



About *Bacillus cereus* and food safety (a review)

Alejandro De Jesús Cortés-Sánchez
CONACYT- UNCIBNOR

Cynthia A. Guzmán-Medina
Secretaria de Salud (SSA)

Mayra Díaz-Ramírez

Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)

Received: Oct 31, 2017

Accepted: Jun 10, 2018

Pag. 93-108

Abstract

Foodborne diseases (FD) are considered a relevant issue in public health because of their negative impact on the economic and social sphere. Among the agents of biological origin producing FD is *B. cereus* capable of producing intoxications and toxoplasmosis by consumption of contaminated food. The purpose of this document was to present a general overview of foodborne diseases specifically those produced by *Bacillus cereus*, involving general microbiological characteristics, methods of detection analysis, as well as measures to control and prevention of food contamination. Food that does not cause damage to health requires the joint action of various sectors such as international organizations, government authorities, academia and the food industry that have been developing, recommended and implemented strategies and actions throughout the food chain as good hygienic practices, analytical methods of detection, and educational programs for the general population on the preparation and preservation of food in the household; in order to reduce the risk to health derived from food to a society that is constantly growing and eager for healthy and nutritious food.

Keywords: *Bacillus cereus*, food safety, public health. Introducción

DOI: 10.25100/rc.v22i1.7101

Sobre *Bacillus cereus* y la inocuidad de los alimentos (una revisión)

Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son consideradas un tema de relevancia en salud pública debido a su incidencia y las repercusiones negativas en el ámbito económico y social. Dentro de los agentes de origen biológico productores de ETA se encuentra *B. cereus* capaz de producir intoxicaciones y toxiinfecciones por consumo de alimentos contaminados. El presente documento, tuvo como finalidad mostrar una perspectiva general de las enfermedades transmitidas por alimentos específicamente las producidas por *Bacillus cereus*, involucrando características microbiológicas generales, métodos analíticos de detección, así como medidas de control y prevención de la contaminación de alimentos. Alimentos que no generen un daño a la salud hace necesaria la acción conjunta de diversos sectores sociales como organizaciones internacionales, autoridades gubernamentales, academia e industria alimentaria que a nivel global han ido desarrollando, recomendado e implementado estrategias y acciones a lo largo de la cadena alimentaria como las buenas prácticas de higiene, métodos analíticos de detección y programas

educativos a la población general sobre la preparación y conservación de alimentos en el hogar; afin de reducir el riesgo a la salud derivado de la alimentación, a una sociedad que se encuentra en constante crecimiento y ávida de alimentos sanos y nutritivos.

Palabras clave: *Bacillus cereus*, inocuidad, alimentos, salud pública.

1 Introducción

1.1 Los alimentos y su relación con la salud

La alimentación es una necesidad imperante de los seres humanos. Sin embargo, los alimentos pueden albergar diferentes peligros para la salud al contaminarse por agentes físicos, químicos y biológicos durante sus diferentes etapas de producción, almacenamiento, transporte y elaboración previos a su consumo, generando enfermedades que son consideradas como un serio problema y un reto para la salud pública alrededor del mundo debido a las elevadas tasas de incidencia, mortalidad y repercusiones económicas negativas del sector productivo y de salud por el desarrollo y acciones de implementación de estrategias de control, vigilancia y prevención en materia de salud pública, animal e industria alimentaria ⁽¹⁻⁴⁾. Para tales fines, en la producción de alimentos nutritivos e inocuos, se han utilizado nuevas tecnologías, buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas pecuarias, buenas prácticas de manufactura, control de calidad y medidas de higiene y seguridad, así como sistemas preventivos como la ejecución del análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP, por sus siglas en inglés) ^(5,6). La inocuidad es un concepto atribuido a todo alimento que no ocasiona daño ni enfermedad a la persona que lo consume y que junto con las características nutricionales, organolépticas y comerciales constituye la calidad integral del mismo ⁽²⁾ y debe ser el factor común y prioritario a lo largo de la cadena productiva.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se definen como aquellas que son producto del consumo de agua y/o alimentos que presentan agentes nocivos ya sea de naturaleza física, química o biológica para la salud del consumidor. Los síntomas de estas enfermedades son diversos, presentándose de manera general: náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre; en algunos casos presentan complicaciones severas como la sepsis, meningitis, aborto, síndrome de Reiter o muerte ⁽⁷⁾. Existen diferentes ETA las cuales se clasifican en: I. intoxicaciones, derivadas del consumo de alimentos en los que se encuentra una toxina o veneno formado en tejidos de plantas o animales o metabolito derivado del crecimiento microbiano. II. infecciones originadas por la ingestión de alimentos con microorganismos patógenos vivos, generando la invasión, multiplicación y alteración de los tejidos del huésped y III. toxiinfecciones que es la enfermedad que combina la infección con la intoxicación con cierta cantidad de microorganismos no invasivos capaces de producir y/o liberar toxinas durante su desarrollo en el intestino del huésped ⁽⁸⁻⁹⁾.

Se han reportado aproximadamente 250 agentes causales de ETA en los cuales se encuentran bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales ^[(1,4,5)]. De los cuales los de mayor frecuencia asociados a estas enfermedades son contaminantes o agentes de origen biológico; tal es el caso de bacterias como: *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*,

Listeria monocytogenes, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio* spp., entre otros ^(2,5,7,10).

La dimensión e impacto, alrededor del mundo, de las ETA es generalmente desconocida, habiendo numerosos países con sólo estimaciones ⁽⁵⁾. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima a nivel global una incidencia de 1.500 millones de casos de diarrea al año, debido a la cual 3 millones de niños por debajo de los 5 años de edad fallecen ^(4,11). En los Estados Unidos, a través del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) se reportaron para el 2013 un total de 19.056 infecciones alimentarias, 4.200 hospitalizaciones y 80 defunciones ⁽⁷⁾. En Chile se registraron en el 2013 cerca de 1.164 brotes con 7.841 casos. En la Unión Europea, se registraron 5.648 brotes en 2011, resultando en 69.553 casos, 7.125 hospitalizados y 93 decesos ⁽⁵⁾. Mientras que, en Colombia en 2014, a través del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud, se reportaron 9.730 casos ⁽⁷⁾ y en México en 2008, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) brindó 2 millones 188 consultas médicas por enfermedades gastrointestinales, siendo los estados de Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca donde hubo mayor ocurrencia ⁽¹⁰⁾.

