rol importante en el éxito del proceso. La fermentación puede ser adecuada o indeseable; para obtener el primer resultado, se debe recurrir al metabolismo de bacterias productoras de ácido láctico, sin embargo, si en el proceso predominan bacterias de los genero clostridios y enterobacteracea se produce el segundo resultado, el cual no es deseable por el deterioro anaeróbico que produce en la materia prima. El resultado no deseado reduce el valor nutricional del alimento final (ensilado), además produce efectos negativos sobre los productos de origen animal como huevos y leche (Fernandez-Rebollo et al., 2008).

En el grupo de las enterobacterias, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* son especies con una alta patogenicidad y que se pueden desarrollar en los ensilados.

Junto a las anteriores bacterias, los clostridios producen endosporas y también crecen en los ensilajes. Por ello, este tipo de bacteria se utiliza como indicador de calidad higiénica en alimentos, siendo los ensilajes el grupo de alimentos que usan este indicador. Su importancia se debe a su capacidad de sobrevivir el tránsito gastrointestinal y excretarse en las heces, por lo que su transmisión puede ser muy efectiva (Fernandez-Rebollo et al., 2008).

De igual manera, el género *Listeria* tiene importancia para los ensilados, ya que se puede desarrollar en ensilajes mal conservados. Una de las características de esta bacteria es que tolera pH entre 3,8 y 4,2 (bajo). Los problemas que puede causar son aborto, septicemia y encefalitis en animales.

Otro grupo importante para la modificación del ensilado son los hongos, estos pueden ser unicelulares, levaduras, mohos o hongos

filamentosos pluricelulares. Su mayor efecto en el ensilado se debe a la disminución del valor nutritivo del ensilado y la baja palatabilidad que produce. De igual manera, algunas especies pueden producir micotoxinas, que como se vio en otro apartado pueden causar problemas sanitarios en el hombre y los animales (Fernandez-Rebollo et al., 2008).

De acuerdo con (Caballeri & Audel, 2017), el ensilaje se consigue a través de la fermentación láctica en condiciones anaeróbicas. Bacterias productoras de ácido-láctico (BAL) degradan los carbohidratos de fácil fermentación presente en los forrajes y como resultado de este proceso se obtiene ácido láctico y unas pequeñas cantidades de ácido acético. Estos metabolitos reducen el pH del material ensilado y con ello disminuyen el crecimiento de otros microorganismos no benéficos. Cuando el proceso de elaboración se ha realizado, se procede a su almacenamiento y compactación, para finalmente cubrir el material del aire. Este proceso lo podemos dividir en cuatro etapas según el mismo autor:

- » **Fase 1 - Fase aeróbica.** Esta fase dura unas horas, se consume el oxígeno atmosférico que está en la masa vegetal como consecuencia de los procesos respiratorios del material vegetal y al metabolismo de bacterias aerobias y aerobias facultativas. De igual manera, algunas enzimas vegetales, entre ellas carbohidrasas y proteasas ayudan en el proceso, pero bajo un pH ligeramente ácido (pH 6,0-6,5).
- » **Fase 2 - Fase de fermentación.** Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico. Dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAL proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0 (tabla 10).
- » **Fase 3 - Fase estable.** Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la Fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo, otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas.



**Tabla 10**

**Clasificación de las bacterias productoras de ácido láctico en los ensilajes**

<b>Tipo de microorganismo</b>	<b>Especie</b>
<b>Heterofermentativos</b>	
<b>Cocos</b>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	<i>L. dextranicum</i>
	<i>L. cremoris</i>
<b>Bacilos</b>	<i>Lactobacillus brevis</i>
	<i>L. fermentarum</i>
	<i>L. Buchneri</i>
	<i>L. viridescens</i>
<b>Homofermentativos</b>	
<b>Cocos</b>	<i>Streptococcus faecalis</i>
	<i>S. Faecium</i>
	<i>Pediococcus acidilactici</i>
	<i>P. Cerevisae</i>
	<i>P. pentosaceus</i>
<b>Bacilos</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>L. curvatus</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L. coryniformis curyniformis</i>

Fuente: Lacaz et al. (1992), p.4.

- » **Fase 4 - Fase de deterioro aeróbico.** Este proceso se inicia al momento de abrir el silo y el contacto del mismo con el aire. Sin embargo, esto proceso puede iniciar antes como consecuencia de roedores o pájaros. Como su nombre lo indica, hay un deterioro y se da en tres etapas. En la primera, se observa la degradación de los ácidos orgánicos presente en el ensilaje, acción que es desarrollada por

levaduras y en ocasiones por bacterias productoras de ácido acético, como consecuencia se encuentra un incremento del pH, permitiendo el inicio de la segunda etapa. Lo que primero se observa es un incremento de la temperatura como consecuencia de la actividad de algunos bacilos. Finalmente, la tercera etapa se da por la proliferación de microorganismos aeróbicos, en algunos casos facultativos, los microorganismos más representativos son mohos y enterobacterias. El fenómeno de deterioro se observa en todos los ensilajes cuando se exponen al ambiente (aire especialmente). Aunque su evolución depende de la actividad microbiana y su concentración en el ensilaje (Navas Saballo & Morales-Cerda, 2016).

Para evitar fracasos es importante controlar y optimizar el proceso de ensilaje de cada fase. En la fase 1, las buenas prácticas para llenar el silo permitirán minimizar la cantidad de oxígeno presente en la masa ensilada. Las buenas técnicas de cosecha y de puesta en silo permiten reducir las pérdidas de nutrientes (CHS) inducidas por respiración aeróbica, dejando así mayor cantidad de nutrientes para la fermentación láctica en la Fase 2. Durante las Fases 2 y 3, el agricultor no tiene medio alguno para controlar el proceso de ensilaje. Para optimizar el proceso en las Fases 2 y 3 es preciso recurrir a aditivos que se aplican en el momento del ensilado. La Fase 4 comienza en el momento en que reaparece la presencia del oxígeno. Para minimizar el deterioro durante el almacenaje, es preciso asegurar un silo hermético; las roturas de las cubiertas del silo deben ser reparadas inmediatamente. El deterioro durante la explotación del silo puede minimizarse manejando una rápida distribución del ensilaje. También se pueden agregar aditivos en el momento de elaboración del ensilaje que pueden reducir las pérdidas por deterioro durante la explotación del silo (Caballeri & Audel, 2017).

Entre los aditivos se puede emplear antioxidantes, enzimas, antibióticos, nutrientes (carbohidratos solubles; CS) como melaza o alimentos que contienen CS como la caña de azúcar, y como aditivos microbianos, que promueven la fermentación homoláctica, se pueden utilizar *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecalis* en combinación con una fuente de carbohidratos fermentables (Muck et al., 2018)



## **Capítulo 5.**

# **Probióticos y Toxiinfecciones Alimentarias**



## 5.1 Toxiinfecciones Alimentarias

Las personas y los animales muchas veces sufren intoxicación alimentaria, ya sea consecuencia del mal estado de la comida o contaminación de los productos alimenticios.

Las enfermedades alimentarias pueden ser de dos tipos:

- **Intoxicación alimentaria:** Provocada por la ingestión de un alimento cuyo factor de intoxicación puede ser un factor biótico o abiótico.
- **Infección alimentaria:** producto de la invasión, crecimiento y lesión del huésped con microorganismos patógenos que se ingirieron en el alimento.
- **Toxiinfeccion alimentaria:** Se produce debido a la liberación de toxinas que pueden ser exotoxinas o endotoxinas.

En general se trata de enfermedades cortas y con bajo índice de mortalidad. Presentan una incubación entre 2 a 10 h con un síndrome gastrointestinal (diarrea, vómito y dolor intestinal). Suele presentar complicaciones solo con poblaciones susceptibles (hembras en gestación, animales inmunodeprimidos, etc).

Se producen especialmente cuando se suministra alimentos contaminados o en aquellos lugares donde la temperatura es óptima para la proliferación de este tipo de microorganismos, pero que generalmente no son las más adecuadas para los animales.

La mayor parte de intoxicaciones está dada por la presencia de levaduras, mohos y setas comestibles y venenosas, los cuales se caracterizan por tener una estructura eucariota, con metabolismo heterótrofo y pared externa. Esta última (pared) establece el tipo de alimentación y la forma como observe los nutrientes solubles.

Los hongos filamentosos, comúnmente llamados mohos, son activos agentes del biodeterioro. Si bien no causan el tipo de degradación putrefactiva asociada a algunas bacterias, alteran las características organolépticas haciendo que los alimentos enmohecidos no sean aptos para el consumo humano. Debemos hacer la salvedad que algunas modificaciones inducidas por ciertos hongos en los alimentos son deseables, tal como ocurre con algunos quesos, embutidos, etc.

Las micotoxinas presentan estructuras químicas muy diversas y afectan a gran variedad de especies animales (Maestre-Naranjo & Muñoz-Ortega, 2008).

### **5.1.1 Hongos que producen micotoxinas.**

Este tipo de hongos se distribuyen de forma amplia en el medio ambiente, lo que ayuda a que contaminen los alimentos de manera frecuente. Dentro del grupo se destacan 3 géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Igualmente se encuentran otras especies productoras de micotoxinas como *Alternaria*, *Byssochlamys*, *Claviceps*, *Pythomyces*, *Rhizopus*, *Stachybotrys* y *Trichotecium* entre otros.

Se desarrollan sobre numerosos sustratos y con distintos medios ambientales. Por otra parte, Hondo (n.d.) manifiesta que “la presencia de mohos en un alimento no implica necesariamente la presencia de micotoxinas, sino que indica un riesgo potencial de contaminación. Por otra parte, la ausencia de hongos toxicogénicos no garantiza que un alimento esté libre de micotoxinas, pues éstas persisten aun cuando el hongo ha perdido su viabilidad” (Requena et al., 2005)

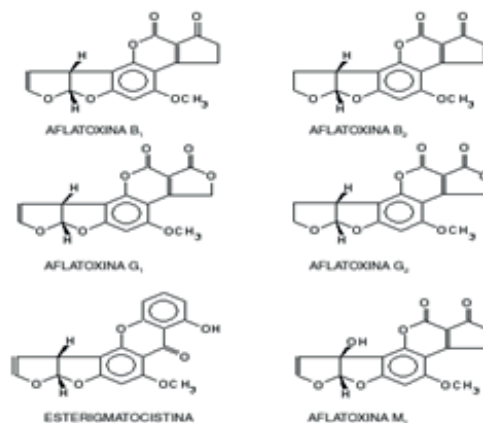
Las toxinas que producen los hongos difieren de las de origen bacteriano, ya que la mayoría de estas últimas son macromoléculas como polisacáridos y proteínas. Mientras que las toxinas de los hongos tienen bajo peso molecular. De igual manera, estas últimas tienen mayor complejidad, lo que ayuda en una mejor estabilidad a agentes químicos y físicos, por lo que son más difíciles de eliminar en los alimentos (Hondo, 2006).

**Género *Aspergillus* y sus toxinas:** este tipo de moho es especial, debido a que causa deterioro de varios productos alimenticios. Se caracteriza por producir metabolitos muy tóxicos para los animales y el hombre. Sin embargo, hay unas especies que tienen interés industrial y otras se usan para fermentar algunos alimentos (Hondo, 2006).

Los *Aspergillus* se caracterizan por su facultad de crecer a distintas temperaturas y en sustratos que contengan variable humedad. Para la mayoría de especies, el rango de temperatura de crecimiento oscila entre 0°C - 55°C. A nivel macroscópico se identifican por poseer distintos tonos de verdes, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Producen un variado número de metabolitos secundarios, entre los cuales son característicos del género *Penicillium*. El aumento de los metabolitos secundarios se da como respuesta al "stress" (figura 24).

Al respecto, (Hondo, 2006) manifiesta que "dentro de las micotoxinas producidas por este género se puede citar entre otras: ácidos aspergílicos (neurotoxina), ácido ciclopiazónico (neurotoxina - necrótica), aflatoxinas B1, B2, G1, G2 (hepatotóxica, cancerígena), citrinina (nefrotóxica), esterigmatocistina (hepatotóxica, cancerígena), ocratoxina A (hepatotóxica, nefrotóxica, teratogénica, inmunosupresora), patulina (hepatotóxica, nefrotóxica)".

**Figura 24**  
**Estructuras químicas de algunas toxinas y metabolitos del género *Aspergillus*.**



Fuente: [http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte\\_2/micotoxinas.html](http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_2/micotoxinas.html) (2007)

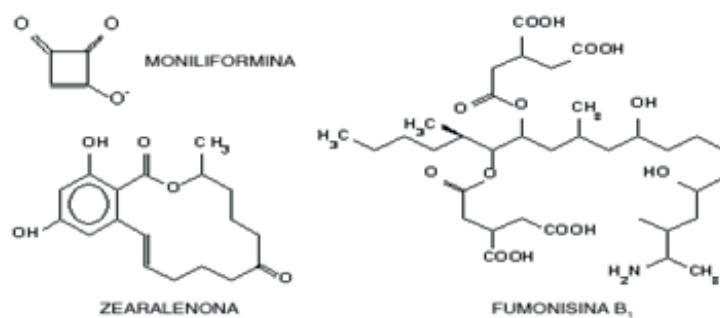
**Géneros Fusarium y sus toxinas:** Esta especie corresponde a “mohos de campo”, se pueden encontrar en vegetales antes y durante la cosecha, además pueden persistir en los productos almacenados. Se ha descubierto, que este género no compite adecuadamente con otro tipo de mohos entre ellos *Aspergillus* y *Penicillium*.

Algunos hongos de este grupo presentan patogenicidad en los cereales y producen micotoxinas mucho antes de la cosecha. Se ha observado crecimiento durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración y son un factor importante en la pérdida de frutas y hortalizas por podredumbre en condiciones de almacenamiento.

Entre sus principales micotoxinas tenemos a diacetoxiscirpenol (DAS), deoxinivalenol (DON), fumonisinas (FUM), moniliformina (MON), nivalenol (NIV), zearalenona (ZEA), toxina T2 (T2), entre otras (figura 25) (Hondo, 2006).

A continuación, se muestran algunas de sus estructuras químicas:

**Figura 25**  
**Estructuras químicas de algunas toxinas y metabolitos del género Fusarium.**



Fuente: [http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte\\_2/micotoxinas.html](http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_2/micotoxinas.html) (2007)

*Tricotecenos*: Son tóxicos potentes de las células eucarióticas, causan lesiones dérmicas y alteraciones en la respuesta inmunológica. Tienen acción letal a altas dosis (Hondo, 2006).

*Zearalenona*: Son estrogénicas, actúan sobre el aparato reproductor, en el cerdo producen vulvovaginitis, abortos y atrofia de genitales (Hondo, 2006).

*Moniliformina*: Produce la leucoencefalomalacia equina, dan temblores y produce la licuación de cerebro.

*Fumonisin*: Interfiere en el metabolismo de los esfingolípidos. Se aislaron la B1, B2 y B3, la principal es la B1, están muy relacionadas con la leucoencefalomalacia equina (Hondo, 2006).

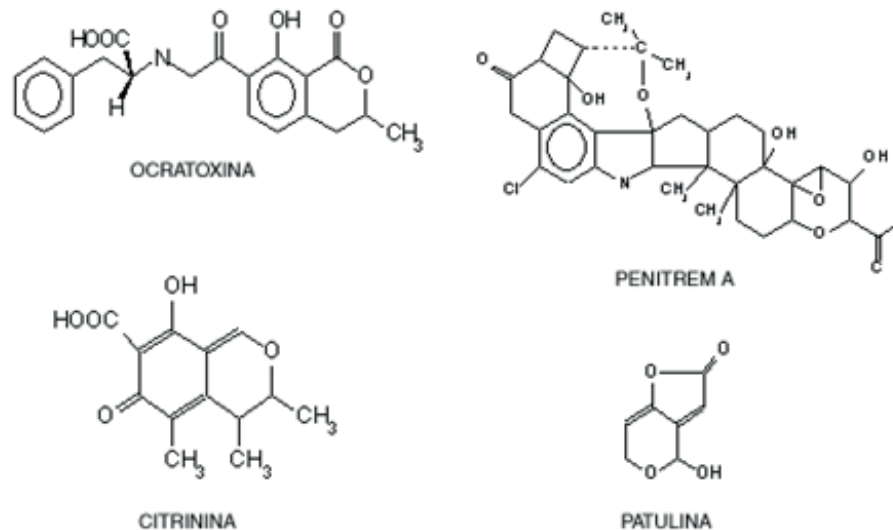
**Genero *Penicillium* y sus toxinas.** “Los *Penicillium* crecen sobre los alimentos preparados o sus materias primas, ya sean de origen vegetal o animal (figura 26).

Sus micotoxinas consumidas regularmente, aún en cantidades mínimas, causan lesiones irreversibles en riñón, hígado, cerebro y tienen actividad teratogénica (alteración morfológica o funcional del feto)” (Hondo, 2006).

“Entre las micotoxinas producidas se encuentran: ácido ciclopiazónico, ácido penicílico, citreoviridina, citrinina, ocratoxina A, patulina, penitrem A, rubratoxina A, rubratoxina B, toxina PR, veruculógeno y roquefortina” (Nicolaeva, 1977).



**Figura 26**  
**Otras estructuras químicas de toxinas del género *Fusarium*.**



Fuente: [http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte\\_2/micotoxinas.html](http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_2/micotoxinas.html) (2007)

**Ocratoxina A:** Producida por *P. verrucosum*, se encuentra sobre cereales, embutidos y quesos. Produce degeneración grasa del hígado y necrosis del tejido renal en aves de corral. Se acumula en tejido graso de animales y de esta forma pasa al ser humano.

**Citrinina:** Es un metabolito de *P. citrinum*. Incorporada en la dieta de animales puede causarles la muerte por degeneración renal.

**Patulina:** Producida por el *P. griseofulvum*, común en cereales y nueces, *P. expansum*, frecuente en manzanas y *P. roquefortii* es ubicuo. Es una micotoxina hepatotóxica, nefrotóxica y mutagénica (Hondo, 2006).

## 5.2 Principales infecciones alimentarias producidas por microorganismos

### 5.2.1 Salmonelosis

De acuerdo con (Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010) “esta enfermedad es producida por pocos serotipos. La incidencia de la enfermedad está en incremento y está cada vez más asociada con animales, que sirven de vectores. Su origen puede ser endógeno (animales portadores asintomáticos) o exógeno. El manejo animal puede potenciar la infección, en cuanto a su propagación”.

Se trata de un agente que causa infección por alimentos. Esta infección es común; los seres humanos, los cerdos, las aves y los gatos en ocasiones son portadores asintomáticos de esta bacteria, aunque la fuente principal de transmisión a los humanos es mediante aves y sus huevos y los roedores (Restrepo-Molina et al., 2010).

De acuerdo con (Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010) “entre los principales factores implicados en esta infección alimentaria se encuentran el consumo de carnes crudas, la recontaminación de alimentos cocidos por manipulación inadecuada, malas prácticas de aseo y de desinfección de los manipuladores, tratamientos deficientes de alimentos que contienen carne y huevos contaminados” (p. 2).

En productos cárnicos que se presente la *Salmonella* sp. tenemos a la carne fresca de cerdo o res, el pescado, la carne de pollo y otros alimentos marinos. De igual manera en alimentos procesados como picadillos, empanadas de carne, carnes curadas y sandwiches (Restrepo-Molina et al., 2010).

### 5.2.2 Shigelosis

Este grupo puede producir cuadros de disentería. Este microorganismo tiene su origen en el ser humano, aunque los animales no huéspedes de ellas. La contaminación se realiza por la mala manipulación de los alimentos por parte de los humanos.

Son causantes de toxiinfecciones *Shigella sonnei*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. boydii*. Se encuentran especialmente en el agua, medio por el cual contaminan a los alimentos. Las moscas también son vectores de diseminación del microorganismo.

