

Bacillus cereus: ALIMENTOS, SALUD Y BIOTECNOLOGÍA

Bacillus cereus: FOOD, HEALTH AND BIOTECHNOLOGY

Cortés-Sánchez, A. de J.^{1*}; Díaz-Ramírez, M.²; Salgado-Cruz, M. de la P.³

¹CONACYT-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. Unidad Nayarit. Tepic, Nayarit. México. ²Departamento de Ciencias de la Alimentación. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma. Av. Hidalgo Poniente 46, Col. La Estación, Lerma de Villada, Estado de México. 52006. México. ³Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Benito Juárez, México, D.F., 03940, México.

*Autor de correspondencia: alecortes_1@hotmail.com

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son un tema de salud pública importante a nivel mundial debido a su incidencia, graves secuelas y mortalidad. Las ETA presentan diferentes agentes causales; entre ellos, los de origen biológico como virus, hongos, bacterias y parásitos. *Bacillus cereus* es considerado un patógeno oportunista y productor de toxiinfecciones alimentarias. La carne, verduras cocidas, arroz, sopas, leche, quesos y brotes de vegetales crudos son los alimentos generalmente involucrados en su incidencia. Este artículo muestra una perspectiva general de las ETA, en específico de aquellas que tienen como agente causal a *B. cereus*. Se incluye su bioquímica y metabolismo, así como algunas alternativas biotecnológicas de prevención y control de contaminación en alimentos.

Palabras clave: biosurfactantes, bioconservación, inocuidad alimentaria.

ABSTRACT

Foodborne diseases (FDs) are an important public health issue at the global level due to their incidence, serious sequels and mortality. FDs present different causal agents, among them those of biological origin such as viruses, fungi, bacteria and parasites. *Bacillus cereus* is considered an opportunistic pathogen and producer of food poisoning. Meat, cooked vegetables, rice, soups, milk, cheese and raw vegetable sprouts are the foods generally involved in its incidence. This article shows a general perspective of the FDs, specifically of those that have *B. cereus* as causal agent. Their biochemistry and metabolism is included, as well as some biotechnological alternatives for prevention and contamination control in foods.

Keywords: biosurfactants, bioconservation, food innocuousness.



Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 10, octubre. 2017, pp. 3-9.

Recibido: agosto, 2017. **Aceptado:** octubre, 2017.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son consideradas un tema de salud pública importante a nivel mundial, debido a su incidencia, mortalidad, nuevas formas de transmisión, grupos poblacionales vulnerables, aumento de la resistencia de agentes causales a compuestos antimicrobianos, así como por los efectos negativos en la economía por costos en servicios de salud, productividad, demandas y confianza de los consumidores (Badui, 2015). Las ETA se originan por el consumo de agua y alimentos contaminados con agentes nocivos que afectan la salud del consumidor y tienen alrededor de 250 agentes causales entre los que se encuentran bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales, siendo las de mayor frecuencia las originadas por bacterias, tales como *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, entre otras (Puig et al., 2013).

Las ETA se clasifican en: a) infecciones alimentarias causadas por el consumo de alimentos que contienen microorganismos patógenos que generan la invasión, multiplicación y alteración de los tejidos del huésped, como por ejemplo la salmonelosis y listeriosis; b) intoxicaciones por consumir alimentos que contienen un compuesto químico, metal o toxina de origen vegetal, animal o microbiano (botulismo, toxinas fúngicas, toxinas marinas, estafilocócica); y c) toxiinfecciones en las que los alimentos contaminados con microorganismos patógenos no invasivos, al ser consumidos, se producen o liberan toxinas durante el desarrollo del microorganismo en el sistema gastrointestinal, ejemplos de ellos son *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* y *Vibrio Cholerae* (Muñoz, 2014). El género *Bacillus* pertenece a la familia Bacillaceae, en la cual se han descrito más de 50 especies; la mayor parte de estos microorganismos son saprofitos y se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente como en el suelo, agua dulce y salada, alimentos, materia vegetal y tracto gastrointestinal de los animales. Desde el punto de vista clínico, con mayor importancia para el hombre se encuentran *B. anthracis* agente causal de carbunco y *B. cereus* productor de intoxicaciones e infecciones clínicas, tales como la bacteremia, septicemia, infecciones del sistema nervioso, sistema respiratorio, meningitis, endocarditis, pericarditis, abscesos, infecciones oculares, entre otras. Además, enfermedades originadas por otras especies no están exentas, ya que *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. macerans*, entre otros, pueden actuar como patógenos oportunistas. Los miembros del género se caracterizan por ser bacilos cuyas células vegetativas presentan un intervalo de tamaño de 0.5×1.2 a $2.5 \times 10 \mu\text{m}$ de diámetro, son móviles debido a flagelos peritricos, aerobios y anaerobios facultativos, gram positivos, catalasa positiva, de hemólisis variable y crecimiento óptimo a pH entre 5.5-8.5 presentan un contenido de G+C de 33-69 mol %, acidofilia, alcalofilia, psicofilia y termofilia. Son capaces de producir endosporas (formas de resistencia a condiciones ambientales o nutricionales adversas), mientras que en agar sangre, producen colonias blanquecinas, grandes, extendidas e irregulares (Tejera et al., 2011; Brooks et al., 2011; Layton et al., 2011). Bajo estudios moleculares de RNAr 16S, el género *Bacillus* se ha subdividido en cuatro grupos: 1) *Bacillus* sensu estricto, en el cual se incluye *B. subtilis* entre otras 27 especies; 2) *Sensu lato*, que agrupa bacilos formadores de esporas redondeadas, desta-

cando especies como *B. cereus*, *B. thuringiensis* y *B. anthracis*; 3) constituido por 10 representantes, dentro de los que se encuentra *B. polymyxa* y *B. macerans*, los cuales se han reclasificado en un nuevo género, *Paenibacillus*; y 4) que son especies que han sido reclasificadas en dos nuevos géneros *Aneuribacillus* y *Brevibacillus* además de que se ha nombrado como nuevo género a *Virgibacillus*, en el que se ubicó la especie *B. panthotenicus* (Tejera et al., 2011). Estas especies también pueden diferenciarse a través de pruebas fenotípicas, como actividad hemolítica, movilidad, metabolismo de manitol, entre otras (Koneman et al., 2008; Sánchez et al., 2016).