Algunos de los factores que han contribuido a la aparición de estas enfermedades son la globalización del mercado, la aplicación de nuevos procesos de fabricación y de nuevos productos, los cambios de hábitos alimentarios en la sociedad, el consumo de alimentos envasados, las comidas fuera del hogar, el expendio de comida preparada y de comida rápida ^(1,4,5). Se prevé que el problema de salud pública se agudizara con estas enfermedades debido a la aparición de nuevas formas de transmisión, al mayor número de grupos poblacionales vulnerables y al aumento de la resistencia a compuestos antimicrobianos por parte de los patógenos ⁽⁶⁾.

El presente documento tuvo como finalidad mostrar una perspectiva general de las enfermedades transmitidas por alimentos y, específicamente, en el caso de las producidas por un contaminante de origen biológico como lo es *Bacillus cereus*, involucrando aspectos que van desde características microbiológicas generales, métodos analíticos enfocados en el aislamiento y detección, hasta las medidas de control y prevención de la contaminación por este patógeno en la producción de alimentos y la protección de la salud pública.

2 Materiales y métodos

2.1 *Bacillus cereus* y generalidades

Las bacterias del género *Bacillus* spp., son microorganismos que se caracterizan por generar esporas y localizarse en los suelos; algunas especies son de carácter patógeno para el ser humano como son: *B. anthracis* o *Bacillus cereus*. Sin embargo existen otras especies que presentan beneficio para el ser humano, al ser utilizadas como indicadores de desinfección y esterilización, son productoras de antibióticos, vitaminas, enzimas, intervienen en la solubilización de fosfatos y fijación biológica del nitrógeno ^(12,13). Así mismo, desde hace ya algunos años se sabe que algunas especies son productoras de metabolitos secundarios anfipáticos denominados biosurfactantes (BS) los cuales han

presentado propiedades fisicoquímicas y biológicas de interés y uso potencial en diversas áreas industriales como la farmacéutica, alimentos, ambiental, petróleo, entre otras ⁽¹⁴⁻¹⁸⁾.

El género *Bacillus* presenta 51 especies dividido en tres grupos (1-3) los cuales están basados en la morfología de las esporas y los esporangios. El grupo 1 está subdividido en 1A y 1B en relación al tamaño de la célula y la presencia de poli- β -hidroxibutirato en el citoplasma, los microorganismos que pertenecen al Grupo 1A (o también llamado grupo *B. cereus*) el cual está conformado por: *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, y *B. weihenstephanensis*. La mayoría de los miembros de este grupo producen enterotoxina y se relacionan con la inducción de *Bacillus* hacia la generación de enfermedad ⁽¹⁹⁾.

B. cereus, además, según estudios fenotípicos y genómicos (16S rRNA) presenta una analogía con otras especies como *B. anthracis*. Esta bacteria presenta una amplia distribución por distintos ambientes naturales como lo es el tracto intestinal de invertebrados, suelo, agua, vegetación y aire; pudiendo existir ya sea en forma de esporas o células vegetativas, siendo estas últimas capaces de colonizar el cuerpo humano ⁽¹⁹⁻²⁰⁾. Este microorganismo se caracteriza por presentar forma de bastón alargado de 1.0-1.2 μm en el diámetro x 3.0 a 5.0 μm de largo, Gram positivo, móvil, esporulado (cuando las condiciones de crecimiento no son favorables), anaerobio facultativo, tiene un intervalo de temperaturas de crecimiento que va de 4° C a 48° C donde sus esporas son capaces de tolerar hasta 95° C, pH de 4.3 a 9.3 y de actividad del agua de 0.912 a 0.95, así mismo, es capaz sobrevivir a condiciones salinas de hasta una concentración del 7 % ^(20,22-25).

Cuando uno de los miembros del grupo 1A del género *Bacillus* es aislado, pero no completamente identificado, se le denomina *B. cereus sensu lato* (s.l.). Mientras que a los aislamientos completamente identificados obtenidos de este microorganismo se le denomina *Bacillus cereus sensu stricto* (s.s.) formando parte del grupo 1A. Las diferentes especies se pueden identificar a través de varios test en el laboratorio donde se evalúan características fenotípicas que involucran la capacidad para metabolizar distintos sustratos como son: azúcares, alcoholes, polisacáridos entre otras ^(19,23) (Tabla 1).

Tabla 1.- Características fenotípicas de identificación entre especies del género *Bacillus* spp., en el laboratorio. Phenotypic characteristics of identification of species of the genus *Bacillus* spp., In the laboratory ^(12,19,23,26).

Análisis	<i>B. cereus</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. mycoides</i>
Crecimiento colonial en agar sangre	Ligeramente verdes	Gris-blanco a blanco menor que <i>B. cereus</i>	Ligeramente verdes	Colonias rizoides con parte posterior marcada
Movilidad	+	-	+	-
Catalasa	+	+	+	+
Hidrolisis urea	V	-	+	V

Reducción nitratos	+	+	+	+
Hemolisis	+	-	+	+
Hidrolisis almidón	+	+	+	+
Arginina dihidrolasa	V	-	+	V
Generación de ácido a partir de:				
Manitol	-	-	-	-
Trehalosa	+	+	+	+
Arabinosa	-	-	-	-
Glicerol	-	+	+	+

(+) Reacción positiva, (-) reacción negativa, (V): reacción variable.