Pertencen al grupo de bacterias mesófilas y su temperatura óptima de crecimiento está por arriba de los 37°C, con un rango entre los 10 y 40 °C. pueden tolerar una concentración de 5 a 6 % de NaCl y son termosensibles.

Los alimentos que tienen una mayor implicación en las infecciones son el caramon, los atunes y la carne de pavo (Formal et al., 1958).

### 5.2.3 Gastroenteritis por *Escherichia coli* enteropatógena

Los serotipos de *E. coli*, en su mayoría, son inocuos, pero existen algunos enteropatógenos que provocan graves enfermedades en niños, adultos y en animales.

Es el agente causante de enfermedades alimentarias, que puede solo infectar y en ocasiones generar toxinas cuando ha invadido el tracto digestivo.

Se la puede encontrar como huésped normal del tracto gastrointestinal de animales y el hombre y se utiliza como indicador de contaminación fecal de los alimentos y el agua (Restrepo-Molina et al., 2010).

Es una bacteria que puede crecer a temperatura de refrigeración (1 a 5°C) y pertenece al grupo de las bacterias Gram negativas facultativas. Este microorganismo puede producir problemas alimenticios por una mala cocción de los alimentos, ausencia de higiene por parte de los manipuladores y del mismo consumidor.

Los productos implicados en la contaminación son todos aquellos que han sido manipulados bajo escasas normas higiénicas (Restrepo-Molina et al., 2010).

*Escherichia coli* fue aislada por primera vez en 1885 de las heces de los niños por el bacteriólogo alemán Theodor Escherich. Es un organismo comensal normal del tracto gastrointestinal de los seres humanos y, aunque generalmente es inofensivo, puede causar una serie de infecciones como sepsis por gramnegativos, infección del tracto urinario, neumonía en pacientes inmunodeprimidos y meningitis.

Las cepas de *E. coli* fueron reconocidas por primera vez como causa de enteritis por trabajadores en Inglaterra que investigaban la diarrea de verano en bebés a principios de la década de 1940. Hasta 1982, se describieron tres cepas principales: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* enterotoxigénica (ETEC). En 1982, *E. coli* serotipo O157: H7 estuvo implicado en dos brotes de colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (SUH). Este organismo ha sido clasificado como *E. coli* verocitotoxigénico (VTEC).

La colitis hemorrágica se caracteriza por dolor abdominal, diarrea acuosa seguida de diarrea sanguinolenta. El SUH ocurre en todos los grupos de edad, pero es más común en bebés y niños pequeños. Es la complicación más importante de la *infección por E. coli* O157: H7 y se caracteriza por la aparición repentina de anemia hemolítica con fragmentación de los glóbulos rojos, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda tras una gastroenteritis aguda. La enfermedad gastrointestinal puede ser grave con la presentación de HC, y el sistema nervioso central, el páncreas, los pulmones y el corazón también se ven afectados (Meng et al., 2012).

Los alimentos son una de las fuentes más importantes de infección por VTEC y algunos de los implicados son carne de hamburguesa, manzanas magulladas, jugo y leche de manzana sin pasteurizar, patatas, lechuga, agua sin cloro y mayonesa. Se considera que el ganado es una de las principales fuentes de O157: H7, que se transmite a través de la contaminación fecal de los alimentos. La población bovina también es un reservorio importante ya que la muda se produce de forma intermitente, cuyo momento es difícil de predecir. Por lo tanto, los seres humanos pueden infectarse en cualquier momento y se deben tomar todas las medidas para reducir el riesgo para la salud pública.

Los primeros sucesos importantes ocurrieron en los EE. UU. En 1982, que involucraron hamburguesas en cadenas de comida rápida en Oregon y Michigan (Huatuco, 2014). En 1988, 30 estudiantes de una escuela secundaria en Minnesota se enfermaron después

de consumir empanadas de carne parcialmente cocidas y, a fines de 1992 y principios de 1993, se registraron cuatro muertes en cuatro estados (Washington, Idaho, California y Nevada). Estos se atribuyeron una vez más a las hamburguesas. En 1996, el jugo de manzana no pasteurizado estuvo implicado en un brote en California. También en ese año, en un brote en Lanarkshire, Escocia, se cobró 20 vidas en un hogar de ancianos. Esto se debió a que las víctimas consumieron carne de res contaminada con el organismo. En agosto de 1997, Hudson Foods, en su planta en Nebraska, retiró del mercado 25 millones de libras de carne molida después de una infección por *E. coli*.

En 1999, un brote grave afectó al estado de Nueva York, donde 1000 personas se vieron afectadas y se registraron dos muertes. En este incidente, se descubrió que la fuente era un pozo contaminado en la Feria del Condado de Washington en el norte del estado de Nueva York. La escorrentía del estiércol de vaca después de lluvias torrenciales contaminó el pozo y el consumo de agua a través de productos como hielo, conos de nieve y limonada fue la ruta probable de exposición. En 2000, el mayor brote se produjo en Walkerton, Ontario, donde murieron siete personas y 2300 se enfermaron como resultado de suministros de agua infectados. En 2001, se informaron 100 casos de intoxicación por *E. coli* en hogares de ancianos en Ontario, mientras que en 2002 hubo más preocupaciones sobre el agua contaminada en el sur de esta ciudad.

En general, los pacientes infectados suelen ser miembros vulnerables de la comunidad, como personas muy jóvenes o muy ancianas e inmunodeprimidas. La dosis infecciosa de *E. coli* O157: H7 es de 50 a 100 organismos y el período de incubación hasta el inicio de la diarrea puede variar de 1 a 8 días. La calidad microbiológica satisfactoria para *E. coli* O157 es <20 UFC/g con un rango aceptable de 20 a <100 UFC/g. Sin embargo, es la opinión del Comité Asesor de Alimentos y Productos Lácteos (ACFDP) del Reino Unido que los alimentos listos para el consumo deben estar libres de *E. coli* O157 y otros organismos VTEC.

Una importante perspectiva sobre la salud pública debe estar asociada con presentación de brotes de *E. coli* O157: H7. En EE. UU se estima que cerca de 76 millones de personas han padecido problemas por este microorganismo al año. Las estadísticas muestran que cerca de 325.000 personas ingresan al hospital y, de estas, un poco más de 5000 mueren. Se ha estimado que el costo

anual de estas enfermedades es de US \$ 5 - 6 mil millones en gastos médicos directos y pérdida de productividad. *Escherichia coli* O157: H7 causa 73000 enfermedades y 61 muertes por año en los EE. UU (Meng et al., 2012). En el Reino Unido, la Agencia de Protección de la Salud ha indicado que, en 2001, hubo 85.468 notificaciones de intoxicación alimentaria, lo que representa un aumento de seis veces desde 1982. De estas, 768 se debieron a *E. coli* O157: H7. Por lo tanto, está claro que se requieren métodos rápidos y sensibles para detectar este organismo.

#### **5.2.4 *Yersinia enterocolitica***

Patógeno zoonótico psicotrópico que causa gastroenteritis aguda y en ocasiones una enfermedad más grave en humanos. En algunos países, rivaliza con la *Salmonella* como patógeno transmitido por los alimentos y, debido a que puede crecer a temperatura de refrigeración, es una preocupación mayor en función de la seguridad alimentaria. La infección por *Y. enterocolitica* causa varios síntomas, que dependen de factores como la edad del paciente, entre otras. La infección por *Y. enterocolitica* ocurre con mayor frecuencia en niños pequeños menores de 5 años. En su mayoría los casos de yersiniosis ocurren esporádicamente en niños. Los síntomas predominantes en los seres humanos, especialmente en los niños pequeños son diarrea, fiebre y dolor abdominal. En niños mayores y adultos, las consecuencias de la yersiniosis son graves e incluyen infecciones agudas, pseudoapendicitis y secuelas extraintestinales a largo plazo como artritis reactiva y eritema nudoso. Las secuelas inmunológicas secundarias, como la artritis reactiva, no son infrecuentes, especialmente en individuos positivos para HLA-B27.

Se cree que *Yersinia enterocolitica* es un patógeno importante transmitido por los alimentos, aunque rara vez se han aislado cepas patógenas de los alimentos. Se supone que los cerdos son el principal reservorio del patógeno *Y. enterocolitica* porque el cerdo es hasta ahora la única especie animal de la que se han aislado con frecuencia cepas patógenas. Varios animales domésticos como perros, gatos, vacas, ovejas y caballos y varios animales salvajes como roedores (principalmente ratones), monos, ciervos y zorros también han sido incriminados como posibles reservorios (Muck et al., 2018).

*Y. enterocolitica* tiene una distribución geográfica bastante diversa. Se han descubierto un poco más de 50 serotipos distintos, aunque son pocos los patógenos. En Estados Unidos el serotipo infeccioso primero es O: 8, le siguen O: 3, O: 5,27, O: 13a, 13b, O: 20, O: 9, y así sucesivamente. En Europa sucede lo mismo, el serotipo O: 3 es el más frecuente, al igual que en China. Además, varios serotipos demuestran especificidad geográfica; por ejemplo, el serotipo predominante en Australia, Europa y Canadá es O: 3, O: 8 en Japón y O: 9 en Escandinavia, Países Bajos.

La aparición de la yersiniosis probablemente también esté relacionada con los cambios que se han producido en la ganadería, la tecnología y la industria alimentaria. De mayor importancia son los cambios en la industria cárnica, donde la producción de carne ha pasado de mataderos a pequeña escala con patrones de distribución limitados, a grandes instalaciones que procesan miles de cerdos cada día y distribuyen sus productos a nivel nacional e internacional. El tamaño de las explotaciones ha aumentado y los métodos de cría de animales también se han vuelto más intensivos. Si bien muchas técnicas modernas de sacrificio reducen el riesgo de contaminación de la carne, existen oportunidades de transmisión del organismo de animal a animal y de contaminación cruzada de canales y productos cárnicos a una escala que no se conocía hace algunas décadas. Además, *Y. enterocolitica*, en el estudio de la carne de cerdo cruda, se han obtenido tasas de detección más altas mediante PCR que se dirige a varios genes de virulencia codificados cromosómicamente que mediante métodos de cultivo. En algunos estudios de casos controlados, se ha demostrado un mayor riesgo de yersiniosis cuando se consume carne de cerdo cruda o poco cocida. Sin embargo, la epidemiología de las infecciones por *Y. enterocolitica* es compleja y sigue siendo poco conocida (Murillo, 2021).

- **Diarreas por *Vibrio parahaemolyticus* y por otros vibrios próximos al *V. cholerae*.** “Se trata de un bacilo Gram - negativo presente en las aguas marinas. Al ingerirlo produce una gastroenteritis febril en la que las heces aparecen teñidas de sangre. Se ingiere con productos marinos crudos o no bien tratados” (Vega-Panaifo, 2014).

Enteritis por *Campylobacter*. *Campylobacter jejuni* es el agente causal de infección alimentaria. Es un microorganismo microaerófilo y crece mejor a temperaturas de 42°C. Esta



bacteria se encuentra en el intestino de ovejas, aves, ganado vacuno y perros. Su infección muestra síntomas de dolor abdominal agudo, vómitos y fuerte diarrea. Se puede transmitir a través de los mismos alimentos que *Salmonella* o *Yersinia*. Se caracteriza por invadir el epitelio intestinal produciendo una infección severa (Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010).

“Los principales factores implicados en la contaminación del alimento con este microorganismo, son las malas prácticas de higiene de los manipuladores y los tratamientos térmicos deficientes” (Restrepo-Molina et al., 2010).

- **Enteritis producidas por *Bacillaceae*.** Se produce por *Clostridium perfringens* o *Bacillus cereus*. La infección se produce mediante la contaminación de un alto número de bacterias ( $1 \times 10^5$  UFC/g) y puede afectar, incluso, en alimentos que se han procesado de forma térmica como consecuencia de una recontaminación.

*Clostridium perfringens* es una bacteria importante de toxii infecciones, por la producción de toxinas en el intestino del huésped. Este microorganismo se desarrolla en amplios lugares de la naturaleza, su vector principal de transmisión a los alimentos son la manipulación y la contaminación cruzada con alimentos o recipientes entraron en contacto con alimentos contaminados.

Las malas prácticas de higiene en la manipulación de los alimentos son un importante factor en la presentación de la enfermedad, la insuficiente o tardía refrigeración, inadecuado almacenamiento de alimentos con la posible contaminación cruzada (Restrepo-Molina et al., 2010).

La carne roja, blanca y el pescado son los alimentos de origen cárnico con mayores implicaciones en la presentación de toxicoinfecciones, junto a esto los problemas en la refrigeración y un mal procesado térmico (Restrepo-Molina et al., 2010).



- **Enteritis causada por *Listeria monocytogenes*.** Esta bacteria se distribuye en forma amplia sobre la naturaleza, se encuentra en suelo, la vegetación y el agua, al igual que en animales y humanos. Se puede detectar en el aire de las plantas procesadoras, ya sean de aves o carnes rojas (Restrepo-Molina et al., 2010).

Este microorganismo es oportunista y psicrófilo, no forma esporas y se desarrolla en bajas concentraciones de oxígeno, aunque también puede crecer en presencia de este. Puede sobrevivir bajo refrigeración y a temperatura de 0 °C y a pH de 5,0 y 9,5, tiene una alta capacidad de sobrevivir en concentraciones altas de NaCl durante tiempos prolongados y tiene una fuerte resistencia a la deshidratación (Zela-Velasquez, 2012).

Entre los factores con mayor preponderancia en la transmisión de esta infección están mala higiene de manipuladores, utensilios y equipos y utensilios, que están en contacto con los alimentos en la planta procesadora (Zela-Velasquez, 2012).

De manera general, su presencia se observa en las carnes de muchos animales, pero tiene más incidencia en la carne de pavo y pollo, aunque se observa en carnes de oveja y res, algunos estudios han encontrado la bacteria en productos procesados como cárnicos cosidos y productos semisecos y secos (Franco-Duarte et al., 2019).

- **Intoxicaciones alimentarias agudas.** Enfermedades producidas por toxinas de origen bacteriano.

**Botulismo:** intoxicación por *Clostridium botulinum*. Esta intoxicación la genera una dosis baja de neurotoxina esporulada por *C. botulinum*. Generalmente esta bacteria crece en condiciones anaeróbicas con un pH relativamente alto (mayor a 4,5) que no se ha tratado térmicamente en forma adecuada. Causa intoxicación alimentaria ya que “produce toxinas a valores de pH por encima de 4,0. La toxina botulínica es termorresistente y generalmente los tratamientos térmicos de esterilización comercial están diseñados para destruirla” (Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010).

“Este microorganismo se encuentra principalmente en suelos y aguas, y pasa al alimento por las manos de los operarios con malas prácticas de aseo, por el aire o por el contacto con aguas contaminadas”(Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010).

- **Intoxicación estafilocócica.** Es producida por el consumo de alimentos que están contaminados con *Staphylococcus aureus*, bacteria que produce una enterotoxina termorresistente. El principal ambiente de *S. aureus* es la piel y la cavidad buconasal. Se puede encontrar en ojos, garganta y tracto gastrointestinal (Arango-Mejía & Restrepo-Molina, 2010).

Esta bacteria pertenece a los anaerobios facultativos, es un mesófilo, pero necesita una temperatura entre 40 y 45 °C para poder producir enterotoxinas. Se caracteriza por resistir altas concentraciones de sal, hasta valores 20% en algunas cepas.

Al igual que lo dicho en las anteriores bacterias, este microorganismo se desarrolla por una refrigeración deficiente, demasiado tiempo en anaquel, mala higiene del personal de manipulación entre otras.

Los alimentos implicados en esta intoxicación son los mismo presentados en anteriores bacterias (carnes preparadas de res, pollo, pavo o cerdo, al igual que carnes curdas semisecas) (Restrepo-Molina et al., 2010).

- **Síndromes causados por bacterias productoras de aminos vasopresoras.** La capacidad de las bacterias para decarboxilar los aminoácidos permite la producción de aminos vasopresoras que causan mareos en el paciente y mancha rojas en la piel y en los casos más complicados dificultades respiratorias. El efecto sobre los individuos depende de su respuesta a la dosis.
- ***Staphylococcus aureus.***

Las enfermedades transferidas por los alimentos son un importante problema de salud pública en el mundo. La OMS define la enfermedad transmitida por los alimentos (ETA)

como “enfermedad de naturaleza infecciosa o tóxica causada o que se cree que es causada por el consumo de alimentos o agua”. Entre estos casos, 31 patógenos conocidos causan 9,4 millones de enfermedades, 56.000 hospitalizaciones y 1.300 muertes. Utilizando datos de 2.000 – 2.008, los investigadores estimaron que los patógenos implicados en la mayoría de las ETA eran norovirus (5,5 millones; 58%), *Salmonella* sp. no tifoidea. (1,0 millón; 11%), *Clostridium perfringens* (1,0 millones; 10%) y *Campylobacter* sp. (0,8 millones; 9%). Entre muchos patógenos transmitidos por los alimentos, *Salmonella* sp. y *Campylobacter* sp. son las principales causas de ETA en los Estados Unidos, Inglaterra y Australia.

*S. aureus* es una causa importante de ETA, que causa aproximadamente 241.000 enfermedades por año en los Estados Unidos. Sin embargo, la verdadera incidencia de la enfermedad transmitida por los alimentos (SFD) por *Staphylococcus aureus* podría ser mucho mayor, ya que la enfermedad transmitida por los alimentos esporádica causada por *S. aureus* no es notificable en los Estados Unidos. Algunos otros factores que contribuyen a la baja incidencia de SFD incluyen diagnósticos erróneos, recolección inadecuada de muestras y exámenes de laboratorio, falta de atención médica por parte de las personas afectadas, lo que complica la confirmación de laboratorio y falta de vigilancia de rutina de las heces clínicas especímenes de *S. aureus* o sus enterotoxinas. La falta de disponibilidad de los alimentos implicados para la confirmación de las pruebas de laboratorio en el momento de la investigación del brote complica aún más el asunto. Es esencial tener en cuenta que las ETA que se confirman mediante pruebas de laboratorio y se notifican a las agencias de salud pública representan solo una pequeña fracción de las enfermedades. Las ETA imponen una gran carga económica, que representan entre \$ 50 y \$ 80 mil millones anuales en “costos de atención médica, pérdida de productividad y disminución de la calidad de vida” en los Estados Unidos. Se estima que cada caja de SFD cuesta \$ 695 lo que representa un costo total de \$ 167.597.860 anuales en los Estados Unidos. El Instituto de Medicina reconoció la ETA como una alta prioridad. “El potencial de que los alimentos se vean involucrados en la aparición o reemergencia de amenazas microbianas para la salud es alto, en gran parte

porque hay muchos puntos en los que la seguridad alimentaria puede verse comprometida". Aunque la ETA ha disminuido en los últimos años, sigue siendo superior a los objetivos de *Healthy People 2020*. La presencia de patógenos transmitidos por los alimentos en los alimentos listos para el consumo, la carne y los productos cárnicos pone a los consumidores en alto riesgo e impone graves pérdidas económicas a los productores debido a las retiradas de productos alimenticios implicados.

- **Hepatitis tipo A.** Se transmite, de manera especial, en el agua que ha sido contaminada con materia fecal y de alimentos mal manipulados. De igual manera, se puede detectar en productos marinos contaminados. Este virus tiene alta termorresistencia por lo que su manejo se centra en la higienización del operario, los productos y el agua.
- **Virosis de origen animal.** De manera general, los virus de origen animal no suelen ser patógenos para el hombre. Algo importante es que se pueden inactivar con tratamiento térmico. El más característico es el picornavirus.