B. cereus es considerado un microorganismo con la capacidad de producir diferentes infecciones en el ser humano a nivel sistémico y local como la bacteriemia, meningitis y abscesos cerebrales, endoftalmitis, neumonía e infecciones cutáneas. Así mismo, genera afectaciones en el sistema gastrointestinal a través de los alimentos como son intoxicaciones y toxiinfecciones ^(20-21,23,27-28). Entre los mecanismos que presenta *B. cereus* a fin de generar enfermedad en el huésped se encuentran la producción durante su crecimiento de tres fosfolipasas, una proteasa y dos tipos de enterotoxinas (emética y diarreica). Estas últimas, al ser consumidas en alimentos contaminados con un crecimiento estimado de 10^5 a 10^8 UFC/g pueden generar vómitos, náuseas y/o cuadros diarreicos ^(20,23,25-27). Entre los alimentos frecuentemente involucrados en brotes de enfermedades se encuentran las harinas, salsas, sopas, carnes, ensaladas, verduras, pescado, leche, arroz y derivados ^(21,23,27-28).

Las toxinas de esta bacteria patógena son responsables de los principales síntomas por enfermedad alimentaria, las cuales consisten en: 1, la enterotoxina emética o cereulida que es un polipéptido cíclico hidrofóbico termoestable sintetizado al final de la fase logarítmica de crecimiento, bajo condiciones aeróbicas o micro aeróbicas que actúa como un ionóforo de potasio afectando los gradientes de concentración de iones transmembrana necesarios para el buen funcionamiento celular y asociado comúnmente a síntomas de náusea y vómitos y 2, las enterotoxinas o toxinas ligadas a un cuadro diarreico, que incluyen moléculas de naturaleza proteica termolábiles como: la hemolisina BL codificada por los genes *hblA*, *hblC* y *hblD*, citotoxina K codificada por el gen *CytK* y que guarda similitud a la β -toxina producida por *Clostridium perfringens*, la enterotoxina no hemolítica (Nhe) formada de tres diferentes genes codificantes como el *nhe A*, *nhe B* y *nhe C* incluidos en el operón *nhe*, siendo la expresión de todos los genes un producto biológicamente activo y finalmente se encuentra la enterotoxina FM, la cual es de carácter citotóxica en líneas celulares Vero. Las enterotoxinas son generadas una vez que se realiza la colonización del intestino delgado por el patógeno; formándose así poros en las membranas de las células epiteliales, resultando en un desequilibrio osmótico y promoviendo el proceso diarreico ^(21,23,27,29).

2.2 Enfermedades transmitidas por alimentos, control y prevención.

B. cereus es uno de los diferentes agentes biológicos causales de enfermedades transmitidas por alimentos alrededor del mundo ^(21,30). En países como los Estados Unidos de América, a través de un programa de vigilancia mantenido por el centro de control de enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), se colecta información referente al número de ETA, hospitalizaciones, defunciones, agentes etiológicos, alimentos implicados, factores contribuyentes, ajustes de preparación y consumo de alimentos asociados a fin de minimizar la incidencia ⁽³⁰⁾. En este país se estima una incidencia de 9.4 millones de ETA al año causadas por diversos patógenos, de los cuales el 14 % son originados por microorganismos como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* o *Clostridium perfringens*. Tan solo en un estudio realizado en el periodo comprendido entre los años 1998 y 2008, se registraron 13.405 brotes de enfermedades, de las cuales 1.229 fueron causadas, en un 44 %, por *C. perfringens*, 37 % por *S. aureus* y 19 % por *B. cereus*, teniendo importantes secuelas económico-sociales negativas ⁽³¹⁾.

B. cereus al encontrarse ampliamente extendido en la naturaleza puede contaminar fácilmente diferentes ambientes y productos como el caso de los alimentos, pudiendo ocurrir este fenómeno en cualquier fase de la cadena alimentaria; además, la resistencia a los antimicrobianos y la capacidad de formar esporas resistentes a diferentes condiciones adversas como los tratamientos térmicos, secado, congelación, acidez, desinfectantes y radiación usados en la eliminación de microorganismos, en la producción de alimentos, hace que se considere como un patógeno de mayor importancia en la industria alimentaria y en la salud pública ^(20-29,32).

Se estima que la mayoría de las enfermedades generadas por este patógeno son debidas a las malas prácticas en tratamientos térmicos y condiciones de almacenamiento a las que son sometidos los alimentos ⁽³⁰⁾. El control y prevención de enfermedades por *B. cereus* involucra la atención prioritaria de diferentes factores que pueden promover la contaminación en diferentes fases de la cadena de producción; como son temperaturas de cocción (sin garantía de inocuidad el uso de altas temperaturas por ser microorganismo generador de esporas), condiciones higiénicas de almacenamiento, transporte, equipos, lugar y personal involucrado en el procesamiento y preparación de alimentos ^(9,23,31,33-35).

Considerando la gran capacidad de este patógeno y sus esporas de tolerar diferentes condiciones fisicoquímicas, con la finalidad de reducir el riesgo de ETA, alrededor del mundo se han investigado, propuesto e implementado diferentes procesos de elaboración y preservación de alimentos que involucran: I) Agentes químicos como conservadores químicos (benzoatos, acetatos, nitratos, nitritos, anhídrido sulfuroso, entre otros). II) Agentes físicos mediante la aplicación de diferentes condiciones de calor, presión, radiación ionizante, campos eléctricos, sonicación, entre otros y III) Agentes biológicos a través del uso de microorganismos como son las bacterias ácido lácticas y/o metabolitos, polímeros (quitosano u oleorresinas), compuestos fenólicos presentes en extractos y aceites esenciales de origen vegetal. Así mismo, a nivel global se han desarrollado, implementado y reconocido por diferentes organizaciones como el Codex Alimentarius, la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE por siglas en inglés), la Organización Internacional de Normalización (ISO por siglas en inglés), la Iniciativa Global para la Seguridad

Alimentaria (GFSI por siglas en inglés), entre otros, códigos, directrices, esquemas normativos y de certificación en la producción y comercialización de alimentos como el British Retail Consortium (BRC), Safety Quality Food (SFQ), Global G.A.P, ISO 22000 y más, que involucran las buenas prácticas agrícolas, ganaderas, pesqueras y acuícolas, buenas prácticas de higiene y de preparación, sistemas en el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP), criterios microbiológicos de materias primas y producto final, así como métodos de detección rápidos y confiables a fin de controlar y minimizar la presencia y contaminación de patógenos para garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos ^(9,23,33-40).