Muchos de los países que documentan las enfermedades transmitidas por alimentos han encontrado que durante los últimos años se ha incrementado la incidencia de enfermedades causadas por microorganismos en los alimentos, entre las especies tenemos a *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Salmonella* y *Campylobacter*, y parásitos como el *Cryptosporidium*. (Waite & Taylor, 2014). Además, existen reportes sobre el uso incorrecto de antimicrobianos en el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos los cuales han contribuido en la aparición de patógenos resistentes a los antimicrobianos e información sobre los problemas asociados de la salud pública humana.

La FAO y la OMS están a la vanguardia en el desarrollo de los enfoques basados en los riesgos para tratar los peligros en los alimentos que representan un riesgo para la salud pública. Las consultas realizadas a los expertos de la FAO y la OMS sobre riesgos microbiológicos (JEMRA) generaron las directrices para realizar las evaluaciones de los riesgos, que se encuentran en el *codex alimentarius* (FAO, 2021).

## 5.3 Probióticos

El concepto de probióticos se atribuye a (Cole et al., 1989). Sin embargo, existen múltiples definiciones que han complementado la definición propuesta inicialmente. (V. Rodríguez et al., 2019) afirman que la definición apropiada es la propuesta por Havenaar y Huisin 't Veld (1992), que menciona que son: “cultivos simples o mezclados de microorganismos vivos que, aplicados a los animales o al hombre, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microflora intestinal original” (p. 8), pero posteriormente se añade que la dosis debe ser suficiente para tener un impacto en la flora microbiana del tracto gastrointestinal del huésped. En la práctica, los probióticos suelen tener presentaciones destinadas a ser administradas en el agua o en el alimento (Madsen, 2011).

Gunther afirma que los probióticos son “organismos microbianos vivos o muertos de las especies de *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* y *Saccharomyces*, así como productos de la fermentación microbiana, nucleótidos, metabolitos de las proteínas, oligosacáridos, ácidos orgánicos tales como láctico, cítrico, acético entre otros”. (p. 10) Salminen continúa con la definición de “un cultivo microbiano vivo o un producto microbiano lácteo que influye beneficiosamente sobre la salud y la nutrición del hospedero” y según Schaafsma “un probiótico oral son microorganismos vivos que después de su ingestión en ciertos números, ejerce efectos de salud más allá de la nutrición básica inherente” (Díaz-Reyes et al., 2008). (Vanbelle et al., 1990) plantea que los probióticos son “productos naturales, los cuales se utilizan como promotores del crecimiento en los animales, de forma tal, que su empleo permite obtener mayores rendimientos, elevada resistencia inmunológica, reducción o eliminación de patógenos en el tracto gastrointestinal y menores residuos de antibióticos u otras sustancias de usos análogos en los productos finales” (Milián et al., 2016).

(Reid & Friendship, 2002) establecen un concepto más moderno como “una preparación de o un producto que contiene microorganismos

viables, definidos en suficiente concentración para alterar el microbiota (por implantación o colonización) en un compartimento del hospedero y que ejercen efectos beneficiosos en la salud de este". (p. 1)

Por otra parte, la definición sigue en evolución, tratando de adaptarse al desarrollo de nuevos conocimientos científicos. Estos estudios han demostrado que el efecto benéfico de los probióticos se puede dar con microorganismos inactivados o sus componentes celulares (Hessissen, 2016).

Según la Comisión europea (CE), organización encargada de la regulación del empleo de aditivos en la alimentación animal creada por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en una reunión organizada en el año 2002 determina que la aplicación del término probiótico, por ser demasiado general en la aplicación del sector agropecuario, debe sustituirse por el de "Aditivos Zootécnicos", definición que incluye microorganismos y enzimas.

Los actuales sistemas de producción ganadero y la industria de alimentos balanceados necesitan hacerse más rentables, "ya que se ha restringido el uso de aditivos (antibióticos) que podían suponer un riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente, o conseguir unos efectos semejantes con el uso de productos naturales, nuevos y sin riesgo" (Caja et al., 2016).

Para que un microorganismo sea considerado probiótico debe cumplir con ciertos criterios como los siguientes: preferentemente deben ser GRAS (Generalmente Reconocidas como Seguros), no patógenos, tolerantes al ácido y la bilis (Fajardo-Argoti et al., 2021).

La administración de Drogas y alimentos (Food and Drug Administration, FDA) de los Estados Unidos permite a los productores de alimentos obtener la aprobación de los aditivos que usaran en sus productos alimenticios. Este sistema se basa en el listado de ingredientes o Alimentos GRAS (Generally Recognized As Safe).

Aunque muchos no se han sometido a las distintas pruebas, son considerados seguros por la comunidad científica (tabla 11). La lista de drogas y alimentos GRAS contiene alrededor de 700 productos, entre los cuales se mencionan la goma guar, el azúcar, la sal, el vinagre, algunos probióticos. La lista se evalúa continuamente (Jurado-Gómez & Zambrano-Mora, 2020).

**Tabla 11**

**Microorganismos utilizados como probióticos en los animales y el hombre.**

<b>Microorganismos</b>	<b>Genero</b>	<b>Especie</b>
<i>Bacterias lácticas no Esporuladas (Gram +)</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus,</i> <i>L. plantarum,</i> <i>L. casei,</i> <i>L. rhamnosum,</i> <i>L. GG,</i> <i>L. delbrueckii bulgaricus,</i> <i>L. reuteri,</i> <i>L. fermentum,</i> <i>L. brevis,</i> <i>L. lactis,</i> <i>L. cellobiosus</i>
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum,</i> <i>B. longum,</i> <i>B. thermophilus,</i> <i>B. infantis,</i> <i>B. adolescents,</i> <i>B. animalis</i>
	<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus,</i> <i>S. lactis,</i> <i>S. cremoris,</i> <i>S. salivarius,</i> <i>S. intermedius,</i> <i>S. leuconostoc</i>
	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecali,</i> <i>E. faecium</i>
	<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i>
	<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>
	<i>Bacterias lácticas esporuladas (Gram+)</i>	<i>Sporolactobacillus</i>



<b>Microorganismos</b>	<b>Genero</b>	<b>Especie</b>
<i>Bacterias no lácticas Esporuladas</i>	<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis,</i> <i>B. coagulans,</i> <i>B. clausii,</i> <i>B. cereus (var. toyoi),</i> <i>B. licheniformis</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>P. freudenreichii</i>
<i>Levaduras</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae,</i> <i>S. Boulardii</i>
<i>Hongos</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger,</i> <i>A. oryzae</i>

Fuente: Díaz-Reyes et al. (2008).

Un producto seguro se define como “la certeza razonable de que no se va a presentar ningún daño por el uso”. Dentro de este grupo, se puede admitir sustancias que tienen un grado de daño en humanos y animales, aunque a niveles centesimales. Este margen de seguridad se usa como protección al consumidor, ya que limita la cantidad de sustancia a ingerir. Por ello, se necesita que los consumidores conozcan el contenido de ingredientes que presente un producto determinado con el fin de evitar problemas de alergia o intolerancia a algún tipo de alimento.

“Los microorganismos que constituyen los probióticos son principalmente bacterias capaces de producir ácido láctico, biocinas, peróxido de hidrógeno y enzimas, pero también se incluyen bacterias no lácticas, levaduras y hongos” (Ding et al., 2021, p. 3).

Dentro de este grupo las especies que tienen actividad terapéutica y probiótica que mejor se conoce son el grupo de *Lactobacillus*, en donde se destaca las cepas que se aislaron por los suecos Gorbach y Goldin en 1991, el *L. casei aislado* por científicos del Centro de Referencia para *Lactobacillus* de Tucumán, Argentina, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, algunos *Streptococcus* y *Bifidobacterium*. Las dos últimas han demostrado una protección en lactantes, promoviendo un adecuado desarrollo.

Todas las especies que se mencionaron utilizan la lactosa presente en la leche como alimento, por lo que puede ser una fuente de estos microorganismos para el consumidor.



La importancia de los probióticos es significativa, debido a que tienen una aplicación industrial en los productos lácteos; benéficos para el hombre y los animales. Cuando se modifica la flora microbiana intestinal, los probióticos constituyen un importante regulador del estado de salud del organismo huésped. Sus efectos en la salud se determinan por la producción de vitaminas y ácidos grasos de cadena corta, digestión de nutrientes no digeribles, estimulación de la respuesta inmune y protección frente a microorganismos enteropatógenos.

Han sido empleados en el tratamiento de un gran número de patologías, en unos casos la eficacia ha sido demostrada y en otros, solamente sugerida. Su uso más común en el área de la salud es en el tratamiento y prevención de diarreas causadas por virus, bacterias y utilización de antibióticos (Arowolo & He, 2018).

El desarrollo de productos probióticos y su utilización en animales obedece a una necesidad de suplir los antibióticos en la nutrición de las especies zootécnicas. Los primeros se usan para mantener el estatus sanitario de los sistemas de producción y con ello, el mantenimiento adecuado del balance microbiano del sistema digestivo. Con esto se facilita la regulación de la microbiota y la disminución de enfermedades gastrointestinales. De igual manera, se debe tener en cuenta que los antibióticos no solo destruyen la flora microbiana beneficiosa, sino que deja residuos en los productos alimenticios de origen animal y con ello, llegan a la dieta humana (Avila et al., 2010).

Los residuos de antibióticos tienen una serie de efectos trascendentales en el manejo de los microorganismos, los últimos estudios han encontrado que una inadecuada dosificación de los antibióticos, ya sea esta por negligencia en el uso de antibióticos fabricados para el consumo humano o por un mal tiempo de retiro en los productos para consumo humano han generado una serie de bacterias resistentes a los antibióticos, lo que ha dificultado el manejo de bacterias multirresistentes y que están causando graves problemas para la salud pública de muchos países, aunado a lo anterior, los antibióticos son considerados de amplio espectro, lo que significa que destruyen toda la microbiota intestinal del paciente que se administra, con el consiguiente desequilibrio ambiental de intestino y los problemas que ello conlleva como la presentación de patógenos oportunistas que crean cuadros graves de intoxicación e infección en los pacientes.

Se ha encontrado que los probióticos sobreviven bajo condiciones adversas, que se presentan en el TGI; los estudios demuestran que pueden sobrevivir más de 4 horas en presencia de enzimas proteolíticas, con valores bajos de pH en el estómago y con altas concentraciones de jugo pancreático, bilis y mucus en el intestino delgado. Por otra parte, las bacterias usadas como probióticos se deben caracterizar por su capacidad de resistencia a los antibióticos que se suministran en el alimento de los animales, además, de competir con los microorganismos patógenos mediante varios mecanismos como producción de bacteriocinas, producción de ácido láctico para la reducción del pH del medio, producción de peróxido de hidrógeno entre otros (Avila et al., 2010).

Los estudios han demostrado que los probióticos pueden sustituir las terapias con antibióticos, y que estos son menos agresivos, han generado una nueva visión para la industria farmacéutica. Lo anterior, ha conllevado a un aislamiento de bacterias específicas tomadas de distintos ecosistemas, ya sea fincas, regiones, zonas geográficas, y seleccionar aquellas con las mejores características. Luego se ha avanzado en su producción industrial, su procesamiento y la forma de introducción en la alimentación animal. Sin embargo, la falta de estudios rigurosos de estas cepas, ha creado una serie de probióticos con escaso o nula eficiencia en los sistemas productivos. La razón de estos resultados, tal vez se deba a un inadecuado estudio de los alcances de cada cepa, que puede estar respondiendo solo de manera efectiva a determinados ecosistemas (Díaz Galeano, 2021).

Entre los factores que afectan la efectividad, se ha encontrado la gran especificidad que presentan las cepas frente a la especie animal en la que se utiliza, de esta manera se debe estudiar cómo se adhiere en condiciones *in vivo* en el organismo huésped. Con esto se ha encontrado, que algunas cepas aisladas no pueden colonizar los mismos sectores en otras especies animales. Lo que disminuye el desempeño de los microorganismos probióticos en otras especies animales. Recientes estudios están descubriendo que el consorcio de cepas tiene mejores resultados que una sola cepa, dado que se genera una sinergia entre las distintas especies inoculadas. Por otra parte, multicepas es la forma como se encuentran desarrollados los ecosistemas naturales.

En consecuencia, se necesita seguir en la búsqueda de cepas probióticas autóctonas, que estén mejor adaptadas a las distintas necesidades y que posean características específicas para cada sistema de producción de manera particular.

Al respecto (Avila et al., 2010) indican que “los probióticos también pueden incluirse en la preparación de una amplia gama de productos, incluyendo alimentos, medicamentos, y suplementos dietéticos. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas más comúnmente como probióticos, pero la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *E. coli* y *Bacillus* también son utilizados como probióticos. Las bacterias ácido - lácticas (BAL), entre las que se encuentra la especie *Lactobacillus*, han sido utilizadas para la conservación de alimentos mediante fermentación durante miles de años; pueden ejercer una función doble, actuando como agentes fermentadores de alimentos, pudiendo además generar efectos beneficiosos a la salud”.

De igual manera (Navas Saballo & Morales-Cerda, 2016) manifiestan que “la fermentación de alimentos brinda perfiles de sabor característicos y reduce el pH, lo que impide la contaminación provocada por posibles patógenos. La fermentación, se utiliza a nivel mundial para el mantenimiento de una gama de materiales agrícolas sin procesar (cereales, raíces, tubérculos, frutas y hortalizas, leche, carne, pescado etc)”.

“Con la fermentación no solo se consigue conservar y aumentar la vida media de los alimentos sino también incrementar su seguridad. Durante la fermentación de los alimentos se reduce algunos componentes tóxicos como aflatoxinas y cianógenos, se facilita la inhibición y/o eliminación de microorganismos patógenos y alterantes mediante la producción de factores antimicrobianos” (Martín Platero, 2008). Junto a lo anterior, se debe establecer que un incremento en la fermentación puede mejorar los alimentos (vitaminas, aminoácidos esenciales) y favorece la digestibilidad de la fibra y la proteína, lo que aumenta disponibilidad en los distintos nutrientes y ayuda en la eliminación de agentes antinutricionales. Junto a lo anterior, se puede lograr un incremento de las fuentes de calorías para el animal como consecuencias de la utilización de sustratos que no pueden ser digeridos por el organismo huésped. Además, se puede lograr un número mayor de aromas, texturas y sabores dando un valor agregado al alimento (Martín Platero, 2008).

Actualmente los probióticos se clasifican dependiendo principalmente de su origen y sus efectos en:

- **Probióticos naturales.** En este grupo están los lácteos fermentados, como vegetales fermentados, yogurt, leche y quesos, soya, cereales, carnes y pescados fermentados y bebidas alcohólicas artesanales. La dificultad que presentan se debe al bajo control que se tiene de las cantidades terapéuticas de los microorganismos presentes, ya que las condiciones del alimento cambien.
- **Probióticos comercializados.** Son las mismas bacterias presentes en los alimentos naturales, pero que se identifican y cuantifican para su comercialización, garantizando el control de la cantidad de microorganismos presentes en cada dosis consumida.
- **Suplementos alimenticios con probióticos.** Este grupo se caracteriza por la utilización de microorganismos viables que se ha liofilizado y se incorporan en cápsulas o granos para su utilización como aditivo alimenticio.
- **Agentes bioterapéuticos.** Como su nombre lo menciona, son un grupo de microorganismos que tienen una función terapéutica, por lo que pueden ser considerados medicamentos. Su efecto terapéutico debe ser inmediato, competir con organismos patógenos por hábitat, tener resistencia a antibióticos de uso común, estimular el sistema inmune, inhibir el crecimiento de otros microorganismos y competir por los nutrientes (Abd El-Hack et al., 2020).

### 5.3.1 Problemas de seguridad y riesgo relacionados con el uso de probióticos

La mayoría de las publicaciones sobre probióticos en la literatura se ocupan de la eficacia y seguridad de los probióticos en lugar de sus riesgos en el uso práctico. Sin embargo, al igual que con cualquier otro aditivo nuevo para piensos, los productores de cerdos y el público en general tienen algunas preocupaciones sobre el uso de probióticos, así como algunas especulaciones sobre los efectos negativos de los probióticos, si los hay, en el rendimiento de los animales (Xuan et al., 2001). Según (Kritas & Morrison, 2005), cualquier microorganismo que se considere para su uso como probiótico en la dieta de los cerdos debe evaluarse frente a los siguientes riesgos:

La “contaminación” de los alimentos humanos y la infección (gastrointestinal o sistémica) de los humanos que consumen productos porcinos producidos a partir de cerdos alimentados con probióticos.

La lista de riesgos anterior no está completa y en ningún orden de prioridad. No obstante, los riesgos más graves que plantean los probióticos en la alimentación animal pueden ser: primero, la transferencia de resistencia a los antibióticos debido a la presencia de genes/determinantes de resistencia a los antibióticos transmisibles en algunas bacterias probióticas, y en segundo lugar, las infecciones por microorganismos probióticos y la presencia de enterotoxinas y toxinas eméticas en bacterias probióticas (Foligné et al., 2013).

Para considerar el desarrollo del producto, los microorganismos deben identificarse al nivel de cepa. Una cepa en particular no debería haberse asociado con ninguna infección en humanos o cerdos. Asimismo, un supuesto microorganismo probiótico no debería albergar ningún gen de resistencia a antibióticos transferible. Cualquier microorganismo que produzca toxinas o cause hiperestimulación del sistema inmunológico de un huésped generalmente no es adecuado para su uso (Ding et al., 2021).

### **5.3.1.1 Ganado bovino.**

La comunidad microbiana gastrointestinal (GI), que consta de al menos mil especies microbianas diferentes en el intestino humano, tiene un impacto en la eficiencia energética en el huésped, incluida la ingesta, el transporte, la conversión y el almacenamiento de energía. En los rumiantes, una gran cantidad de recuperación de energía de los polisacáridos de la dieta que el huésped no puede digerir se ha atribuido a la función de la comunidad microbiana en el rumen; sin embargo, este proceso también depende de la estructura del microbiota que habita este órgano. Se ha demostrado que los factores ambientales y estocásticos como la composición de la dieta, las prácticas de alimentación y el manejo de la granja, afectan fuertemente la composición y las funciones de la microbiota en los animales de ganado (Zamojska et al., 2021).

La mayor parte de la comunidad bacteriana GI de mamíferos está afiliada a dos filos, *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Por otro lado, otros phyla tienen nichos en cada comunidad, dependiendo de la especie animal. Por lo tanto, la comunidad del tracto gastrointestinal es única

entre las especies que requieren poseer diferentes sistemas para convertir de manera eficiente su dieta en energía. Los principales grupos bacterianos gastrointestinales en el ganado bovino se han identificado como grupos definidos (principalmente géneros) para hasta el 90% de la comunidad total. Sin embargo, una cierta proporción de la comunidad bacteriana intestinal aún no se ha identificado debido a una comprensión incompleta de la estructura de la comunidad bacteriana en los ecosistemas GI porque muchas de las secuencias del gen 16S rRNA recuperadas de muestras fecales se derivan de muestras desconocidas (*es decir*, no identificadas previamente en el microbiota intestinal) especies. Si bien se sabe que en los ecosistemas del tracto gastrointestinal (especialmente en humanos) se ha cultivado una mayor proporción de bacterias, se requiere más investigación para descubrir una mayor proporción de los microorganismos desconocidos abundantemente presentes en la microbiota GI.

El término “probióticos” ha sido modificado por la FAO/OMS por “Microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped”. Varias cepas de bacterias del ácido láctico (LAB), especies pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*, se consideran beneficiosos para el huésped y, por lo tanto, se han utilizado como probióticos y se han incluido en varios alimentos funcionales. Los probióticos tienen la capacidad de optimizar la microbiota intestinal y mejorar la salud de huésped, lo que evita la presencia de organismos patógenos en el intestino, aumenta la capacidad digestiva, permiten una reducción del pH y mejoran la inmunidad en la mucosa intestinal. Es importante que los microbios introducidos no perturben a la población indígena, que ya se ha adaptado al entorno del tracto gastrointestinal para trabajar tanto para el huésped como para él. Además, hay una serie de requisitos para que las cepas probióticas alóctonas se adapten al entorno intestinal de una especie animal, por ejemplo, tolerancia a los ácidos biliares y afinidad por la mucosa intestinal y las glicoproteínas. La situación en el rumen es similar, los microbios ingeridos deben encontrar un nicho adecuado para habitar como el epitelio del rumen, el líquido ruminal o la alimentación fibrosa y ejercer efectos sobre la salud del huésped como la eliminación de moléculas tóxicas y la digestión de carbohidratos poliméricos.