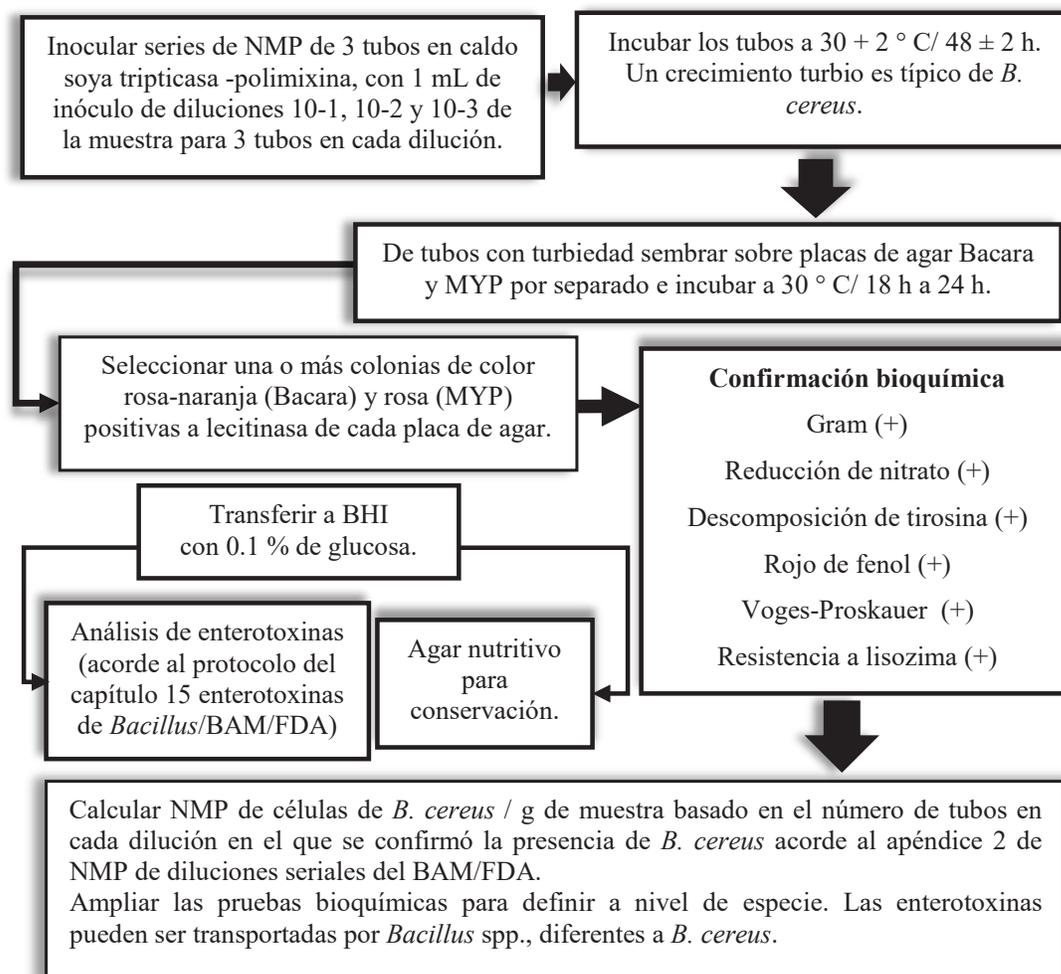
Entre las normas de regulación sanitaria implementadas por diversos países en América Latina como México, para controlar y reducir los riesgos de ETA, se encuentra la norma oficial NOM-251-SSA1-2009 ⁽⁴¹⁾, la cual solicita y expresa las prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, siendo de carácter obligatorio para productores y procesadores de alimentos. Así mismo, esta norma establece las directrices para establecer un sistema HACCP. Por otra parte, en América del Sur, en países como el Perú, a través de la Resolución Ministerial No. 591-2008/MINSA ⁽⁴²⁾, se establecieron límites microbiológicos para *B. cereus* en productos alimenticios deshidratados de 100 UFC/g de alimento. Mientras que en la Comunidad Europea, a través del reglamento (CE, 2005), no 2073/2005 de la comisión del 15 de noviembre de 2005, se estableció el criterio microbiológico de 50 UFC/g para preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de seis meses en el proceso final de fabricación, además de la inclusión del método analítico de aislamiento y cuantificación a implementar y las acciones en caso de criterio insatisfactorio como la mejora en la higiene de la producción, prevención de la re contaminación y la selección de las materias primas ⁽⁴³⁾.

2.3 Análisis e identificación en los alimentos

Hoy en día los procesos de aislamiento e identificación de bacterias se realizan a través de los métodos convencionales o tradicionales, los cuales tienen fundamento en las características fenotípicas, es decir, aquellas observables como la morfología, las propiedades bioquímicas y metabólicas. Su costo de implementación es accesible, además de que el cultivo, siempre que sea viable, es considerado el método de elección, permitiendo el aislamiento e identificación del microorganismo implicado, el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y los marcadores epidemiológicos ⁽⁴⁴⁾.