El grupo de los prebióticos son sustancias alimentarias no digeribles que, al consumirse en forma suficiente, permiten la estimulación



el crecimiento y/o la actividad de uno o varios microorganismos intestinales. Los efectos de los probióticos administrados por vía oral (en este caso, denominados simbióticos) y las bacterias beneficiosas intrínsecas del tracto gastrointestinal pueden mejorarse mediante el uso de prebióticos. Los prebióticos más utilizados para producir beneficios para la salud son los sustratos de carbohidratos, como los oligosacáridos o la fibra dietética de baja digestibilidad.

La investigación sobre probióticos y prebióticos se ha desarrollado como un dominio de estudio colaborativo entre los campos de alimentos y piensos con la medicina y la farmacéutica. También hay varios estudios de aplicación para el ganado; sin embargo, pocos se han discutido en asociación con la dinámica de los microorganismos inherentes. Esta revisión exploró el mejor uso de probióticos y prebióticos para mejorar el rendimiento de los rumiantes al discutir los posibles impactos de las aplicaciones de probióticos y prebióticos en la comunidad microbiana GI específica de rumiantes (Musa et al., 2009).

**5.3.1.1 Aplicaciones actuales a los probióticos en terneros.** En los prerrumiantes jóvenes, los probióticos como las especies de LAB o *Bacillus* generalmente se dirigen al intestino delgado y representan un medio interesante para estabilizar la microbiota intestinal y disminuir el riesgo de colonización de patógenos. Los LAB son suplementos probióticos bien conocidos para terneros jóvenes y se consideran aplicables a las prácticas de alimentación regulares. Los hallazgos anteriores respaldan los efectos beneficiosos de estos productos en el equilibrio de la microbiota del tracto gastrointestinal, así como en la nutrición y la salud de los animales. La diarrea es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los terneros durante su vida temprana, por lo tanto, su prevención es importante para promover el crecimiento de los terneros. Se ha aplicado terapia con antibióticos para mantener el rendimiento de los terneros y reducir la diarrea. Sin embargo, debido a las crecientes preocupaciones de seguridad con respecto a los riesgos de resistencia a los antibióticos debido a la liberación de antibióticos al medio ambiente y la persistencia de residuos químicos en los productos animales se han desarrollado aditivos probióticos como alternativas para mejorar la salud y la productividad de los animales. Aunque la administración de probióticos a animales se ha relacionado con la eficacia en grupos específicos (patógenos) en la microbiota

intestinal, actualmente no está claro cómo interactúan con toda la comunidad intestinal. Como se discutió anteriormente, se ha demostrado que el número de lactobacilos y bifidobacterias disminuye en la comunidad en las primeras etapas de la vida del ganado. La optimización de la flora entérica se considera eficaz para una cría sana de terneros porque aumenta el número de estos microorganismos beneficiosos. El aporte de microorganismos junto con el pienso desde el nacimiento de forma preventiva permite la incorporación y establecimiento de estas cepas probióticas junto con la microbiota de los terneros. Además, la colonización temprana por BAL en el ecosistema intestinal puede disminuir la adherencia de patógenos a la mucosa intestinal. Se ha demostrado que una carga microbiana estable de especies de *Lactobacillus* mejora el aumento de peso y la inmunocompetencia en terneros jóvenes; sin embargo, los hallazgos previos con respecto al uso de probióticos en la alimentación de terneros han sido generalmente equívocos. La eficacia de las cepas probióticas puede variar dependiendo de si los terneros se crían en condiciones saludables porque, en estudios previos, los efectos de los probióticos a menudo eran significativos cuando los terneros de control (no tratados) eran menos saludables, según lo determinado por las puntuaciones fecales o la temperatura rectal. En condiciones de estrés, se pueden utilizar microbios de alimentación directa para reducir el riesgo o la gravedad de la diarrea causada por la alteración del entorno intestinal normal. Es necesario comprender mejor cómo las cepas de lactobacilos y bifidobacterias seleccionadas superan los efectos de los patógenos, al antagonizar la patogenicidad y/o modular las respuestas inmunitarias a las infecciones (Khaziakhmetov et al., 2018).

Junto a lo anterior, los estudios realizados por AGROSAVIA han podido generar un producto para uso en terneros, su base se encuentra en probióticos ruminales anaerobios que ayudan al desarrollo ruminal de los terneros. La mezcla de bacterias permite estimular el crecimiento de las papilas ruminales en los terneros y con ello se incrementa la absorción de nutrientes. Los estudios han demostrado un incremento del 22% en la ganancia de peso de los terneros y la reducción en 15 días del cambio de fase no rumiante a rumiante, lo que se traduce en un menor consumo de leche y menores cuadros de diarrea (Aldana et al., 2009).



#### **5.3.1.1.2 Aplicaciones actuales de los prebióticos en terneros.**

Se ha sugerido que varios tipos de oligosacáridos tienen funcionalidades específicas en terneros. Los oligosacáridos de manano (MOS) son azúcares manosa complejos que se cree que bloquean la colonización de patógenos en el tracto digestivo. El estudio de (Bou et al., 2011) demostró que la eliminación de fructooligosacáridos (FOS) en combinación con suero bovino secado por aspersión en terneros redujo la incidencia y la gravedad de la enfermedad entérica. Se ha sugerido que este azúcar previene la adhesión de *Enterobacteriaceae*, más notablemente *Escherichia coli* y *Salmonella*, al epitelio intestinal. La galactosil-lactosa (GL) es un trisacárido (galactosa más lactosa) que se produce mediante el tratamiento enzimático del suero con beta-galactosidasa. Anteriormente se descubrió que la adición de GL al sustituto de leche (MR) tenía efectos beneficiosos sobre el crecimiento y la salud de los terneros lecheros. La suplementación con MOS, FOS y GL puede mejorar el rendimiento del crecimiento de los terneros en la etapa anterior o posterior al destete; sin embargo, las modificaciones de las actividades de fermentación microbiana por estos azúcares aún no se han examinado en detalle. Además, al igual que en el caso de los probióticos es probable que los beneficios observables de los prebióticos sean mínimos cuando los terneros están generalmente sanos. La mayoría de los prebióticos pueden no tener ningún efecto beneficioso aparente (aumento de peso corporal, eficiencia alimenticia o medidas de salud) sobre los probióticos.

Los estudios realizados por (Kumar et al., 2017) evaluaron los efectos de la suplementación con celooligosacárido (CE) que es un oligosacárido disponible comercialmente que consiste en glucosa con enlaces beta1-4 sobre el rendimiento y la ecología intestinal en terneros Holstein. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en las composiciones de la comunidad bacteriana fecal. Sin embargo, esta suplementación pareció modular eficazmente la comunidad bacteriana intestinal de los terneros cuando se administró con leche entera.

Un estudio *in vivo* realizado por (Abd El-Hack et al., 2020) indicó que la alimentación con CE mejoró la ganancia diaria y la eficiencia alimenticia en los terneros durante el período posterior al destete, pero no durante el período previo al destete. Esto

puede deberse principalmente a la mejora en la fermentación ruminal a medida que aumentaron los niveles de propionato y ácidos grasos de cadena corta total (AGCC), lo que sugiere que la CE afectó el patrón de fermentación al proporcionar carbono y fuentes de energía. Después del destete, los alimentos sólidos llegan directamente al rumen y luego se procesan microbianamente. La CE ruminal puede eventualmente ser una fuente de nutrición para varios tipos de microbios autóctonos. Con la excepción de los rumiantes muy jóvenes, los prebióticos administrados por vía oral a los rumiantes son consumidos por microbios ruminales y no llegan al intestino delgado a menos que estén protegidos de la digestión ruminal. La administración de oligosacáridos a terneros destetados todavía parece ser ventajosa porque la formación de una comunidad intestinal deseable (rumen y / o intestino delgado) en terneros a través de la suplementación prebiótica puede contribuir a mejoras adicionales en el rendimiento del crecimiento a una edad más avanzada.

## 5.4 Salud Intestinal

Una salud intestinal óptima es de vital importancia para el rendimiento de los animales de producción. En las industrias de producción animal, la salud intestinal es sinónimo de salud animal. Aunque parece haber una relación directa entre el rendimiento animal y un tracto gastrointestinal (TGI) “saludable”, no existe una definición clara de “salud intestinal” que abarque una serie de características fisiológicas y funcionales, incluida la digestión y absorción de nutrientes, el huésped. Metabolismo y generación de energía, un microbioma estable, desarrollo de la capa mucosa, función de barrera y respuestas inmunitarias de la mucosa. El TGI es responsable de regular la homeostasis fisiológica que proporciona al huésped la capacidad de resistir factores estresantes infecciosos y no infecciosos (Musa et al., 2009) Comprender las interacciones entre estas diversas características fisiológicas enfatiza la extensión de las áreas que abarca la salud intestinal y la capacidad de regular la producción animal. Por nuestra parte, definiremos la salud intestinal como la ausencia/prevenición/evitación de enfermedades para que el animal sea capaz de realizar sus funciones fisiológicas para soportar estresores exógenos y endógenos. Además, las preocupaciones del público mundial sobre la dependencia de las industrias de producción animal en el uso de antibióticos promotores del crecimiento (AGP) han resultado en la prohibición de los AGP por parte de la Unión Europea y una reevaluación de su uso en los Estados Unidos. Por lo tanto, la investigación actual se centra en las alternativas a los antibióticos para la producción sostenible de alimentos para animales.

### 5.4.1 Microbioma

El microbioma complejo no es un sistema inactivo o una simple colección de bacterias, sino una comunidad microbiana intestinal que representa microorganismos que desarrollan inmunidad y mejoran la fisiología de animales y el hombre. Este complejo

sistema trae beneficios en el organismo huésped como una mejor digestión y absorción de nutrientes, contribuyendo a la salud intestinal, el desarrollo y funcionamiento del sistema inmunitario del huésped y compitiendo con los microbios patógenos para evitar su propagación dañina. A diferencia del genoma del huésped, que no se puede modificar fácilmente, el microbioma, se altera con la dieta y otras sustancias como los antibióticos, los problemas de patógenos y muchos otros eventos que se presenten la vida de huésped (Arowolo & He, 2018; Jurado Gámez et al., 2017; Vanbelle et al., 1990).

Los antibióticos tienen un gran efecto sobre la microbiota normal del huésped alterando el equilibrio e induciendo a un estado disbiótico (Durand & Chaucheyras-Durand, 2010). El uso de dosis subterapéuticas de antibióticos en las dietas de los animales ha sido una práctica común para promover el crecimiento debido a su capacidad para aumentar la eficiencia alimenticia o prevenir enfermedades. Danzeisen et al. utilizó una concentración subterapéutica de penicilina para definir los miembros beneficiosos del microbioma en pavos que dieron como resultado una mayor eficiencia alimenticia y un mayor crecimiento. Mediante la identificación de las poblaciones bacterianas específicas responsables de la mejora del rendimiento, los autores plantean la hipótesis de que estas bacterias pueden utilizarse como probióticos.

El microbioma tiene un efecto directo sobre el desarrollo y la función del sistema inmunitario de las mucosas. (Musa et al., 2009) encontraron asociaciones significativas entre el microbioma y la expresión de genes que regulan la barrera mucosa y la inmunidad innata en ganado recién nacido. Las diferencias regionales en el microbioma se asociaron con diferencias regionales en la transcripción de genes inmunes innatos. Se describieron hallazgos similares entre el microbioma de pollos de engorde y la expresión de transcritos de ARN de citoquinas aviares (Vanbelle et al., 1990). Se encontró una correlación negativa entre los genes de citocinas proinflamatorias y el filo Firmicutes, mientras que se identificó una correlación positiva con las citocinas proinflamatorias y el filo Proteobacteria.

(Ezenwa et al., 2012) hicieron las preguntas: ¿qué constituye un microbioma normal o saludable y qué efectos tienen los tratamientos que se utilizan para mejorar la salud intestinal (vacunas y probióticos) en el desarrollo del microbioma intestinal? Wigley apuntó que

ciertas bacterias, como *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* y *Campylobacter*, a menudo se consideran comensales y parte del microbioma cecal. La eliminación de los antibióticos promotores de crecimiento (AGP, por sus siglas en inglés), la manipulación del microbioma cecal, el cambio de prácticas de manejo y otros factores internos y externos provocan cambios en las respuestas del huésped que dan como resultado “nuevas” infecciones. Usando una *Salmonella* viva atenuada en vacuna o un probiótico de bacterias del ácido láctico, (Zhu et al., 2022) caracterizó los efectos de los tratamientos de salud intestinal en el microbioma. Se encontraron alteraciones en la diversidad microbiana en el microbioma de pollitos jóvenes que recibieron la vacuna y, en menor medida, con el probiótico, que fueron independientes de la colonización bacteriana por los tratamientos. Las alteraciones del microbioma se mantuvieron hasta los 28 días de edad, lo que sugiere que la exposición temprana a ciertas bacterias puede influir de forma permanente en la diversidad microbiana de los microbiomas. Resultados similares fueron descritos por (Berchieri et al., 2001) donde una infección por *Salmonella* en pollitos de un día indujo una profunda disminución en la diversidad microbiana en el ciego. Específicamente, hubo un aumento de Enterobacteriaceae y una disminución en las bacterias productoras de butirato en la familia Lachnospiraceae, lo que implica que la exposición a una infección por *Salmonella* poco después del nacimiento puede afectar la composición del microbioma en desarrollo que afecta la resistencia a la colonización de patógenos microbianos.

Los suplementos dietéticos derivados de la levadura se utilizan cada vez más como prebióticos y probióticos para mejorar la salud intestinal (Czerucka et al., 2007). (Khalid et al., 2011) detallaron los efectos de los compuestos derivados de la levadura en las dietas del ganado y su efecto en el microbioma. El uso de compuestos derivados de la levadura como suplementos en las dietas del ganado mejoró el rendimiento, aumentó las bacterias beneficiosas en el microbioma y aumentó la capacidad de respuesta inmunológica. Además, los productos derivados de la levadura son rentables, no inducen resistencia antimicrobiana en los patógenos y, debido a sus múltiples mecanismos de acción, pueden utilizarse en la variedad de entornos que se encuentran en las industrias ganaderas.

## 5.4.2 Respuesta Inmune Mucosa

El tracto intestinal es un órgano inmunológico activo con más células inmunitarias residentes que cualquier otro lugar del cuerpo. Se organizan en estructuras linfoides denominadas placas de Peyer y folículos linfoides aislados, como las amígdalas cecales. Los macrófagos, las células dendríticas, varios subconjuntos de células T, células B e IgA secretora contribuyen a la generación de una respuesta inmunitaria adecuada a los patógenos invasores, al tiempo que mantienen bajo control a la comunidad microbiana residente sin generar una respuesta inflamatoria manifiesta (Kogut, 2015).

Además de las células inmunitarias, las células epiteliales intestinales contribuyen a la inmunidad de la mucosa. Una sola capa de células epiteliales separa la luz intestinal densamente colonizada y expuesta ambientalmente del tejido subepitelial estéril, mantiene la homeostasis en presencia de la microbiota entérica y contribuye a una defensa antimicrobiana rápida y eficiente del huésped en caso de infección por patógenos. Tanto la homeostasis como la defensa del huésped antimicrobiano epitelial se basan en vías de señalización inducidas por receptores inmunitarios innatos que demuestran el papel activo de las células epiteliales en la interacción huésped-microbiano. Por último, una capa de moco que recubre el epitelio intestinal forma una barrera física entre la mucosa y el microbiota residente, lo que minimiza tanto la translocación microbiana como la activación inmunitaria excesiva por parte de los microbios residentes.

La integridad intestinal es fundamental en el crecimiento y rendimiento animal destinados al consumo. Una de las principales ventajas de los AGP (antibióticos promotores de crecimiento) en la alimentación animal fue la reducción de la inflamación crónica de bajo grado inducida por los alimentos que, de otro modo, sería perjudicial para el crecimiento animal. La eliminación de los AGP de los alimentos para animales da como resultado un aumento de los trastornos entéricos, infecciones y enfermedades (Angelakis et al., 2013). Uno de los problemas para determinar la disfunción de la barrera intestinal es la falta de biomarcadores específicos. Dos artículos en el tema de investigación describieron nuevos métodos que: (a) identifican biomarcadores séricos y tisulares de la función de barrera intestinal (Rehman et al., 2012) y (b) identificar un medio no invasivo para medir la inflamación intestinal como marcador de fugas intestinales. Además, (Ayoola et al., 2013) encontraron que

la adición de enzimas suplementarias ( $\beta$ -mananasa, una mezcla de xilanasas, amilasa, proteasa) a la dieta de los pavos redujo la inflamación inducida por los alimentos.

Una de las principales funciones inmunitarias de la superficie de las células epiteliales es la producción de péptidos antimicrobianos o péptidos de defensa del huésped (Fajardo-Argoti et al., 2021). Los péptidos de defensa del huésped (HDP) son un grupo diverso de moléculas pequeñas que poseen actividades que mejoran la función antimicrobiana, inmunomoduladora y de barrera. (Callaway et al., 2008) describió varias clases de compuestos de molécula pequeña que inducen la inducción específica de HDP endógeno. Además, la suplementación de estos compuestos inductores de HDP mejoró la eliminación bacteriana, la integridad de la barrera entérica y la eficiencia de la producción animal con una inflamación intestinal mínima.

El interactoma huésped/patógeno conduce a una serie de cambios inmunológicos y bioquímicos en el sitio de la infección cuando el patógeno trata de obtener nutrientes del huésped, mientras que el huésped usa contramedidas inmunometabólicas contra el patógeno. (Kogut & Arsenault, 2016) desarrollaron una herramienta novedosa que caracteriza el fenotipo inmunometabólico de células/tejidos infectados. La matriz de péptidos de kinoma identifica alteraciones en los eventos de fosforilación tanto en la inmunidad como en el metabolismo simultáneamente. La matriz de kinoma se usó para identificar los cambios inmunitarios que ocurren en el ciego de los pollos durante el establecimiento de una infección persistente y asintomática por *Salmonella* (Kogut & Arsenault, 2016). Se activaron varias vías de señalización inmunitarias en el sitio de la infección que indican el desarrollo de una respuesta tolerogénica que permite a las bacterias establecer una infección persistente.

### **5.4.3 Microbios de alimentación directa**

El mayor uso de granos como fuentes alternativas de energía en las dietas de las aves ha generado un problema con niveles más altos de carbohidratos menos digeribles que resultan en un aumento en la viscosidad del digesto y la inflamación inducida por los alimentos. Una alternativa para optimizar la digestibilidad de estos carbohidratos complejos es la inclusión de suplementos enzimáticos en la dieta. (Vidal-Verdú et al., 2022) llevaron este concepto un paso más allá y describió la selección de un *Bacillus* sp. candidato



microbiano de alimentación directa (DFM) basado en su capacidad para producir enzimas que descomponen estos carbohidratos complejos. *Bacillus* sp. que producían celulosa y xilanas se usaron como DFM y se descubrió que reducían la viscosidad de la digesta y reducían *C. perfringens* crecimiento en un número de diferentes dietas que contienen diferentes carbohidratos complejos.

Un grupo de productos naturales conocidos como fitobióticos han sido objeto de varios estudios en los últimos años como alternativas a los antibióticos (Fajardo-Argoti et al., 2021). Los fitobióticos son productos derivados de plantas utilizados en alimentos que poseen actividad antimicrobiana, brindan efectos antioxidantes, mejoran la palatabilidad, mejoran las funciones intestinales y promueven el crecimiento. (Hu et al., 2022) compararon los efectos de un aditivo alimentario fitogénico comercial sobre el crecimiento, la morfología intestinal y la composición microbiana en pollos con los efectos de un AGP. Crecimiento mejorado, aumento de la altura de las vellosidades intestinales y disminución del número cecal total de *Clostridium* y las bacterias anaerobias fueron comparables entre los dos tratamientos. Sin embargo, las aves alimentadas con aditivos fitobióticos tuvieron una reducción significativa de coliformes y un aumento de *Lactobacillus* sp. lo que implica un entorno más adecuado para el establecimiento de bacterias promotoras del crecimiento en el microbioma.

Aunque el TGI se describe con frecuencia simplemente como “el intestino”, en realidad está compuesto por (1) un epitelio; (2) un brazo inmunitario diverso y robusto, que contiene la mayoría de las células inmunitarias del cuerpo y (3) las bacterias comensales, que contienen más células de las que están presentes en todo el organismo huésped. La comprensión de la diafonía entre todos estos componentes interrelacionados del intestino es lo que acumulativamente hace que el intestino sea la base para la salud de los animales y el motor que impulsa su desempeño.



## 5.5 Microbiología predictiva

Las aplicaciones de la microbiología predictiva en un contexto industrial son amplias, pero podrían resumirse en tres grupos de actividades:

- **Innovación de productos:** Evaluar la velocidad de proliferación microbiana, los límites de crecimiento o la tasa de inactivación asociada a condiciones particulares de formulación/proceso de alimentos para desarrollar nuevos productos y procesos, reformular productos existentes y determinar las condiciones de almacenamiento y la vida útil.
- **Soporte operativo:** apoyo a las decisiones de inocuidad alimentaria que deben tomarse al implementar o ejecutar una operación de fabricación de alimentos, como el diseño de regímenes de calefacción en la fábrica, el establecimiento de puntos críticos de control (PCC) en HACCP, la evaluación del impacto de las desviaciones del proceso en la calidad y la seguridad microbiológica. de productos alimenticios.
- **Soporte de incidentes:** estimar el impacto en la seguridad del consumidor o la calidad del producto en caso de problemas con los productos en el mercado.

Esta última también es una aplicación relevante en el contexto gubernamental o público, junto con la aplicación de la microbiología predictiva en las evaluaciones de riesgos microbiológicos (MRA). En los MRA, se cuantifica el riesgo para la salud pública de los peligros potencialmente asociados con determinados productos alimentarios o grupos de alimentos.

La microbiología predictiva es un elemento esencial de la microbiología de los alimentos (Baranyi & Roberts, 1995). Es un desarrollo relativamente reciente considerando que la conservación de alimentos como la salazón, el secado y la fermentación se han llevado a cabo durante miles de años.

Los ejemplos iniciales del uso de principios científicos a la conservación de alimentos contienen el trabajo de Pasteur sobre la especificidad de las fermentaciones no deseables en el vino y la administración de cultivos iniciadores lácticos de Hansen en Dinamarca a fines del siglo XIX. La ecuación de Arrhenius (1889) y el modelo de Bigelow (1921) se utilizaron para describir matemáticamente el efecto de la temperatura en los microorganismos resistentes al calor. La cocción botulínica, desarrollada hace unos 90 años, puede haberse establecido sobre la base del primer modelo predictivo, que se reconoció como tal recientemente y ha encontrado un gran uso en la industria alimentaria (Isaacson & Kim, 2012).

La década de 1980 vio un marcado aumento en el interés por la microbiología predictiva como resultado de algunos brotes importantes de intoxicación alimentaria causados tanto por patógenos y alimentos "tradicionales" (p. ej., *Salmonella* en los huevos) como por patógenos emergentes con características inusuales (p. ej., *Listeria monocytogenes* capaz de crecer en condiciones de refrigeración). temperaturas). La conciencia pública y política resultante contribuyó a que los gobiernos de EE. UU., Europa, Australia y Nueva Zelanda priorizaran la investigación sobre inocuidad de los alimentos. La maduración concomitante de la tecnología de la información y el aumento radical de la tecnología informática permitieron en gran medida el desarrollo de las matemáticas y la potencia informática necesarias para el modelado predictivo.

En las últimas dos décadas, la microbiología predictiva se ha establecido como una disciplina científica por derecho propio, con conferencias multidisciplinarias internacionales regulares, artículos científicos en revistas revisadas por pares, libros y sitios web de Internet.

El objetivo final de la microbiología predictiva es cerrar la brecha de conocimiento entre los alimentos (p. ej., factores conservantes) y la biología (p. ej., mecanismo molecular).

## ***Modelos y desarrollo de modelos***

Hoy en día, existe una gran variedad de modelos para describir el comportamiento de poblaciones de microorganismos (por ejemplo; crecimiento, muerte, supervivencia, interacciones con otros microbios) en alimentos fluidos y estructurados. Hay diferentes clases de modelos, denominados modelos primarios o secundarios.

Los modelos primarios describen el comportamiento de una población bacteriana que está expuesta a una condición ambiental específica (por ejemplo; una temperatura específica, pH, actividad del agua, concentración de conservante) en función del tiempo. Pueden aplicarse para describir o simular la cinética de, por ejemplo, el crecimiento o la muerte en la población de microorganismos.

Los modelos secundarios toman la información capturada en los modelos primarios que describen un conjunto de condiciones ambientales específicas relacionadas. Por ejemplo; expresan cómo cambia la tasa máxima de crecimiento de una población con el aumento de la temperatura. Otros modelos utilizados en la industria alimentaria capturan el tiempo necesario para una reducción logarítmica de 10 veces en los microorganismos o la duración de la fase de retraso (fase lag) del crecimiento en relación con los cambios, para factores como el pH, la temperatura de almacenamiento y la concentración de sales o azúcares y conservantes.

Dado que algunos factores que influyen en el comportamiento de los microorganismos, no siempre son únicos cuando se comparan sistemas similares de producción y comercialización de alimentos en un punto determinado, los modelos que pueden capturar esa variabilidad pueden reflejar la realidad mejor que los modelos que más o menos asumen factores como valores únicos. El llamado "enfoque de modelado probabilístico" considera el impacto de los rangos de valores en los microorganismos y las probabilidades asociadas con esos impactos.

Junto a la variabilidad de las entradas del modelo en un punto dado de un sistema. Los factores pueden variar significativa e intencionalmente con el tiempo, por ejemplo, en la cadena de suministro de alimentos refrigerados. En la industria alimentaria, existen muy pocas situaciones en las que las entradas del modelo pueden considerarse estáticas, por lo que no varían con el tiempo. En la mayoría de los casos, las condiciones que influyen en los microorganismos son bastante dinámicas. Los procesos térmicos

como la pasteurización o la esterilización son generalmente procesos dinámicos. Asimismo, cuando los productos pasan por una cadena de suministro de alimentos se exponen a temperaturas dinámicas, unas veces se mantienen refrigerados y otras veces se transportan a temperatura ambiente.

Usando modelos matemáticos es relativamente rápido y fácil ejecutar muchos escenarios diferentes de inocuidad de los alimentos, es decir, predecir lo que puede sucederle a una población de microorganismos en alimentos con diferentes temperaturas de almacenamiento o durante diferentes tiempos de almacenamiento, sin realmente necesitar ejecutar estos escenarios. Obviamente, se necesita tiempo y recursos para recopilar la información necesaria para construir un modelo en primer lugar y es probable que el modelo haga predicciones útiles solo cuando describe lo que sucede en la realidad con bastante precisión.

Por lo general, es una buena práctica usar un modelo simple que describa aproximadamente la realidad y luego refinar o mejorar el modelo según sea necesario para la utilidad de las predicciones o según lo permitan las limitaciones de tiempo o recursos. Por ejemplo, los modelos a menudo se desarrollan utilizando sistemas de caldo de laboratorio, incluso cuando se van a utilizar para alimentos estructurados de múltiples componentes. Luego, las predicciones del primer modelo se comparan con lo que sucede bajo una serie de condiciones en un producto alimenticio real. Cuando el modelo está muy lejos de la realidad, puede que no sea muy útil. Cuando no es tan malo, vale la pena seguir trabajando en el modelo realizando los ajustes respectivos.

Por ahora, se han desarrollado modelos matemáticos para varias bacterias patógenas, así como para algunos microorganismos de deterioro. Muchos de los modelos e información relacionada están disponibles a través de Internet.

### **5.5.1 Software para la microbiología predictiva**

Los sistemas de software, desarrollados con fines comerciales o disponibles gratuitamente en Internet, comprenden una serie de modelos diferentes y brindan acceso a estos a través de interfaces fáciles de usar.

- **Growth Predictor (<http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/>)** proporciona un conjunto de modelos para predecir el crecimiento de una serie de bacterias patógenas, bacterias de deterioro y levaduras en función de factores clave como la temperatura, pH y actividad del agua. No se incluyen modelos de supervivencia o inactivación en la versión actual de Growth Predictor (versión 1.0).
- **El programa de modelado de patógenos ([http://www.arserrc.gov/mfs/PMP7\\_start.htm](http://www.arserrc.gov/mfs/PMP7_start.htm))** también proporciona modelos para predecir el crecimiento de bacterias (principalmente patógenas), pero también incluye otros tipos de modelos. La versión actual de PMP (versión 7.0) proporciona modelos de crecimiento, modelos de supervivencia no térmica, modelos de inactivación térmica, modelos de irradiación gamma, modelos de enfriamiento/crecimiento, un modelo de tiempo hasta la toxigenesis y modelos de tiempo hasta la turbidez.

Si bien estos dos paquetes de software se han desarrollado por separado, existe una actividad conjunta en forma de base de datos que es útil para aplicaciones de modelado predictivo. Esta base de datos, a saber, **ComBase (<http://wyndmoor.arserrc.gov/combase/>)**, contiene un gran conjunto de datos recopilados por investigadores académicos, instituciones de investigación e industria alimentaria durante varias décadas. Estos datos proporcionan una gran cantidad de información sobre el comportamiento de los microorganismos en diferentes condiciones y se amplían continuamente. Dicha información puede utilizarse para validar el resultado de nuevos modelos predictivos o como fuente de datos de modelado, es decir, permitir el desarrollo de un modelo sin tener que generar nuevos datos experimentales.

- **El Pronosticador de deterioro de mariscos (<http://www.dfu.min.dk/micro/sssp/Home/Home.aspx>)** se ha desarrollado para predecir la vida útil de un grupo de alimentos en particular, a saber, mariscos, en condiciones de almacenamiento de temperatura constante y fluctuante. El software puede leer datos de diferentes tipos de registradores de temperatura y, de esta manera, evaluar el efecto de las temperaturas fluctuantes en la vida útil de los productos del mar.

- **El software Sym'Previus (<http://www.symprevius.net/>)** contiene una herramienta de simulación y una base de datos. En la herramienta de simulación, están disponibles cuatro especies bacterianas: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Para cada especie, se pueden seleccionar muchas cepas según su origen (p. ej., de productos lácteos, productos cárnicos o productos del mar). La versión actual incluye modelos de crecimiento, modelos de inactivación térmica y modelos de límite de crecimiento o sin crecimiento. La base de datos contiene una cantidad significativa de datos sobre el comportamiento de los microorganismos en diferentes condiciones y se utiliza en asociación con la herramienta de simulación.



## **Capítulo 6.**

# **Normatividad**



## 6.1 HACCP (Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico)

El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP, por sus siglas en inglés) es un proceso sistemático, que tiene como fin garantizar la inocuidad de los alimentos que se producen para ser humano y los animales. Se caracteriza por realizar sus procedimientos de forma lógica y objetiva. Se aplica de manera exitosa en la industria alimentaria, pero se ha usado en la industria farmacéutica, cosmética y todo material que tenga contacto con los alimentos. Busca identificar y evaluar los riesgos de contaminación físicos, químicos y biológicos en todas las etapas de la cadena de suministro, que permiten prevenir la contaminación de los alimentos (Ticona, 2017).

Este sistema HACCP se desarrolla con el objetivo garantizar la seguridad de los alimentos y de sustituir antiguos sistemas de control de calidad, que se basaban en el análisis de producto final.

La comisión del *Codex alimentarius* durante el año 1993 tomó la decisión de usar las directrices de este sistema y lo incorporó al Código de Principios Generales de Higiene de los Alimentos como anexo. Luego, en 1997, las directrices se revisaron por la propia comisión del *Codex* y se incluyó los principios del sistema y su secuencia lógica de aplicación, que se encuentra vigente hasta la última revisión en 2003.

El HACCP es un sistema diseñado para gestionar seguridad alimentaria, pero no es un sistema de gestión, que debe definirse dentro de la implementación del sistema de gestión de calidad, como requerimiento obligatorio para los establecimientos alimentarios y por consiguiente esta certificación debe ser obtenido por el mismo.

Al respecto (Tierra Vilema, 2016) menciona que “un sistema de gestión de calidad se supone que debe valorar todas las actividades desarrolladas en una empresa para producir un producto, además de cumplir la legislación que le aplique; es por ello que cuando una empresa de alimentación desea obtener un certificado tipo ISO 9001, debe demostrar que cumple la legislación y por ende que posee un HACCP” (p. 3).



## 6.2 Codex Alimentarius

Los productos destinados al consumo humano y animal deben ser seguros y de buena calidad. Es indispensable que los productos no estén contaminados por organismos patógenos susceptibles que puedan dañar a animales o plantas.

El *Codex Alimentarius* se creó en 1960 por dos organizaciones: Las Naciones Unidas, con su organización para la Agricultura y la Alimentación (World Agriculture Organization, FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Este agente establece normas que se aplican de forma internacional sobre los principales alimentos elaborados, semielaborados o sin elaborar, que se distribuye al consumidor e incluye disposiciones sobre la higiene, los contaminantes, los residuos, el etiquetado y los aditivos.

El *Codex* recomienda las prácticas de higiene para diferentes alimentos con lo que genera directrices para la comunidad internacional, especialmente la industria de alimentos. (Tanpong et al., 2021).

## 6.3 BPM (Buenas Prácticas De Manufactura)

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son un conjunto de normas, que se aplican a plantas de preparación y procesamiento de alimentos, pero también se aplican a los almacenes de alimentos (García Grueso & Mosquera Gomez, 2012).

Las BPM tienen como fin la producción y control. Trabaja con aspectos como las materias primas, el personal, las instalaciones los equipos, el control de calidad, la validación de procesos y métodos (Banerjee & Chaturvedi, 2018).

Las BPM se deben aplicar a los siguientes procesos:

- **Control de materias primas:** Si se sospecha que las materias primas son inadecuadas para el consumo, deben aislarse y rotularse claramente para luego eliminarlas. Hay que tener en cuenta que las medidas para evitar contaminaciones químicas, física y/o microbiología son específicas para cada establecimiento elaborador.

Las materias primas deben ser almacenadas en condiciones apropiadas que aseguren la protección contra contaminantes. El depósito debe estar alejado de los productos terminados para impedir la contaminación cruzada. Además, deben tenerse en cuenta las condiciones óptimas de almacenamiento como temperatura, humedad, ventilación e iluminación (Paez-Cabeza, 2018).

- **Establecimiento (Estructura e higiene):** El lugar de establecimiento no puede ubicarse en lugares propensos a inundación, se debe evitar olores extraños, gases, humo, luz, polvo y radiación que afecte los productos que se elabora. Los edificios e instalaciones deben tener estructuras sólidas y adecuadas desde el punto

de vista sanitario, que evite la transmisión de sustancias indeseables. El lugar debe restringir el ingreso de todo tipo de animales: insectos, roedores y animales domésticos que puedan contaminar el ambiente.

El agua utilizada debe ser potable, con una adecuada presión y con la temperatura necesaria. De igual manera, las instalaciones deben presentar un correcto desagüe.

Los equipos y los utensilios deben ser de materiales no tóxicos, que no desprendan olores y sabores poco sanitarios.

La limpieza y la desinfección necesitan el uso de productos sin olor, dado que pueden contaminar los objetos o alimentos que entren en contacto. Para ello, se sugiere aplicar los POES (Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento) donde se establece: qué, cómo, cuándo y dónde limpiar y desinfectar. De igual manera, se debe llevar los registros y advertencias de uso y limpieza de todas las instalaciones (Valencia-Arroyo, 2014).

- **Personal.** Toda persona que manipule alimento deber recibir capacitación en manipulación y hábitos de higiene. La responsable será la empresa y debe propender por una capacitación constante.

Se recomienda el lavado de manos en forma minuciosa y frecuente y con agentes de limpieza autorizados, el agua a usar debe ser potable.

“Todo el personal que esté de servicio en la zona de manipulación debe mantener la higiene personal, debe llevar ropa protectora, calzado adecuado y cubrecabezas. Todos deben ser lavables o descartables. No debe trabajarse con anillos, colgantes, relojes y pulseras durante la manipulación de materias primas y alimentos” (Anaya-Rosales et al., 2006).

De igual manera, en la higiene se involucran comportamientos que incrementen la contaminación del lugar, entre los que tenemos comer, fumar, salivar y otras prácticas antihigiénicas.

- **Higiene en la elaboración:** durante este proceso se debe prevenir una contaminación cruzada, lo que se logra disminuyen el contacto entre materias primas y productos ya elaborados (Moat et al., 2002).

Lo anterior exige que el proceso tiene que ser desarrollado por personal capacitado en el tema y que este en constante supervisión técnica. Se debe garantizar la calidad del todo el proceso, sin demoras y sin contaminación. Se debe tener un especial cuidado con los recipientes, ya que estos suelen ser un foco de contaminación.

De igual manera el envase y empaque usado para envasar el producto debe ser estéril y por ello su manejo debe ser riguroso (Flórez, 2013).

“Deben mantenerse documentos y registros de los procesos de elaboración, producción y distribución y conservarlo durante un período superior a la duración mínima del alimento” (Fukazawa et al., 1980).

- **Almacenamiento y transporte de materias primas y producto final:** La materia prima y los productos finales se deben almacenar y transportar con estricta bioseguridad, que impida la contaminación y/o la proliferación de microorganismos.

Los vehículos que transportan los productos deben contar con la autorización de los organismos competentes y por consiguiente debe tener un plan de manejo adecuado que mantenga la inocuidad y sanidad del producto.

Los alimentos refrigerados o congelados deben tener un transporte equipado especialmente, que cuente con medios para verificar la humedad y la temperatura adecuada (Perez-Toribio, 2016).

- **Control de procesos en la producción.** De acuerdo con (Valencia-Arroyo, 2014), “son necesarios ciertos controles que aseguren el cumplimiento de los procedimientos y los criterios para lograr la calidad esperada en un alimento, garantizar la inocuidad y la genuinidad de los alimentos. Los controles sirven para detectar la presencia de contaminantes físicos, químicos y/o microbiológicos”. (p. 28)

- **Documentación:** este aspecto es básico, ya que establece los procedimientos y define la forma de control de los mismos.

Además, facilita, en forma eficiente, la identificación de productos, especialmente aquellos que presenten defectos. Dentro del sistema documentación, se debe identificar los distintos lotes, el historial de los productos, desde la llegada de la materia prima, pasando por su utilización, terminación del producto y transporte y distribución (Díaz Galeano, 2021)

Las Buenas Prácticas de Manufactura:

- » Son útiles para el diseño y funcionamiento de los establecimientos y para el desarrollo de procesos y productos relacionados con la alimentación.
- » Contribuyen al aseguramiento de una producción de alimentos seguros, saludables e inocuos para el consumo humano.
- » Son indispensable para la aplicación del Sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control), de un programa de Gestión de Calidad Total o de un Sistema de Calidad como ISO 9000.
- » Se asocian con el Control a través de inspecciones del establecimiento.