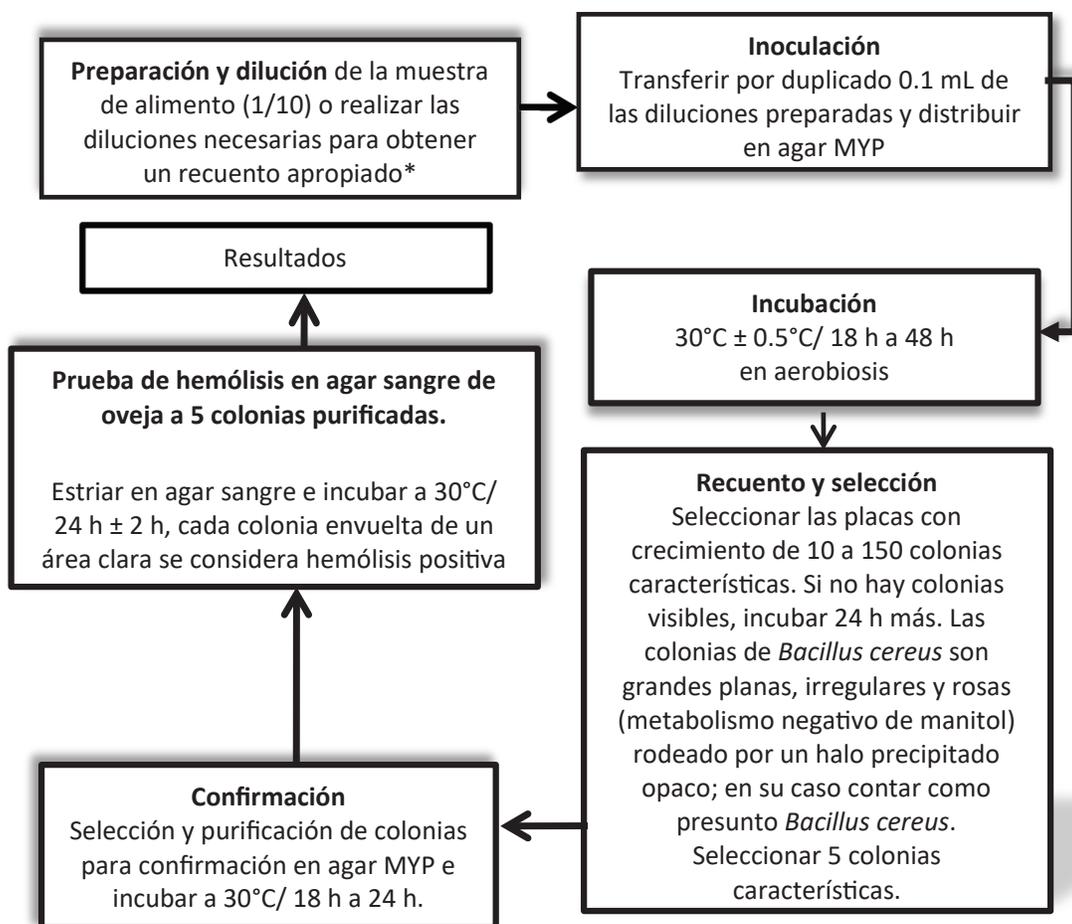
Se han reportado diferentes metodologías para el análisis de *B. cereus* en alimentos basadas en características fenotípicas como es el método reportado por Tallent *et al.* ⁽⁴⁵⁾, que aparece en el manual de análisis bacteriológico (BAM por sus siglas en inglés) de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA por sus siglas en inglés); basado en la enumeración por el método de número más probable (NMP), empleando series de tubos con caldos selectivos (caldo soya tripticasa-polimixina) y el cual se sugiere en la vigilancia microbiológica común de alimentos en los que se estima se determinen pequeñas poblaciones de *B. cereus*; así como en aquellos alimentos sometidos a procesos de deshidratación o que puedan contener una elevada contaminación de otras especies microbianas competidoras (Figura 1). Así mismo, involucra el aislamiento

y confirmación de cepas que se realiza mediante el uso de medios de cultivo diferenciales y selectivos como el Manitol-Yema de huevo-Polimixina (MYP) agar en el cual las colonias son de color rosa brillante con una zona de precipitación de yema de huevo y el agar cromo génico Bacara, donde el crecimiento corresponde a colonias de color rosa-naranja rodeadas de un halo opaco, realizando así, posteriormente, pruebas bioquímicas de confirmación como la hemólisis, movilidad, catalasa, tinción Gram, metabolismo de manitol, metabolismo de glucosa, entre otras (Tabla 1). Otro de los métodos comúnmente utilizados y normalizados para el análisis de alimentos, en la búsqueda y detección de *B. cereus*, son los propuestos por la Organización Internacional de Normalización (ISO por sus siglas en inglés) ⁽⁴⁶⁾, para el aislamiento y recuento en placa (Figura 2) e ISO ⁽⁴⁷⁾, para la detección y la enumeración del presunto *B. cereus*, viable en bajas proporciones por la técnica de número más probable (NMP); esto mediante el uso de medios de cultivos selectivos como el agar MYP y pruebas bioquímicas de hemólisis.



NMP: Número Más Probable. MYP: Agar Manitol-Yema de huevo-Polimixina. BHI: Caldo infusión cerebro corazón. BAM: Manual Analítico de Bacteriología, FDA: Administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica. h: horas, (+) reacción positiva para *B. cereus*.

Figura 1.- Flujo de detección de *B. cereus* en alimentos por número más probable (NMP).
Flowchart for detection of *B. cereus* in food by most probable number (MPN) ⁽⁴⁵⁾.



* Acorde a la norma ISO (47).

Agar manitol yema de huevo polimixina (MYP).

Figura 2.-Flujograma para el aislamiento e identificación de *Bacillus cereus* en placa presente en alimentos. Flowchart for the isolation and identification of *Bacillus cereus* in plaque present in foods (46,49).

Otros métodos fenotípicos utilizados también son los ensayos inmuno enzimáticos basados en la reacción antígeno-anticuerpo para la detección de *B. cereus*. Éstos se realizan con base en la búsqueda de subunidades de enterotoxinas producidas, encontrándose disponibles comercialmente diferentes test que detectan subunidades de enterotoxinas HBL y NHE como es el inmunoensayo visual BDE-VIA de Tecra® y el método de la aglutinación reversa pasiva (BCET-RPLA) de Oxoid®. Sin embargo, la mayoría de estas pruebas presentan desventajas ya que, al sólo detectar una toxina específica, pueden producir falsos negativos para *B. cereus* que expresen más de una enterotoxina y no determinan la bioactividad de la toxina al detectar solo una subunidad de las tres presentes en cada una de las enterotoxinas HBL y NHE debido a que las tres subunidades que constituyen estas toxinas son requeridas para mostrar actividad biológica (23).

En ocasiones la identificación de microorganismos en el laboratorio puede presentar una falta de concordancia entre las características fenotípicas del aislamiento en estudio

y las cepas control o se es requerida una mayor rapidez en la obtención de resultados, generando así que los métodos fenotípicos realicen la identificación más factible pero no definitiva. Para soslayar estos inconvenientes se han desarrollado y propuesto métodos basados en características genómicas en el análisis de los genes ARNr 16S, 16S-23S ARNr, ARNr 23S, *rpo* B (subunidad β de la ARN polimerasa), y *gyr* B (subunidad β de la ADN girasa), también se encuentran los métodos basados en la proteómica como las electroforesis y espectrometría de masas como el Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (desorción/ionización por láser asistida por matriz) y el analizador Time of Flight (TOF) (tiempo de vuelo) (MALDI-TOF por sus siglas en inglés) los cuales pueden ser usados para la identificación microbiana en carácter complementario o alternativo ^(44,50). Entre los métodos de análisis genómico de patógenos de transmisión alimentaria se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual presenta una rapidez de obtención de resultados, buen límite de detección, especificidad y sensibilidad, fácil automatización y capacidad de procesamiento de grandes cantidades de muestras ⁽⁶⁾. Para el caso de *B. cereus* se han desarrollado métodos de detección en alimentos mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) en variantes de PCR simple, múltiple o tiempo real cuyos blancos genéticos son el *gyr* B, 16S rRNA y genes de toxicogenicidad que codifican para enterotoxinas y sus diferentes componentes como la enterotoxina no hemolítica NHE con genes *nheA*, *nheB* y *nheC* y hemolisina HBL (*hblA*, *hblD* y *hblC*), enterotoxina T (*entFM*) y citotoxina K (*cytK*) ^(27,51-54). Mientras que a través de técnicas proteómicas basadas en el estudio de perfil proteínas o huella peptídica como es la electroforesis y MALDI-TOF/MS ⁽⁵⁵⁻⁵⁶⁾ ya se ha reportado la detección de *B. cereus* y sus enterotoxinas como la citotoxina K1 (CytK1) y enterotoxina no hemolítica (NHE) ⁽⁵⁵⁾. De igual forma la técnica de PCR se ha combinado para la detección y tipificación en estudios epidemiológicos siendo el método más usado y con mejores resultados el del ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (Random Amplified Polymorphic DNA-RAPD) obteniendo huellas genéticas para identificación y diferenciación entre *B. cereus* y otras especies en alimentos ^(23,26,57,58).

3 Comentarios finales

En los alimentos, aspectos como los nutricionales y de inocuidad son considerados de vital importancia para la salud y la calidad de vida de la sociedad; la alimentación es una necesidad prioritaria de los seres humanos y el acceso y disponibilidad a los alimentos, un derecho universal.

A lo largo de la cadena alimentaria, los alimentos, debido a sus características fisicoquímicas, favorecen el crecimiento microbiano patógeno o del deterioro. Según sus condiciones de producción, los alimentos están expuestos a la contaminación de múltiples peligros de origen físico, químico y/o biológico; estos últimos han sido más frecuentemente relacionados con brotes de enfermedades (principalmente bacterias) convirtiéndolos así en un vehículo de riesgo para la salud del consumidor, generando diferentes enfermedades catalogadas como un importante problema de salud pública alrededor del mundo, principalmente en países en vías de desarrollo, debido a su alta incidencia, mortalidad y repercusiones negativas para los sectores económico y productivo.

B. cereus es considerada una bacteria patógena de incidencia importante alrededor del mundo en enfermedades a través del consumo de alimentos contaminados con sus formas vegetativas o esporas, afectando principalmente el sistema gastrointestinal. Estos microorganismos y sus esporas al encontrarse de manera ubicua en la naturaleza y ser capaces de tolerar diferentes condiciones fisicoquímicas para su crecimiento genera una elevada probabilidad de contaminar los alimentos en cualquier fase de la cadena alimentaria, es decir, desde la producción primaria hasta la manipulación, conservación y preparación previa a su consumo, comprometiendo la salud de los consumidores.

A fin de minimizar y controlar la presencia de los diferentes agentes productores de enfermedades a través de los alimentos, incluyendo *B. cereus* y que éstos se constituyan en un riesgo para la salud del consumidor, se hace necesario el trabajo conjunto de diferentes entidades sociales que involucren a organizaciones internacionales, autoridades sanitarias gubernamentales, la academia, productores primarios e industria alimentaria, los cuales han propuesto y desarrollado de manera global diferentes estrategias y acciones en materia de higiene a lo largo de la cadena alimentaria como son las buenas prácticas agrícolas, pecuarias, pesca y acuícolas, buenas prácticas de manufactura, así como sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control, análisis y evaluación de riesgos, además del desarrollo de métodos analíticos alternativos rápidos y robustos en la detección en alimentos, criterios microbiológicos rigurosos en los alimentos más frecuente relacionados con la contaminación y brotes de enfermedades y finalmente programas educativos dirigidos a la población general de un enfoque higiénico-sanitario acerca de la preparación y conservación de alimentos en el hogar afín de asegurar la disponibilidad de alimentos seguros de calidad nutricional e inocuos en todas las fases de la cadena alimentaria.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan no tener ningún conflicto de interés en el desarrollo y publicación del presente documento.