## **6.4 BPL (Buenas Prácticas De Laboratorio)**

Las buenas prácticas de laboratorio BPL se definen como el conjunto de reglas, de procedimientos operacionales y prácticas establecidas, las cuales deben ser de obligatorio cumplimiento a fin de garantizar la calidad e integridad de los resultados obtenidos en un laboratorio.

Las BPL deben aplicarse durante todo el estudio, desde el diseño hasta el manejo de archivo, lo que implica una serie de requisitos para el personal que labora, instalaciones y ambientes, equipos, materiales, documentación, auditorias y bioseguridad (Conjunto de principios, técnicas y prácticas que eviten la exposición no intencional a patógenos o toxinas, o su liberación accidental).

### **Requisitos sobre personal**

El laboratorio debe contar con suficiente personal capacitado para la realización de las respectivas actividades, pruebas o técnicas. Lo ideal es que una persona desarrolle determinadas actividades y no se acumule de varias de ellas, ya que puede verse afectada la calidad de los procesos.

El personal que labora debe conocer sus responsabilidades y tener muy claro la aplicación de las BPL que le competen, debe conocer muy bien sus tareas específicas, seguir un cronograma de trabajo y no delegar funciones, así como evitar la entrada de personal externo a su sección o área de trabajo.

La dirección del laboratorio debe estar a cargo de una persona capacitada en el área de desempeño: para el caso de laboratorios de microbiología pecuaria se asignará el cargo a un médico veterinario, médico veterinario zootecnista o zootecnista con experiencia en el campo microbiológico.

El personal del laboratorio se debe capacitar y entrenar en forma continua en las áreas relacionadas con su desempeño.

Igualmente es necesario que todos conozcan sobre temas de interés diario como higiene, bioprotección, seguridad biológica y normas de seguridad.

Es necesario que el personal se someta a exámenes médicos y cumpla diariamente con todas las prácticas de higiene personal como baño diario, lavado de manos, no asistencia en caso de enfermedad, uso de vestimenta adecuada previamente lavada y desinfectada. Evitar fumar, ingerir alimentos o bebidas, masticar, mantener plantas, alimentos, bebidas y medicamentos personales. Se prohíbe el pipeteo con la boca, la aplicación de maquillaje y la manipulación de lentes de contacto.

### **Requisitos sobre instalaciones y ambiente**

De acuerdo con el Instituto Colombiano Agropecuario, (Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), 2013) “las instalaciones deben estar construidas o adaptadas al tipo de pruebas o técnicas a realizar, teniendo en cuenta que deben permitir una limpieza adecuada y el mantenimiento del orden, a fin de evitar la contaminación cruzada, el polvo, la suciedad, y en general, toda condición que pueda representar un riesgo de contaminación para los operarios, equipos, ambiente o poblaciones animales susceptibles” (p. 1). Deben ser autónomas e independientes, ubicadas de tal forma que las pruebas o técnicas de laboratorio puedan llevarse a cabo en un orden lógico y concordante con la secuencia de los procesos. Debe contar con suficiente iluminación, señalización vigente y las puertas deben permanecer cerradas. EL área administrativa, la de descanso, la de alimentos y el área temporal de materiales de desecho deben estar aisladas de este sector.

Las áreas de trabajo y de almacenamiento deben permitir igualmente la ubicación lógica de equipos y materiales, de tal forma que se evite contaminación o confusión. Los mesones, paredes, pisos y techo deben ser de superficies lisas para facilitar y asegurar la rutina de limpieza, la desinfección química y la aplicación de vapor. El área de procesamiento y el área de realización de técnicas deben contar con lavamanos independientes.

Las áreas destinadas al almacenamiento y cambio de ropa deben ser de fácil acceso y acorde al número de usuarios. Los baños no deben comunicarse directamente con las áreas de laboratorio o de almacenamiento. Estas últimas deben permitir el almacenamiento ordenado de materiales y productos, estar secas, limpias y con la temperatura adecuada. Se debe llevar un registro continuo de materiales y productos.

Las superficies de trabajo deben descontaminarse con hipoclorito de sodio en una concentración de 5000 p.p.m., cuando haya un derrame de material potencialmente peligroso se debe realizar una limpieza y desinfección exhaustiva.

Se recomienda no usar los pasillos como almacén. La planta debe contar con un espacio libre no menor a 120 cm, que permita la evacuación del laboratorio en caso de emergencia.

### **Requisitos sobre equipos**

Los laboratorios deben contar con los equipos necesarios, los cuales se deben adaptar, ubicar y mantener acorde a las operaciones. La ubicación debe reducir al mínimo el riesgo de cometer errores y permitir la limpieza y mantenimiento eficiente.

Se debe contar con fichas técnicas, programas de mantenimiento y certificados de calibración para cada uno de los equipos. Los equipos defectuosos deben ser eliminados de las áreas de trabajo del laboratorio o al menos deben ser identificados claramente como tales.

Al finalizar el trabajo todos los materiales relacionados con serología deben ser descontaminados: las micropuntas, las microplacas de predilución y el material en contacto con los sueros deben ser sumergidos en hipoclorito de sodio en 5000 p.p.m.

Las muestras de fluidos, muestras de tejido y cultivos contaminados, deberán ser esterilizadas por autoclave antes de ser eliminados.

Los materiales de vidrio o no desechables deben descontaminarse y limpiarse antes de volverlos a utilizar (Díaz Galeano, 2021).



### **Requisitos sobre materiales**

Los insumos y materiales que ingresen al laboratorio deben registrarse, al igual que los reactivos y medios de cultivo que se reciban o preparen. Todo debe estar respectivamente etiquetado indicando la concentración, el factor de normalización, el tiempo de conservación, las condiciones de almacenamiento, la fecha y la firma del responsable. Todos los antígenos, reactivos y materiales biológicos empleados en el diagnóstico de enfermedades deben ser previamente autorizados.

Las serótecas o bancos de muestras y sueros deben garantizar la preservación y tener una vigencia de al menos un año. Todo debe estar sistemáticamente controlado y registrado. Teniendo en cuenta que el transporte de la muestra desde el sitio de origen hasta el laboratorio haya llegado en óptimas condiciones.

### **Requisitos sobre documentación y auditorias**

El laboratorio debe disponer de toda la información correspondiente a personal, técnicas, actividades, guías de bioseguridad, buenas prácticas de laboratorio, organigramas, resoluciones sanitarias vigentes, manuales de técnicas analíticas, manejo de equipos, registro de muestras recibidas y analizadas, listado de exámenes que ofrece el laboratorio, copias de resultados de diagnósticos, registro de capacitaciones, manejo general de muestras, resultados de auditorías internas, archivo de quejas y reclamos, procedimientos para desinfección, esterilización, lavado y manejo de material de laboratorio y de dotación del personal, procedimientos de desinfección de áreas de trabajo y eliminación de desechos, y otros que el laboratorio considere necesarios, debidamente almacenada y sistematizada. La documentación electrónica debe ser archivada por lo menos un año para su respectiva auditoria.

### **Requisitos sobre bioseguridad**

- Identificación de microorganismos considerados como de alto riesgo para el laboratorio para su adecuado manejo.
- Al ingresar al laboratorio se debe disponer de la vestimenta empleada para tal fin, dejando en los vestieres la ropa y zapatos de calle.
- El ingreso de visitantes solo se realiza con la respectiva autorización. Se debe registrar la visita con fines de trazabilidad epidemiológica.
- No se debe circundar las áreas administrativas o de descanso con la dotación de ropa exclusiva para el interior del laboratorio.
- Es indispensable el uso de blusa o bata blanca para el trabajo dentro del laboratorio; debe ser larga y con las mangas de resorte o preferiblemente emplear overol de material antifluidos.
- El símbolo internacional de peligro biológico debe permanecer en la puerta principal de los laboratorios de nivel 2 y superiores (figura 27).

**Figura 27**  
***Símbolo internacional de peligro biológico.***



**PELIGRO BIOLÓGICO**  
**Solo personal autorizado**

- Cuando se manipule material biológico la puerta de la sección debe permanecer cerrada.
- Emplear guantes, tapabocas y gafas cuando se requiera manipular sangre, líquidos corporales, cultivos virales o bacterianos y otros materiales potencialmente infecciosos, mientras se usen se debe evitar el contacto con puertas, teléfono, libros, etc. Deben desecharse al finalizar la práctica y lavar correctamente las manos.
- Los equipos empleados (micropipetas, vidriería, agitadores, centrifugas, otros) deben desinfectarse durante y al final de la actividad.
- Las superficies se deben desinfectar como mínimo una vez al día, al iniciar y al finalizar una actividad e inmediatamente después de ocurrir una contaminación accidental con desinfectantes que garanticen la inactivación de los microorganismos.

Toda superficie debe limpiarse y desinfectarse usando paños humedecidos y que el material tenga una baja liberación de partículas.

- La identificación y separación del material infeccioso, al igual que los recipientes deben manejarse de acuerdo a las normas establecidas a nivel nacional e internacional. Para lo cual debe clasificarse por categorías: Desechos no contaminados, objetos cortopunzantes, material contaminado reutilizable, material contaminado, anatomopatológicos y biosanitarios.
- Todo el material potencialmente contaminado con microorganismos patógenos debe ser introducido en recipientes o bolsas de plástico rojas que resistan el tratamiento en autoclave, debidamente identificadas y tratadas antes de proceder a su eliminación. Después de pasar por la autoclave, el material puede colocarse en recipientes apropiados para ser transportado por la ruta biosanitaria de la ciudad o llevada al horno de cremación aprobado y autorizado por las autoridades ambientales (Díaz Galeano, 2021).
- Realizar el desplazamiento de líquidos solamente empleando pipetas.

- Manejar adecuadamente los líquidos contaminados.
- Los derrames, accidentes y exposiciones deben ser reportados y registrados. El personal no debe salir del área, debe cambiarse los guantes, proceder a secar con toallas de papel sin expandir el derrame y finalmente aplicar hipoclorito de sodio 5000 p.p.m., el material contaminado debe desecharse en bolsas rojas. Si el operario ha sido expuesto después de la limpieza debe acudir inmediatamente a una entidad prestadora de salud para su respectivo diagnóstico.
- Al salir del laboratorio se debe lavar manos, antebrazos, cara y uñas con jabón líquido y abundante agua; se recomienda limpiar la nariz con papel higiénico y enjuagar con agua la garganta y la boca 2 veces.
- Para el secado se debe usar toallas de papel, las cuales se desechan inmediatamente. Luego se pasará a los vestidores, donde se dejará la ropa de laboratorio y se pondrá la ropa de calle (Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), 2013).

## Referencias Bibliográficas

Abd El-Hack, M., El-Saadony, M., Shafi, M., Qattan, S., Batiha, G., Khafaga, A., & Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1835–1850. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jpn.13454>

Adiveter. (2021). *Hongos en piensos manufacturados comerciales*. Engormix. <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/hongos-piensos-manufacturados-comerciales-t46838.htm>

Alarcon-Rojo, A., Janacua, H., Rodriguez, J., Paniwnyk, L., & Mason, T. (2015). Power ultrasound in meat processing. *Meat Science*, 107, 86–93. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.015>

Aldana, C., Cabra, S., Ospina, C., Carvajal, F., & Rodríguez, F. (2009). Effect of a probiotic compound in rumen development, diarrhea incidence and weight gain in young Holstein calves. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 33(4), 378–382.

Amézquita-Landeros, J. A. (2015). *Temario del Módulo Procesos Celulares y Fundamentales*. Microbiology. <https://vsip.info/qdownload/temario--pdf-free.html>

Anaya-Rosales, M., Araujo-Castañeda, R., & Cuellar-Rivas, J. (2006). *Propuesta de un modelo de empresa agroindustrial de productos a partir de la rosa de Jamaica y del fruto de Noni, para los pequeños productores agrícolas de estas especies en el Salvador* [Tesis de Pregrado, Universidad de El Salvador]. [http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/1821/1/Propuesta\\_de\\_un\\_modelo\\_de\\_empresa\\_agroindustrial\\_de\\_productos\\_a\\_partir\\_de\\_la\\_Rosa\\_de\\_Jamaica\\_y\\_del\\_fruto\\_de\\_Noni.pdf](http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/1821/1/Propuesta_de_un_modelo_de_empresa_agroindustrial_de_productos_a_partir_de_la_Rosa_de_Jamaica_y_del_fruto_de_Noni.pdf)

Angelakis, E., Merhej, V., & Raoult, D. (2013). Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(10), 889–899. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70179-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70179-8)

Antequera, S., Depablos, R., Escobar, W., & Sierra, A. (2014). *Clasificación de la biotecnología*. ..Biotecnología. <https://bysbiotecnologia.blogspot.com/2014/>

Arango-Mejía, C.M., & Restrepo-Molina, D.A. (2010). Microbiología de la Carne. In N. Fernandez & Y. Humbela (Eds.), *Microbiología* (pp. 34–49). Universidad Nacional de Colombia. <https://es.scribd.com/doc/8717475/Cap-1-Microbiologia-de-La-Carne>

Arowolo, M., & He, J. (2018). Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Animal Nutrition*, 4(3), 241–249. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>

Arraiza, N., Viguria, A., Navarro, A., & Ainciburo, F. (2015). *Manual de microbiología*. Auxilab.

Avila, J., Tovar, B., Brizuela, M., Perazzo, Y., & Hernández, H. (2010). Capacidad probiótica de cepas del género *Lactobacillus* extraídas del tracto intestinal de animales de granja. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 20(2), 161–169.

Ayoola, S., Ajani, E., & Fashae, O. (2013). Effect of Probiotics (*Lactobacillus* and *Bifidobacterium*) on Growth Performance and Hematological Profile of *Clarias gariepinus* Juveniles. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/DOI:10.5829/idosi.wjfm.2013.05.01.6582>

Bagri, D., Pandey, R., Bagri, G., Kumari, R., & Bagdi, D. (2018). Effect of subclinical mastitis on milk composition in lactating cows. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(5), 231–236.

Banerjee, S., & Chaturvedi, C. (2018). Neuroendocrine mechanism of food intake and energy regulation in Japanese quail under differential simulated photoperiodic conditions: Involvement of hypothalamic neuropeptides, AMPK, insulin and adiponectin receptors. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 185, 10–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.020>

Baranyi, J., & Roberts, T. (1995). Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 26(2), 199–218. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00121-L](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00121-L)

Barreiro, E. (2013). Trabajo de Microbiología en los Cereales. In *Posgrados de biotecnología y microbiología*. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. <http://biotecnologiapostgrado.blogspot.com/2015/03/trabajo-de-microbiologia-en-los-cereales.html>

Barreiro, E., Hernández, M., Oviedo, R., Reverón, E., Rumbos, A., & Silva, A. (2015). *Productos lácteos: mantequilla y su microbiología*. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. <https://biotecnologiapostgrado.blogspot.com/>

Bellaccini, M. (2014). *Efectos del consumo de fibras solubles e insolubles en lechones*. Universidad Nacional de la Plata. [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/67313/Documento\\_completo.pdf-PDFA2u.pdf?isAllowed=y&sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/67313/Documento_completo.pdf-PDFA2u.pdf?isAllowed=y&sequence=1)

Beloqui, A., De María, P., Golyshin, P., & Ferrer, M. (2008). Recent trends in industrial microbiology. *Current Opinion in Microbiology*, 11(3), 240–248. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.04.005>

Benavides, E. (2016). *Componentes epidemiológicos y económicos como base para la toma de decisiones en el control de mastitis bovina en ganaderías de Zipaquirá (Cundinamarca)*. Universidad de la Salle y Fondo Nacional del Ganado. <https://es.scribd.com/document/323146621/Informe-Final-Proyecto-Mastitis>

Berchieri, J., Murphy, C., Marston, K., & Barrow, P. (2001). Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathology*, 30(3), 221–231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/03079450120054631>

Black, J., & Black, L. (2018). *Microbiology: principles and explorations*. John Wiley & Sons.

Blanco-Suarez, D. (2017). *Determinación de flora microbiológica de los cortes comerciales de la canal cunícola empacados al vacío y en empaque tradicional (bandeja de icopor), obtenidos en una granja cunícola* [Tesis Pregrado, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales]. [https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/724/Tesis\\_DETERMINACIÓN\\_DE\\_LA\\_FLORA\\_MICROBIOLÓGICA\\_DE\\_LOS\\_CORTES\\_COMERCIALES\\_DE\\_LA\\_CANAL\\_CUNÍCOLA\\_EMP.pdf?sequence=1](https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/724/Tesis_DETERMINACIÓN_DE_LA_FLORA_MICROBIOLÓGICA_DE_LOS_CORTES_COMERCIALES_DE_LA_CANAL_CUNÍCOLA_EMP.pdf?sequence=1)

Blanco, M. (1999). *Bacterias ruminales*. Produccion Animal. [https://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/manejo\\_del\\_alimento/69-bacterias\\_ruminales.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/69-bacterias_ruminales.pdf)

Bolder, N. (2007). Microbial challenges of poultry meat production. *World's Poultry Science Journal*, 63(3), 401–411. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0043933907001535>

Bolton, F., Crozier, L., & Williamson, J. (1996). Isolation of *Escherichia coli* 0157 from raw meat products. *Letters in Applied Microbiology*, 23(5), 317–321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00198.x>

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608.

Bruch, C. (1967). Advances in Applied Microbiology. *Journal of AOAC International*, 50(6), 1375–1376. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jaoac/50.6.1375a>

Buchholz, K., & Collins, J. (2013). The roots—a short history of industrial microbiology and biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(9), 3747–3762. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00253-013-4768-2>

Bushman, F., McCormick, K., & Sherrill-Mix, S. (2019). Virus structures constrain transmission modes. *Nature Microbiology*, 4(11), 1778–1780. <https://doi.org/doi:10.1038/s41564-019-0523-5>



Caballeri, M., & Audel, A. (2017). *Microbiología del Ensilado* [Tesis pregrado, Universidad Nacional de Río Negro]. <http://docplayer.es/79714479-Monografia-microbiologia-microbiologia-del-ensilado.html>

Caja, G., Flores, C., & Albanell, E. (2016). *Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: Probióticos, Enzimas y Ácidos Orgánicos*. Ergonomix. <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/alternativas-antibioticos-uso-alimentario-t29899.htm>

Callaway, T., Edrington, T., Anderson, R., Harvey, R., Genovese, K., Kennedy, C., & Nisbet, D. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. *Animal Health Research Reviews*, 9(2), 217–225. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S1466252308001540>

Castell, M., Estruel-Amades, S., Massot-Cladera, M., Pérez-Cano, F., Franch, À., & Camps-Bossacoma, M. (2019). Hesperidin Effects on Gut Microbiota and Gut-Associated Lymphoid Tissue in Healthy Rats. *Nutrients*, 11(2), 324. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nu11020324>

Castillo-Albarracín, J. D., & Álvarez-Martínez, J. A. (2016). *Evaluación composicional y microbiológica de la leche en la finca el tesoro vereda santa lucia municipio de cabrera cundinamarca* [Tesis Pregrado, Universidad de Cundimarca]. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/1430>

Cavicchioli, R. (2011). Archaea—timeline of the third domain. *Nature Reviews Microbiology*, 9(1), 51–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nrmicro2482>

Caycedo-Vallejo, A., Rico-Numbela, E., Aliaga-Rodríguez, L., & Moncayo-Galliani, R. (2009). *Producción de cuyes*. Universidad Católica Sedes Sapientiae.

Cervený, J., Meyer, J., & Hall, P. (2009). Microbiological spoilage of meat and poultry products. In W. Sperber & M. Doyle (Eds.), *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages* (pp. 69–86). Springer. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1\\_3](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1_3)

Choque-López, J. (2008). *Evaluación del estado oxidativo y salud intestinal de pollos de carne en respuesta a la alimentación con grasas recicladas* [Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona]. <https://www.tdx.cat/handle/10803/5706?locale-attribute=es#page=1>

Cole, C., Fuller, R., & Carter, S. (1989). Effect of probiotic supplements of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium adolescentis* 2204 on  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -glucuronidase activity in the lower gut of rats associated with a human faecal flora. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2(3), 223–225.