Referencias bibliográficas

1. Alerte V, Cortés S, Díaz J, Vollaire J, Espinoza M, Eugenia M, Torres M. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). *Revista Chilena de Infectología*. 2012; 29: 26-31.
2. De la Fuente SNM, Corona JEB. Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta Universitaria*. 2010; 20: 43-52.
3. Flórez AC, Rincón C, Garzón P, Vargas N, Enríquez C. Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. *Infectio*. 2011; 12: 255-266.
4. Olea A, Díaz J, Fuentes R, Vaquero A, García M. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Revista Chilena de Infectología*. 2012; 29: 504-510.

5. Jorquera D, Galarce N, Borie C. El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista Chilena de Infectología*. 2015; 32: 678-688.
6. Palomino CC, González MY. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2014; 31: 535-546.
7. Soto VZ, Pérez LL, Estrada AD. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*. 2016; 32: 105-122.
8. Muñoz EAF. Generalidades de las intoxicaciones, infecciones y toxiinfecciones producidas por alimentos contaminados en Costa Rica. Contexto actual e impacto socioeconómico en la nación, a propósito de un Estudio de Caso y Consultoría internacional. *Salud Pública y Epidemiología*. *Revista Científica Médica OMNIA*. 2015; 1: 12-22.
9. Piqueras MM. Actualización en higiene alimentaria, manipulación, toxiinfecciones alimentarias y etiquetado de alimentos. 1ra edición, 3 Ciencias. Área de innovación y desarrollo: Alcoy, Alicante; 2016. S.L. <https://www.3ciencias.com/libros/libro/actualizacion-higiene-alimentaria-manipulacion-toxiinfecciones-alimentarias-etiquetado-alimentos/> Fecha de consulta: 10 de septiembre de 2017.
10. Cecilia HC, Guadalupe AAM, Graciela CE. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2011; 31: 137.
11. Luigi T, Rojas L, Valbuena O. Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*. 2013; 17: 25-33.
12. Koneman EW, Winn WC, Janda WM, Wodds GL, Procop WG, Schereckenberger PC, Koneman AS. Diagnóstico Microbiológico/Microbiological diagnosis: Texto y Atlas En Color/ Text and Color Atlas. 6ta edición. Buenos Aires, Argentina: Ed. Médica Panamericana; 2008. 1691 Pp.
13. Tejera HB, Rojas B, Marcia M, Heydrich PM. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 2011; 42: 131-138.
14. Nitschke M, Costa SGVAO. Biosurfactants in food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 2007; 18: 252-259.
15. Kim PI, Ryu J, Kim YH, Chi YT. Production of biosurfactant lipopeptides Iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. *J Microbiol Biotechnol*. 2010; 20: 138-145.
16. Gharaei FE. Biosurfactants in pharmaceutical industry: a mini-review. *American Journal of Drug Discovery and Development*. 2011; 1: 58-69.
17. Jacques P. Surfactin and Other Lipopeptides from *Bacillus* spp. En: Soberón-Chávez G. (Ed.). *Biosurfactants*. Heidelberg: Springer; 2011. 57-91 Pp.

18. Al-Wahaibi Y, Joshi S, Al-Bahry S, Elshafie A, Al-Bemani A, Shibulal B. Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* B30 and its application in enhancing oil recovery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014; 114:324-333.
19. Bhunia AK. *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. In *Foodborne Microbial Pathogens* (pp. 193-207). Springer, New York, NY; 2008.
20. Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010; 23: 382-398.
21. Logan NA. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of Applied Microbiology*. 2011; 11: 417-429.
22. Pérez PI. *Bacillus cereus* y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2012; 38:98-108.
23. Sánchez J, Correa M, Castañeda-Sandoval LM. *Bacillus cereus* an important pathogen the microbiological control of food. *Rev Fac Nac Salud Pública*. 2016; 34: 230-242.
24. Byrne B, Dunne G, Bolton DJ. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food microbiology*. 2006; 23: 803-808.
25. Punil R, Sandoval GA. Análisis bioinformático de la endolisina LysB4: Un agente antimicrobiano utilizado en el biocontrol de *Bacillus cereus* en alimentos. *Ágora Revista Científica*. 2017; 3: 375-80.
26. Rojas J., Rodríguez-Rodríguez CE, Pérez C, Chaves C, Arias ML. Detection of toxigenic genes *nheA*, *nheB* and *nheC* in *Bacillus cereus* strains isolated from powdered milk samples in Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2014; 64(3):192-197.
27. Pérez-Portuondo I, Orberá-Ratón T., y Tamayo-Núñez JL. Aislamiento e identificación de *Bacillus cereus* a partir de dos variantes de arroz comercial (*Oryza sativa* L.). *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 2011; 42(3):139-144.
28. Quintanilha-Chaves J, Soares-Pires E, Vivoni A. Genetic diversity, antimicrobial resistance and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from food in Brazil over three decades. *International Journal of Food Microbiology*. 2011; 147(1):12-16.
29. Barreto Argilagos G, Sedrés Cabrera M, Rodríguez Torrens H, y Guevara Viera G. Agentes bacterianos asociados a brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en Camagüey, Cuba, durante el período 2000-2008. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. 2010; 11(3): 1-16.
30. Gould LH, Walsh KA, Vieira AR, Herman K, Williams IT, Hall AJ, Cole D. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 1998-2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries*. 2013; 62(2):1-34.

31. Bennett SD, Walsh KA, Gould LH. Foodborne disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*—United States, 1998–2008. *Clinical Infectious Diseases*. 2013; 57(3):425-433. doi: 10.1093/cid/cit244
32. Vanegas M, Correa N, Morales A, Martínez A, Rúgeles L, Jiménez F. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. *Revista MVZ Córdoba*. 2009; 14(2):1677-1683.
33. Castaño HI, Ciro G, Zapata JE, Jiménez SL. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *Vitae*. 2010; 17(2):149-154.
34. Hernández-Ochoa L, Gonzales-Gonzales A, Gutiérrez-Méndez N, Muñoz-Castellanos LN, Quintero RA. Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2011; 10(3) 455-463.
35. Rodríguez-Sauceda EN. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 2011; 7(1): 153-170.
36. Morata BA. Nuevas tecnologías de conservación de alimentos. Segunda edición. Madrid, España: Antonio Madrid Vicente Ediciones. 2010; 336 Pp.
37. OMS, Organización Mundial de la Salud Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. 2007; ISBN 978 92 4 359463 7 [En línea]. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf Fecha de consulta: 07 de julio de 2017.
38. Dhama K, Rajagunalan S, Chakraborty S, Verma AK, Kumar A, Tiwari R, Kapoor S. Food-borne pathogens of animal origin—diagnosis, prevention, control and their zoonotic significance: a review. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013; 16(20): 1076-1085.
39. Soni A, Oey I, Silcock P, Bremer P. *Bacillus* Spores in the Food Industry: A Review on Resistance and Response to Novel Inactivation Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016; 15:1139-1148.
40. Elika, Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria (2015). *Bacillus cereus*. [En línea]. Disponible en: http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento151/8Bacillus_act2015.pdf. Fecha de consulta: 10-08-2017.
41. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana. NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. 2010. Disponible en: <http://www.economia-noms.gob.mx/noms/inicio.do>. Fecha de consulta: 20 de junio de 2017.
42. Ministerio de salud Resolución Ministerial No. 591-2008/MINSA. República del Perú. [En línea]. Disponible en: <ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2008/RM591-2008.pdf> Fecha de consulta: 10 de julio de 2017.

43. CE, Comunidad Europea (2005). Reglamento (CE) no 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (DO L 338 de 22.12.2005, p. 1). [En línea]. Disponible en: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20100519:ES:PDF>. Fecha de consulta: 09 de julio de 2017.
44. Bou, G., Fernández Olmos, A., García, C., Sáez Nieto, J. A., and Valdezate, S. (2011). Bacterial identification methods in the microbiology laboratory. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 29, 601-608.
45. Tallent Sandra, M., Rhodehamel, E., Jeffery, Harmon Stanley, M., and Bennett Reginald W. (2012). *Bacillus cereus*. *Bacteriological Analytical Manual*. Chapter 14. [En línea]. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070875.htm>. Fecha de consulta: 15 de julio de 2017.
46. ISO, International Organization for Standardization (2004). 7932: 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*. Colony - count technique at 30°C. Third edition, 2004-06-15.
47. ISO, International Organization for Standardization (2006). 21871. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive *Bacillus cereus*. Most probable number technique and detection method. First edition 2006-01-15.
48. ISO, International Organization for Standardization (1999). 6887 – 1. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. First edition, 1999-02-15.
49. ANMAT. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (2013). Red nacional de laboratorios oficiales de análisis de alimentos. Ministerio de salud. Presidencia de la nación. Argentina. Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología analítica oficial. Microorganismos patógenos. Volumen 2. Pp.141. [En línea]. Fecha de consulta: 20-08-2017. http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_II.pdf
50. Foster AG. Rapid Identification of Microbes in Positive Blood Cultures by Use of the Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry System). *Journal of Clinical Microbiology*. 2013; 51(11): 3717-3719.
51. Jung-Beom K, Kim J, Seung-Hak C, Hyuk-Soo O, Na Jung C, Deog- Hwan O. Toxin Genes Profiles and Toxin Production Ability of *Bacillus cereus* Isolated from Clinical and Food Samples. *Journal of Food Science*. 2011; 76(1): T25-T29. DOI:10.1111/j.1750-3841.2010.01958.x
52. De Souza Cyllene de Matos Ornelas da Cunha C., and Abrantes Shirley de Mello P. Detection of enterotoxins produced by *B. cereus* through PCR analysis of ground and roasted coffee samples in Rio de Janeiro, Brazil. *Food Science and Technology*. 2011; 31(2): 443-449.

53. Coto R, Chaves C, Gamboa MM, Arias ML. Calidad bacteriológica y detección de *Bacillus cereus* toxigénicos en arroz blanco cocido expandido en el área metropolitana de la provincia de San José, Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2012; 62(3):283-289.
54. Dzieciol M, Zimmermann M, Wagner M, Hein I, Ehling-Schulz M. A novel diagnostic real-time PCR assay for quantification and differentiation of emetic and non-emetic *Bacillus cereus*. *Food Control*, 2013; 32(1):176-185. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.11.010
55. Tsilia V, Devreese B, de Baenst I, Mesuere B, Rajkovic A, Uyttendaele M, et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry for the detection of enterotoxins produced by pathogenic strains of the *Bacillus cereus* group. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012; 404(6-7):1691-1702. doi: 10.1007/s00216-012-6254-6.
56. Fernández-No IC, Böhme K, Díaz-Bao M, Cepeda A, Barros-Velázquez J, Calomata P. Characterization and profiling of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus licheniformis* by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Food Microbiology*. 2013; 33(2) 235-242. doi: 10.1016/j.fm.2012.09.022.
57. Nilsson J, Svensson B, Ekelund K, Christiansson A. A RAPD-PCR method for large-scale typing of *Bacillus cereus*. *Letters in Applied Microbiology*. 1998; 27(3), 168-172.
58. Lee J, Kwon GH, Park JY, Park CS, Kwon DY, Lim J. et al. A RAPD-PCR method for the rapid detection of *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2011; 21(3):274-276.
59. Oh MH, Ham JS, Cox JM. Diversity and toxigenicity among members of the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology*. 2012; 152(1-2): 1-8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.018.
60. Drobniowski FA. *Bacillus cereus* and related species. *Clinical Microbiology Reviews*. 1993; 6(4):324-338.

Dirección autores

Alejandro De Jesús Cortés-Sánchez

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Unidad Nayarit (UNCIBNOR+). Nayarit, México.
alecortes_1@hotmail.com

Mayra Díaz-Ramírez

Departamento de Ciencias de la Alimentación. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Lerma de Villada, Estado de México. México.

Cynthia Alejandra Guzmán-Medina

Secretaría de Salud (SSA). Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Tlalpan, Ciudad de México, México.