Collard, P. (1976). *The development of microbiology*. CUP Archive.

Correa, S., Hidalgo, V., Vergara, V., & Montes, T. (1994). Determinación de la digestibilidad de insumos energéticos, proteicos y fibrosos en cuyes. *XVII Reunión Anual de La APPA*, 359.

Cox, J., & Pavic, A. (2010). Advances in enteropathogen control in poultry production. *Journal of Applied Microbiology*, 108(3), 745–755. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04456.x>

Curtis, & Barnes. (2000). *Tamaño y forma celular*. Blog Oficial Del Colegio Oficial de Biólogos de La Comunidad de Madrid. <https://cobcm.net/blogcobcm/2022/05/10/organizacion-celular/>

Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. (2007). Yeast as probiotics—*Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26(6), 767–778. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03442.x>

Dafesoma. (2006). *Amigos y el patio de mi casa*. Strangerypasiones. <https://strangerypasiones.blogspot.com/>

De-Vuyst, L., & Vandamme, E. (1994). *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Springer. <https://doi.org/978-1-4615-2668-1>

Díaz-Reyes, A., Laurencio-Silvia, M., & Pérez-Quintana, M. (2008). *Los probióticos y su empleo en rumiantes* [Tesis Pregrado, Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos]. <http://monografias.umcc.cu/monos/2008/Agronomia/m083.pdf>

Díaz Galeano, J. C. (2021). *Efecto del uso prebiótico y un simbiótico a base de un probiótico nativo Lactobacillus en el agua de bebida sobre los parámetros productivos en pollos de engorde* [Tesis Doctorado, Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/4014>

Ding, S., Yan, W., & Fang, J. (2021). The impact of probiotics on gut health via alternation of immune status of monogastric animals. *Animal Nutrition*, 7(1), 24–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.004>

Doria-Betin, D., & Rivero-Vilora, E. J. (2007). *Efecto del manejo sanitario de la leche en instalaciones de ordeño, sobre la incidencia de mastitis y calidad microbiológica del producto en fincas piloto de las subregiones sabanas y golfo de morrosquillo en el departamento del Sucre* [Tesis Pregrado, Universidad de Sucre]. <https://repositorio.unisucre.edu.co/bitstream/handle/001/405/T637.1277D711.pdf;jsessionid=F9D72E1D84849323A13F385BA9B-623FA?sequence=2>

Doyle, M. P., Diez-Gonzalez, F., & Hill, C. (2019). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (5 edición). ASM Press. <https://doi.org/doi:10.1128/9781555819972>

Durand, H., & Chaucheyras-Durand, F. (2010). Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes*, 1(1), 3–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.3920/BM2008.1002>

Ellner, R. (2000). *Preguntas y respuestas sobre la microbiología de la leche y los productos lácteos*. Ediciones Díaz de Santos.

Ericsson, A., Johnson, P., Lopes, M., Perry, S., & Lanter, H. (2016). A microbiological map of the healthy equine gastrointestinal tract. *PloS One*, 11(11), e0166523. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166523>

Espinoza-Vanegas, R. (2011). *Agroindustria I. Microbiología de Alimento*. Universidad Católica Agropecuaria del Trópico Seco. <https://ricarducatse.files.wordpress.com/2011/02/agroindustria-i-microbiologia-de-alimentos.pdf>

Eugene, W., & Kennet, I. (2004). Microbiology in the 21st Century: Where Are We and Where Are We Going? *Colloquium Sponsored by the American Academy of Microbiology Held*, South Carolina, EEUU. <https://doi.org/doi:10.1128/AAMCol.5Sept.2003>

Ezenwa, V., Gerardo, N., Inouye, D., Medina, M., & Xavier, J. (2012). Animal behavior and the microbiome. *Science*, 338(6104), 198–199. <https://doi.org/DOI:10.1126/science.12274>

Fajardo-Argoti, C., Jurado-Gómez, H., & Parra-Suescún, J. (2021). Viabilidad de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición sobre *Escherichia coli* O157: H7. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(1), e1733. <https://doi.org/https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1733>

FAO. (2000). Inocuidad y calidad de los alimentos en relación con los piensos [Conferencia]. 22 Conferencia Regional de La FAO Para Europa. [https://www.fao.org/3/X7320S/X7320S.htm#P116\\_11413](https://www.fao.org/3/X7320S/X7320S.htm#P116_11413)

FAO. (2021). *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2021. Transformación de los sistemas alimentarios en aras de la seguridad alimentaria, una nutrición mejorada y dietas asequibles y saludables para todo*. FAO. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cb4474es>

Fernandez-Rebollo, P., Gómez-Cabrera, A., Guerrero-Ginel, J. E., Garrido-VaroAna, Calzado-Martinez, C., García-Moreno, A., Carbonero-Muñoz, M. D., Bláscoz-Carrasco, A., Escuín-Royo, S., & Castillo-Carrion, S. (2008). *Pasto, clave en la gestión de los territorios: integrando disciplinas*. Lumen Gráfica S.L. <https://es.scribd.com/document/380765124/2008-Actas-SEEP-Cordoba-pdf>

Fernandez, R. (2007). *Bacterias*. Aprenderly. <https://aprenderly.com/doc/1537735/bacterias---escolares.net?page=1>

Ferrer, Y., & Pérez, H. (2010). Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 43(1), 9–20.

Ferreira-Saavedra, Y. (2008). *Clasificación de los microorganismos*. Universidad Central de Venezuela. [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_3\\_Taxonomía.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_3_Taxonomía.pdf)

Flórez, M. (2013). *Selección, sanidad e higiene de alimentos y bebidas*. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. [https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/297080/SEPARATA\\_SELECCIÓN%2C\\_SANIDAD\\_E\\_HIGIENE\\_DE\\_ALIMENTOS\\_Y\\_BEBIDAS.pdf?isAllowed=y&sequence=1](https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/297080/SEPARATA_SELECCIÓN%2C_SANIDAD_E_HIGIENE_DE_ALIMENTOS_Y_BEBIDAS.pdf?isAllowed=y&sequence=1)

Foligné, B., Daniel, C., & Pot, B. (2013). Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. *Current Opinion in Microbiology*, 16(3), 284–292.

Formal, S., Dammin, G., LaBrec, & Schneider, H. (1958). Experimental Shigella infections: characteristics of a fatal infection produced in guinea pigs. *Journal of Bacteriology*, 75(5), 604–610.

Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., Kaushik, K., Salehi, B., Bevilacqua, A., Corvo, M., Antolack, H., Dybka-Stępień, M., Leszczewicz, M., Tintino, S., Souza, V., Sharifi-Rad, J., Coutinho, H., Cruz-Martins, N., & Rodrigues, C. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130–162. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms7050130>

Frey, S. (2019). Mycorrhizal fungi as mediators of soil organic matter dynamics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50, 237–259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062331>

Fuentes-Castillo, C. (2007). Los postulados de Koch: revisión histórica y perspectiva actual. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2), 262–266. <https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0707230262A>

Fuentes-Coto, G., Ruiz-Romero, R., Sánchez-Gómez, J., Ávila-Ramírez, D., & Escutia-Sánchez, J. (2013). Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 10(4), 419–432.

Fukazawa, Y., Shinoda, T., Nishikawa, A., & Nakase, T. (1980). Synonymy of *Saccharomyces cerevisiae* Hansen 1883 and *Saccharomyces uvarum* Beijerinck 1898: significance of cell wall antigens in yeast classification. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), 196–205. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00207713-30-1-196>

Galindo-Santana, B., Arroyo-Rojas, L., & Concepción-Díaz, D. (2011). Seguridad de las vacunas y su repercusión en la población. *Revista Cubana de Salud Pública*, 37, 149–158. <https://www.scielosp.org/article/rcsp/2011.v37n1/149-158/#ModalArticles>

Gao, J., Yin, J., Xu, K., Li, T., & Yin, Y. (2019). ). What is the impact of diet on nutritional diarrhea associated with gut microbiota in weaning piglets: A system review. *BioMed Research International*, 2019(6916189), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2019/6916189>

García, F. (2008). Enfermedades infecciosas emergentes: interacción entre el mundo microbiano y las sociedades humanas. *Acta Médica Costarricense*, 50(3), 136–143.

García Grueso, F. A., & Mosquera Gomez, F. S. (2012). *Diseño de la automatización del proceso productivo para la máquina mezcla procesadora en la empresa Cocodelicia* [Tesis Pregrado, Universidad Autónoma de Occidente]. <https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/3198/TEK01019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

García, M., Sarmiento, M., & Acosta, A. (2009). La inmunidad antituberculosa y su aplicación en el desarrollo de candidatos vacunales. *Vaccimonitor*, 18(1), 25–34. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-028X2009000100005&lng=es&nrm=iso%3E](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-028X2009000100005&lng=es&nrm=iso%3E). ISSN 1025-028X.

Garzón-Pinto, N. (2017). *Filogenia de los seres vivo: dominio Archae* [Tesis Pregrado, Universidad de Sevilla]. [https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66487/Garzón\\_Pinto%2C\\_Nuria.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Las arqueas tienen una sola,et al.%2C 2015\).&text=Tabla 1.,%3A Archaea%2C Bacteria y Eukarya](https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66487/Garzón_Pinto%2C_Nuria.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Las arqueas tienen una sola,et al.%2C 2015).&text=Tabla 1.,%3A Archaea%2C Bacteria y Eukarya)

Geison, G. (2014). *The Private Science of Louis Pasteur*. Princeton University Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/9781400864089>



Gerlich, W. (2013). Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology Journal*, 10(1), 1–25. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-239>

Glazer, A., & Nikaido, H. (2007). *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology* (2nd ed.). Cambridge University Press.

Golomidova, A., Kulikov, E., Kudryavtseva, A., & Letarov, A. (2018). Complete genome sequence of Escherichia coli bacteriophage PGT2. *Genome Announcements*, 6(3), e01370-17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/genomeA.01370-17>

Gómez, H. (2010). *Taxonomía de Los Microorganismos*. Universidad Central de Venezuela. <https://es.scribd.com/document/60607558/Taxonomia-de-los-microorganismos>

Gonzales, M., & Pérez, O. (2014). *Evaluación de un suplemento nutricional a base de levadura de cerveza (Saccharomyces Cerevisiae) para ganancia de peso en terneros de la granja experimental de la Univeresidad Francisco de Paula Santander Ocaña* [Tesis Pregrado, Universidad Fransisco de Paula Santander]. <http://repositorio.ufpso.edu.co/bitstream/123456789/2553/1/25873.pdf>

González-Rubio, T., & Verdecia-Jarque, M. (2009). Enfermedades priónicas. *MEDISAN*, 13(1), 1–13. [https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?lng=e&pid=S1029-30192009000400008&script=sci\\_arttext](https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?lng=e&pid=S1029-30192009000400008&script=sci_arttext)

Grande-Gonzales, K., & Vasquez-Madrid, R. (2014). *Análisis microbiológico de helados elaborados de forma industrial y comercializados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador* [Tesis Pregrado, Tesis PreUniversidad de El Salvador]. <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/6304/1/16103438.pdf>

Gregersen, T. (1978). Rapid method for distinction of Gram-negative from Gram-positive bacteria. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 5(2), 123–127. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00498806>

Guerra, E., & Villavicencia, S. (2007). *Bacteriología: virus-coronavirus*. Agronlin. <https://agronlin.tripod.com/dat/id2.html>

Guerrero, A. (2009). *Características de los diferentes tipos de leche*. Blogspot. <http://calechera.blogspot.com/2009/06/caracteristicas-de-las-diferentes-tipos.html>

Gutierrez, F. (2018). *Manual de Microscopia*. Universidad de Guanajuato. <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-de-guanajuato/microbiologia/manual-de-microscopia/3927228>

Hahn-Didde, D., & Purdum, S. (2016). Prebiotics and probiotics used alone or in combination and effects on pullet growth and intestinal microbiology. *Journal of Applied Poultry Research*, 25(1), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.3382/japr/pfv051>

Hernández, M. (2010). *virus*. Anatomía Vegetal y Animal. <https://anatomiavegetalmaria.blogspot.com/>

Hessissen, N. (2016). *Prebioticos, probioticos y sistema inmune* [Tesis Pregrado, Universidad Complutense]. [https://eprints.ucm.es/id/eprint/49101/1/NADA\\_HESSISSEN.pdf](https://eprints.ucm.es/id/eprint/49101/1/NADA_HESSISSEN.pdf)

Hitchens, A., & Leikind, M. (1939). The introduction of agar-agar into bacteriology. *Journal of bacteriology*. *Journal of Bacteriology*, 37(5), 485–493. <https://doi.org/https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.37.5.485-493.1939>

Hondo, P. (2006). *Toxicología y Química legal*. Universidad Nacional de la Plata. <https://es.scribd.com/document/408314859/TOXICOLOGIA-Y-QUIMICA-LEGAL-docx>

Hu, J., Mohammed, A., Murugesan, G., & Cheng, H. (2022). Effect of a synbiotic supplement as an antibiotic alternative on broiler skeletal, physiological, and oxidative parameters under heat stress. *Poultry Science*, 101(4), 101769. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101769>

Huatuco, M. (2014). *Microbiología Aplicada*. Universidad Nacional Federico Villarreal. <https://vsip.info/microorganismos-en-carnes-pdf-free.html>

Hussein, H., & Brasel, J. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101–134. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00471-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00471-1)



Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2013). *Manual de aseguramiento de la Calidad de los Laboratorios*. ICA.

Isaacson, R., & Kim, H. (2012). The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews*, 13(1), 100–109. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S1466252312000084>

Jurado-Gómez, H., & Zambrano-Mora, E. (2020). Efecto de *Lactobacillus casei* microencapsulado sobre la salud intestinal y parámetros bioquímicos y productivos en pollo de engorde. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 23(2), e1480. <https://doi.org/https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n2.2020.1480>

Jurado Gómez, H., Orbes Villacorte, A., & Mesías Pantoja, L. (2017). Evaluación in vivo de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas mediante química sanguínea, inmunohistoquímica y microscopía electrónica en *Cavia porcellus*. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(2), 11–21. [https://doi.org/https://doi.org/10.18684/BSAA\(15\)11-21](https://doi.org/https://doi.org/10.18684/BSAA(15)11-21)

Jurado, H., Aguirre, D., & Ramírez, C. (2009). Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. *Revista MVZ Córdoba*, 14(2), 1–12. <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/356>

Khalid, M., Shahzad, M., Sarwar, M., Rehman, A., Sharif, M., & Mukhtar, N. (2011). Probiotics and lamb performance: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 6(23), 5198–5203. <https://doi.org/DOI:10.5897/AJAR11.1134>

Khaziakhmetov, F., Khabirov, A., Avzalov, R., Tsapalova, G., Rebezov, M., Tagirov, K., & Yessimbekov, Z. (2018). Effect of probiotics on calves, weaned pigs and lamb growth. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 866–870.

Kogut, M. (2015). Impact de los cambios en el microambiente sobre la homeostasis y la salud intestinal de las aves. *Plumazos*, 57, 4–10. <https://aprenderly.com/doc/3156729/impacto-de-los-cambios-en-el-micro-ambiente-sobre-la>

Kogut, M. (2019). The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 250, 32–40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.008>

Kogut, M., & Arsenault, R. (2016). Gut health: The new paradigm in food animal production. *Frontiers in Veterinary Science*, 3(71), 1–4. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00071>

Kritas, S., & Morrison, R. (2005). Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery. *Veterinari Record*, 156, 447–448.

Kumar, S., Tariq, H., Singh, A., Tyagi, N., Mondal, G., Gupta, M., & Tyagi, A. (2017). Significance of probiotics as feed additives in livestock and poultry nutrition. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 34(4), 361–373. <https://doi.org/DOI:10.5958/2231-6744.2017.00059.7>

León-Placencia, A. F., & Quesada-Patrón, K. A. (2012). *Elaboración de una guía de control microbiológico para las micro y pequeñas empresas lácteas y cárnicas del cantón Cuenca* [Tesis Pregrado, Universidad del Azuay]. <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/1394/1/09580.pdf>

Lugo-Peña, I. (2011). *Efecto de la suplementación con harina Aspergillus, en el comportamiento productivo del ganado Holstein* [Tesis Pregrado, Universidad Autónoma Agraria]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3206/ISMAEL LUGO PEÑA.pdf?sequence=1>

Luna-Fontalbo, J. (2012). *Manual de prácticas de laboratorio de Microbiología*. Editorial de la Universidad del Magdalena.

Madsen, E. (2011). Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(3), 456–464. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.008>

Maestre-Naranjo, M., & Muñoz-Ortega, S. (2008). Medidas de actuación para la prevención de la toxiinfección alimentaria. *Medicina y Seguridad Del Trabajo*, 54(212), 121–130. <https://scielo.isciii.es/pdf/mesetra/v54n212/aula2.pdf>

Mahmood, T., & Guo, Y. (2020). Dietary fiber and chicken microbiome interaction: Where will it lead to? *Animal Nutrition*, 6(1), 1–8. <https://doi.org/doi:10.1016/j.aninu.2019.11.004>.

Martín Platero, A. M. (2008). *Estudio polifásico de la diversidad microbiana de quesos artesanales elaborados con leche cruda de cabra* [Tesis Maestría, Universidad de Granada]. <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/2087/17700565.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martínez-Miranda, M., & Díaz-Arango, F. (2016). Evaluación de la calidad de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Manizales. *Producción+ Limpia*, 11(1), 75–84.

Martínez, M. (2005). Infecciones virales y exantemas no tradicionales. *Revista Chilena de Pediatría*, 76(3), 309–315. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062005000300012>

Mateu, E. (2012). *Inmunidad Digestiva Del Lechón Lactante Y Destetado*. Buenas Tareas. <https://www.buenastareas.com/ensayos/Inmunidad-Digestiva-Del-Lechón-Lactante-y/4416006.html>

Meng, J., Lejeune, J., Zhao, T., & Doyle, M. (2012). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In M. Doyle & R. Buchanan (Eds.), *Food microbiology: Fundamentals and frontiers* (pp. 456–534). ASM Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch12>

Merck. (2012). *Manual Merck de Información médica para el hogar*. Oceano Librerías.

Miguelé-Murillo, M. M. (2017). *Microbiología general: guías de laboratorio*. Universidad Continental. <https://docplayer.es/55449381-Vision-mision-universidad-continental.html>

Milián, G., Pérez, A., Rondón, A., Samaniego, L., Piad, R., & Laurencio, M. (2016). *Efecto de los probióticos sobre el sistema inmune*. Universidad de Matanzas. <http://docplayer.es/5668999-Efectos-de-los-probioticos-sobre-el-sistema-inmune.html>

Miranda-Lagos, E. (2016). *Características y clasificación de los seres vivo*. Universidad de Venezuela.

Mirando, E. (2016). *Clasificación de los microorganismos*. Universidad de Venezuela.

Moat, A., Foster, J., & Spector, M. (2002). *Microbial physiology* (4th ed.). John Wiley & Sons.

Montalbetti, A. (2010). *Microbiología del rumen* [Tesis Maestría, Universidad del Rosario]. <http://www.ilustrados.com/publicaciones/EpZyuyAlApvcKniVWu.php>

Montayo-Villafañe, H. H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines* (2n ed.). Editorial Universidad de Antioquia.

Mora-Guevara, L. A., Cabrera-Flores, Y., & Ramírez-Zea, C. G. (2016). *Algunos microorganismos de la Familia Enterobacteriaceae*. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://microbiologia2019.files.wordpress.com/2018/08/libro-electrc3b3ncio-de-enterobacterias.pdf>

Muck, R., Nadeau, E., McAllister, T., Contreras-Govea, F., Santos, M., & Kung, J. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3980–4000. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>

Mura, E., Edwards, J., Kittelmann, S., Kaerger, K., Voigt, K., Mrázek, J., Moniello, G., & Fliegerova, K. (2019). Anaerobic fungal communities differ along the horse digestive tract. *Fungal Biology*, 123(3), 240–246. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.12.004>

Murillo, S. (2021). Yersinia Enterocolitica: Modo De Transmisión, Percepción Molecular De La Virulencia Y Patogénesis De La Infección. *Serpentine*, 1–10. <https://serpentine-conference.com/es/yersinia-enterocolitica-modo-de-transmisión-percepción-molecular-de-la-virulencia-y-patogénesis-de-la-infección/>

Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2020). *Medical Microbiology* (9th ed.). Elsevier Health Sciences.

Musa, H., Wu, S., Zhu, C., Seri, H., & Zhu, G. (2009). The potential benefits of probiotics in animal production and health. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2), 313–321.

Musto, A., & Iserte, J. (2013). *Manual de microbiología y parasitología* (2nd ed.). Universidad Nacional Arturo Jauretche. <https://www.unaj.edu.ar/wp-content/uploads/2018/06/Manual-de-Microbiologia-y-Parasitologia-2013.pdf>

Navarrete, M. (2013). *Factores microbiológicos que afectan la leche*. Slideshare. <https://es.slideshare.net/margotnavarrete/factores-mb-q-afectan-a-la-leche>

Navas Saballo, J., & Morales-Cerda, D. (2016). *Libro de texto de microbiología pecuaria*. Universidad Nacional Agraria. <https://repositorio.una.edu.ni/3343/1/tnl70n322.pdf>

Nicolaeva, G. (1977). Factors controlling the dormancy pattern. In *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination* (pp. 51–71). Amsterdam, North-Holland.

Norrby, E. (2011). Prions and protein-folding diseases. *Journal of Internal Medicine*, 270(1), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02387.x>

Olvera, M., Leyva-Jiménez, H., Castiblanco, M., Villar-Patiño, G., & Casarín, A. (2020). *Importancia de la microbiota intestinal de las aves y su posible regulación con el uso de fibras*. Ergonomix-Avicultura. <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/importancia-microbiota-intestinal-aves-t45877.htm>

Organización de Consumidores y Usuarios de España (OCU). (2016). *Lacarne de Pollo contiene bacterias*. Alimentos. <https://www.ocu.org/alimentacion/alimentos/informe/bacterias-en-el-pollo>

Ortega-Pacheco, L. (2005). *Cocos o micrococos*. Universidad de Cuenca.

Ovales-Urgel, A. (2013). *Syllabus de la asignatura microbiología*. Universidad de Aquino Bolivia.

Overa-García, M. (2022). *Importancia de la microbiota intestinal de las aves y su posible regulación con el uso de fibras*. Avicultura. <https://www.avicultura.mx/destacado/Importancia-de-la-microbiota-intestinal-de-las-aves-y-su-posible-regulacion-con-el-uso-de-fibras>

Pach, B. (2011). *Estructura e importancia de los virus y su utilización en el campo médico* [Tesis Pregrado, Universidad de Brasilia]. [https://www.monografias.com/trabajos92/extructura-e-importancia-virus/extructura-e-importancia-virus#google\\_vignette](https://www.monografias.com/trabajos92/extructura-e-importancia-virus/extructura-e-importancia-virus#google_vignette)

Paez-Cabeza, Z. (2018). *Plan de mejoramiento enfocado en las buenas prácticas de manufactura para la manipulación en el área de alimentos preparados del mercado diario del cantón Cayambe* [Tesis de Pregrado, Universidad Tecnológica Equinoccial]. [http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/18613/70556\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/18613/70556_1.pdf)

Parence, L. (2020). *2º Laboratorio de Microbiología I*. Universidad del Carchi. <https://es.scribd.com/doc/17102226/2-LABORATORIO-DE-MICROBIOLOGIA-I>

Park, S., Ryu, S., & Kang, D. (2012). Development of an improved selective and differential medium for isolation of Salmonella sp. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(10), 3222–3226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/JCM.01228-12>

Penn, M., & Dworkin, M. (1976). Robert Koch and two visions of microbiology. *Bacteriological Reviews*, 40(2), 276–283. <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/br.40.2.276-283.1976>

Pérez-Sánchez, M. (2008). *Trabajando entre bacterias*. Universidad de la Plata. <https://es.scribd.com/doc/28443922/Marta-perez-sanchez>

Perez-Toribio, J. L. (2016). *Inocuidad y aseguramiento al proceso de transformación de productos derivados del cacao, mediante el análisis de peligros y puntos críticos de control en una empresa alimenticia* [Tesis Pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/4772/1/JuanLuisPerezToribio.pdf>



Piña-López, C. E. (2014). *Módulo de microbiología*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). <https://1library.co/document/zk61j41y-modulo-microbiologia-en-pdf-1.html>

Puigdomenech, G. (2009). *Microbiología: concepto e historia*. El Cid Editor apuntes. <https://www.worldcat.org/title/microbiologia-concepto-e-historia/oclc/950767556>

Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick, E. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. John Wiley & Sons.

Ramírez-Mora, L. (2016). *Células Procarióticas: Características generales*. Universidad de Valparaíso.

Rehman, A., Heinsen, F., Koenen, M., Venema, K., Knecht, H., & Hellmig, S. (2012). Effects of probiotics and antibiotics on the intestinal homeostasis in a computer controlled model of the large intestine. *BMC Microbiology*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-47>

Reid, G., & Friendship, R. (2002). Alternatives to antibiotic use: probiotics for the gut. *Animal Biotechnology*, 13(1), 97–112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1081/ABIO-120005773>

Requena, F., Saume, E., & León, A. (2005). Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4), 393–410. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692005000400005&lng=es&nrm=iso%3E](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692005000400005&lng=es&nrm=iso%3E). ISSN 0798-7269.

Restrepo-Molina, D. A., Arango-Mejía, C. M., Campuzano-Renato, A., & Restrepo, D. (2010). *Industria de Carnes*. Universidad Nacional de Colombia.

Rios-Díaz, J. R. (2014). *Prevención de diarrea en terneras mediante la técnica de exclusión competitiva administrando un probiótico, elaborado con cepas propias* [Tesis de Pregrado, Universidad Católica de Santa María]. <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/4381/68.0719.VZ.pdf?isAllowed=y&sequence=1>



Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R., & Gutiérrez-Builes, L. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236–247. <https://doi.org/https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>.

Rivera, E. (2010). *El prión: Biología molecular*. Agromeat. <https://www.agromeat.com/5643/el-prion-biologia-molecular>

Roca-Canudas, M. (2008). *Estudio del ecosistema bacteriano del tracto digestivo del cerdo mediante técnicas moleculares*. Universitat Autònoma de Barcelona.

Rodríguez, M. (2016). *Variabilidad de la inactivación microbiana y de la fase de latencia de los microorganismos supervivientes a un proceso de acidificación*. Universidad Complutense de Madrid.

Rodríguez, V., Humberto, J., Bravo, H., & Adolfo, G. (2019). Efecto de diferentes niveles de suministro de carbonato de calcio sobre el peso y grosor de la cascara del huevo. *Revista Colombiana de Ciencia Animal Recia*, 11(2), 11–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.24188/recia.v11.n2.2019.719>

Saavecra, J. (2015). *clasificación de las bacterias por su alimentación*. BSE-TODO. <https://b.se-todo.com/biolog/473/index.html>

Sánchez-Contreras, M., & González-Flores, T. (2017). ¿Qué son los microbios? *Ciencia-Academia Mexicana de Ciencias*, 68(2), 10–17. [http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68\\_2/PDF/QueSonMicrobios.pdf](http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/QueSonMicrobios.pdf)

Shama, G. (2019). The “Petri” dish: a case of simultaneous invention in bacteriology. *Endeavour*, 43(1-2), 11–16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.endeavour.2019.04.001>

Shamrock Water Treatment, S. A. (2003). *Contaminación de las Aguas por Nitratos. Aguas residuales*. [https://members.tripod.com/london\\_job/](https://members.tripod.com/london_job/)

Sikorska, B., Knight, R., Ironside, J. W., & Liberski, P. P. (2012). Creutzfeldt-Jakob disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 724, 76–90. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0653-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0653-2_6)

Singh, T., Bhat, M., & Khan, M. (2012). Microsporidiosis in the Silkworm, *Bombyx mori* L.(Lepidoptera: Bombycidae). *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 35(3), 387–406. <https://web.p.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=15113701&AN=84018295&h=-cVSI%2BSkxkl4Nv4rFB%2Bki0W9Cu9AIXncTqvwZqeFFVIsEZ-B9oH%2B0tswTxjqtfaBWTO4IHUOIqqnirehKyD9D1sA%3D%-3D&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLoc>

Spuria, L., Biasibetti, E., Bisanzio, D., Biasato, I., De Meneghi, D., Nebbia, P., & Capucchio, M. (2017). Microbial agents in macroscopically healthy mammary gland tissues of small ruminants. *PeerJ*, 5, e3994. <https://doi.org/https://doi.org/10.7717/peerj.3994>

Stadelman, W., Newkirk, D., & Newby, L. (2013). *Egg science and technology* (4th ed.). CRC Press.

Swords, W., Wu, C., Champlin, F., & Buddington, R. (1993). Postnatal changes in selected bacterial groups of the pig colonic microflora. *Neonatology*, 63(3), 191–200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000243931>

Tanpong, S., Cherdthong, A., Tengjaroenkul, B., Reungsang, A., Sutthibak, N., & Wongtangintharn, S. (2021). A study on citric acid by-product as an energy source for Japanese quail. *Tropical Animal Health and Production*, 53(5), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11250-021-02920-y>

Ticona, A. (2017). *Aplicación de los métodos físicos y químicos en la conservación de los alimentos, control de calidad – sistema HACCP*. Universidad Nacional de San Agustín. <https://www.slideshare.net/ingenieriacivilunsa3/aplicacin-de-los-metodos-fisicos-y-quimicos-en-la-conservacion-de-los-alimentos-control-de-calidad-sistema-haccp>

Tierra Vilema, V. M. (2016). *Tecnología y ciencias médicas;gastronomía;sistema sanitario;servicios de alimentación;alimentación hospitalaria;colta (Cantón)* [Tesis Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/11198>

Tobón, G., & Hoyos, A. (2020). Tinción de Gram de tejido: alcances y limitaciones. *Medicina & Laboratorio*, 18(11), 557–573. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=93646>

Tortora, G., Funke, R., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología* (12th ed.). Editorial Medica Panamericana.

Universidad de Extremadura (UEX). (2012). *La base molecular y físico-química de la vida*. Universidad de Extremadura. <https://aprenderly.com/doc/3010513/temariodebiologia2ba..?page=2>

Valencia-Arroyo, D. (2014). *Diagnóstico general de la planta embotelladora de agua purificada UG. y propuesta de acciones para la optimización de la calidad de su producto* [Tesis Pregrado, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7210/1/VALENCIA.pdf>

Vanbelle, M., Teller, E., & Focant, M. (1990). Probiotics in animal nutrition: a review. *Archives of Animal Nutrition*, 40(7), 543–567.

Vega-Panaifo, L. A. (2014). *Equipos y materiales en el laboratorio de microbiología*. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía. <https://es.slideshare.net/yurikomarin/equipos-y-materiales-de-laboratorio>

Vidal-Verdú, À., Gómez-Martínez, D., Latorre-Pérez, A., Peretó, J., & Porcar, M. (2022). The car tank lid bacteriome: a reservoir of bacteria with potential in bioremediation of fuel. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41522-022-00299-8>

Waite, D., & Taylor, M. (2014). Characterizing the avian gut microbiota: membership, driving influences, and potential function. *Frontiers in Microbiology*, 5, 223–234. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00223>

Woese, C., Kandler, O., & Wheelis, M. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87(12), 4576–4579. <https://doi.org/DOI: 10.1073/pnas.87.12.4576>

Wonalixia. (2011). *Quesos: Elaboración y procesos-Tipos y variedades comerciales*. Tecnología de Alimentos. <https://wonalixia-bittersweet.blogspot.com/2011/>

Xie, Z., Meng, X., Ding, H., Cao, Q., Chen, Y., Liu, X., & Li, D. (2021). The synergistic effect of rumen cellulolytic bacteria and activated carbon on thermophilic digestion of cornstalk. *Bioresource Technology*, 338(24), 125566. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125566>

Xuan, Z., Kim, J., Heo, K., Jung, H., Lee, J., Han, Y., & Han, I. (2001). Study on the development of a probiotics complex for weaned pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(10), 1425–1428.

Yarwood, S. (2018). The role of wetland microorganisms in plant-litter decomposition and soil organic matter formation: a critical review. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(11), 1–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/femsec/fiy175>

Yuquilema- Atupaña, M. (2017). *Implementación de un plan de buenas prácticas de manufactura (BPM's) en la planta de balanceados "Campo Real" del cantón Pallatanga* [Tesis Pregrado, Escual Superior Politécnica del Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7749/1/17T1487.pdf>

Zaffiri, L., Gardner, J., & Toledo-Pereyra, L. (2012). History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, 25(2), 67–77. <https://doi.org/https://doi.org/10.3109/08941939.2012.664099>

Zamojska, D., Nowak, A., Nowak, I., & Macierzyńska-Piotrowska, E. (2021). Probiotics and postbiotics as substitutes of antibiotics in farm animals: A Review. *Animals*, 11(12), 3431.

Zang, J., Xu, Y., Xia, W., & Regenstein, J. (2020). Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(7), 1228–1242. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565491>

1

Zela-Velasquez, E. S. (2012). *Suficiencia: Balance Materia y Energía* [Tesis Pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/9289/IAzevees.pdf?seque=>

Zhu, W., Yang, D., Chang, L., Zhang, M., Zhu, L., & Jiang, J. (2022). Animal gut microbiome mediates the effects of antibiotic pollution on an artificial freshwater system. *Journal of Hazardous Materials*, 425, 127987. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127968>



## **Acerca de los Autores**



## **HENRY JURADO GÁMEZ**

Profesor Tiempo Completo, Categoría Profesor Titular del Programa de Zootecnia, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

Zootecnista de la Universidad de Nariño; Especialista en Microbiología de la Universidad Católica de Manizales; Magister (M.Sc) en Microbiología Agropecuaria de la Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil; Doctor (Ph.D) en Ingeniería con énfasis en Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Valle.

Actualmente, es Director del Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, investigador en las líneas de Procesos Biotecnológicos Aplicados a la Producción Animal, docente de pregrado y postgrado las áreas Microbiología Zootécnica, Tecnología de Carnes, Tecnología de Leches, Metodología de la Investigación y Procesos Biotecnológicos Aplicados a la Producción Animal en el Programa de Zootecnia de la Universidad de Nariño. Autor de varios artículos y libros, y participante como ponente en seminarios y congresos.



## **ANA JULIA MALLAMA GOYES**

Profesora hora cátedra de la Universidad de Nariño, Zootecnista egresada de la Universidad de Nariño, Magister en Desarrollo Sostenible y Ambiental de la Universidad de Manizales. Actualmente es directora del Programa de Zootecnia de la Universidad de Nariño. Trabaja como investigadora en las áreas de Avicultura, Especies Silvestres y Fisiología Animal. Es autora de libros y artículos en las mismas áreas.

## **JAVIER ANDRÉS MARTÍNEZ BENAVIDES**

Profesor tiempo completo categoría Asistente de la Universidad de Nariño, Zootecnista de la Universidad de Nariño, Ingeniero en Producción Acuícola de la misma universidad, Especialista en Educación Universitaria de la Universidad Mariana y Magister en Ciencias en la Industria Pecuaria de la Universidad de Puerto Rico.

Trabajó como investigador en las líneas de fisiología animal y enfoque sistémico. Autor de varios artículos y participante en seminarios y congresos.

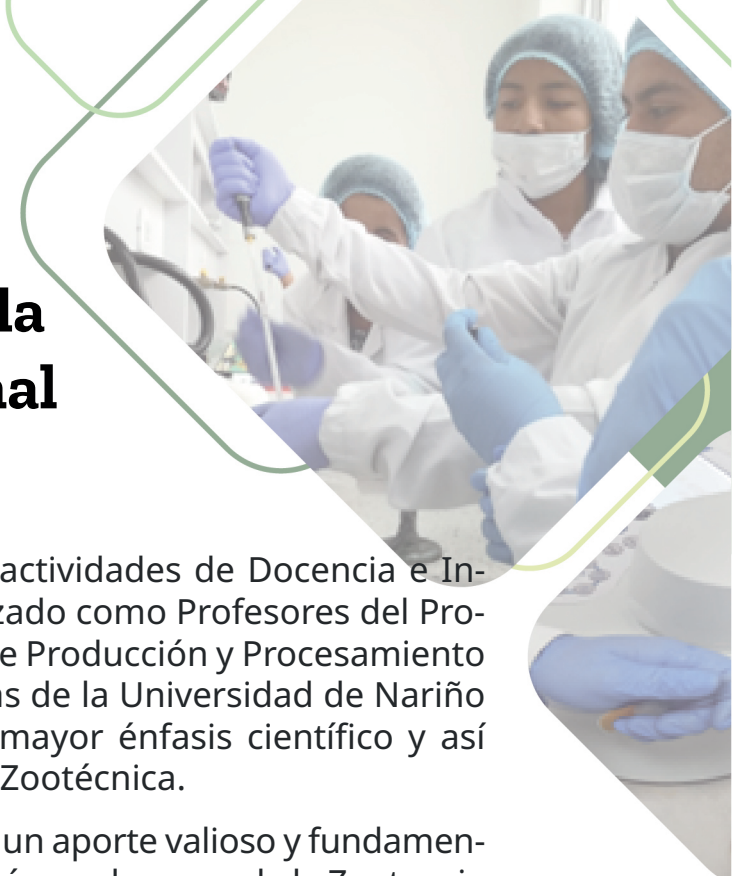


# Editorial

Universidad de **Nariño**

**Fecha Publicación**

# Microbiología Aplicada a La Producción Animal (Segunda Edición)



El presente libro, es derivado de las actividades de Docencia e Investigación que los Autores han realizado como Profesores del Programa de Zootecnia, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño con el fin de dar a conocer con un mayor énfasis científico y así mismo incentivar de la Microbiología Zootécnica.

De esta manera, el presente libro hace un aporte valioso y fundamental para la enseñanza de la Microbiología en el campo de la Zootecnia y de Profesiones afines que les permitirán a estudiantes, profesionales, productores e investigadores complementar su formación y realizar actividades de investigación con un gran apoyo científico.

En el presente libro se tratan con un abordaje científico y académico lo relacionado con los conceptos básicos de la Microbiología Zootécnica y su interacción fenómeno de fermentación, descomposición, la aplicación de procesos biotecnológicos con diferentes microorganismos, la importancia de los microorganismos tanto patógenos como benéficos análisis en diferentes alimentos, así como la importancia de la salud intestinal y su interacción con estos microorganismos y conceptos de normatividad. Todo lo anterior, ayudará a comprender mejor la importancia de la Microbiología Zootécnica en los diferentes procesos de docencia e investigación.

Finalmente, el Libro: “Microbiología Aplicada a la Producción Animal (Segunda Edición)”, proporciona los conocimientos suficientes e importantes para comprender la importancia de los diferentes microorganismos y su interacción en la producción animal.



PROBIOTEC-FORAPIS

Universidad de Nariño

ISBN: 978-628-7509-80-1 Digital



Universidad de Nariño  
FUNDADA EN 1904

ai

Universidad de Nariño  
ACREDITADA DE ALTA CALIDAD  
RESOLUCIÓN MEN 10567 - MAYO 23 DE 2017

Editorial  
Universidad de Nariño