Diferentes especies presentan utilidad para el ser humano, pues son utilizadas como indicadores de desinfección o esterilización; asimismo, son capaces de producir antibióticos, vitaminas, enzimas, intervenir en la solubilización de fosfatos, fijación biológica del nitrógeno, o pueden ser productoras de compuestos anfipáticos denominados biosurfactantes, los cuales han mostrado propiedades fisicoquímicas y biológicas de interés en diversas áreas industriales, tales como la farmacéutica, alimentos y ambiental, entre otras (Kim et al., 2010; Gharaei-Fathabad, 2011; Jacques, 2011).

Bacillus cereus

Es un bacilo de $1-1.2 \mu\text{m}$ de diámetro $\times 3-5 \mu\text{m}$ de largo, Gram positivo, móvil (flagelos peritricos), anaerobio facultativo que puede crecer en un intervalo de pH de 4.9-9.3, actividad de agua mínima de 0.93, temperatura de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ a $48 \text{ }^\circ\text{C}$ y concentraciones de NaCl hasta de 7 %. Es capaz de formar esporas, las cuales son resistentes a

Cuadro 1. Características metabólicas de identificación en el laboratorio entre especies del género *Bacillus* spp.

Análisis	<i>B. cereus</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. mycooides</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.

baja humedad, altas temperaturas, deshidratación, radiación y acidez. *B. cereus* es un habitante habitual saprofito de suelo, agua, vegetación y aire, que es de interés en salud pública por ser considerado un patógeno oportunista productor de toxi-infecciones alimentarias, por consumir carne, verduras cocidas, arroz, crema de vainilla, sopas, leche, quesos y brotes de vegetales crudos los involucrados en estas enfermedades (Figura 1) (Manzo *et al.*, 2005; Pérez, 2012; Tejeda *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2016). Se estima que *B. cereus* afecta de manera negativa la salud por la producción de toxinas al consumir alimentos contaminados con inóculos de 10^5 a 10^8 UFC/g (Coto *et al.*, 2012).

Este microorganismo presenta diferentes factores de virulencia para generar enfermedades, como es la presencia de un polipéptido cíclico hidrofóbico menor a 10 kDa termoestable

(hasta 126 °C durante 90 minutos), resistente a pH entre 2 y 11 y a la actividad proteolítica de enzimas digestivas, conocido como toxina emética o cereulida (Drobniowski,



Figura 1. Arroz y leche alimentos comúnmente implicados en enfermedades por *B. cereus*.

1993; Pérez, 2012; Sánchez *et al.*, 2016). Esta toxina es sintetizada a inicio de la fase estacionaria; está codificada en un operon de un plásmido de 208 Kb que consta de los genes, *cesH*, *cesP*, *cesT*, *cesA*, *cesB*, *cesC* y *cesD*, además de estar asociada a la esporulación. Al ser ingerida puede causar náuseas y vómitos al unirse a receptores estomacales 5-HT₃; además, puede afectar la fosforilación oxidativa en mitocondrias de hepatocitos así como los gradientes de concentración de iones potasio transmembranal para el funcionamiento celular normal (Sánchez *et al.*, 2016). *B. cereus*, cuya expresión está regulada por una proteína pleotrópica (PlcR), produce cromosomalmente cinco enterotoxinas; posteriormente a la colonización de intestino delgado, estas originan poros en las membranas de células epiteliales, dando lugar a un desequilibrio osmótico que provoca diarrea. Las enterotoxinas son: a) la hemolisina

(HBL), constituida por tres componentes proteicos uno de unión B y dos líticos L₁ y L₂, y codificada por el operon hblCDA (*hblA*, *hblD* y *hblC*, respectivamente); b) enterotoxina no hemolítica (NHE) en un grupo de tres proteínas NheA, NheB, y NheC, codificadas por los genes *nheA*, *nheB*, y *nheC*, respectivamente; c) citotoxina K (*CytK*), la cual es citotóxica y necrotizante y tiene actividad sobre membrana de células epiteliales generando poros en esta; d) enterotoxina FM (EntFM) codificada en el gen *entFM* se ha localizado en cepas implicadas en brotes diarreicos; y e) enterotoxina T o (EntT) (Pérez *et al.*, 2012; Sánchez *et al.*, 2016). Además, produce dos lipasas como la fosfatidilcolina, fosfatidilinositol hidrolasa y esfingomielinasa (Drobniewski, 1993; Pérez *et al.*, 2011; Pérez, 2012).

Bacillus cereus da lugar a dos formas clínicas de enfermedad a través del consumo de alimentos contaminados; una es el síndrome emético causado por el consumo de la toxina emética producida durante el crecimiento de la bacteria sobre el alimento y la segunda el síndrome diarreico producido por toxinas diarreicas (HBL, NHE y citotoxina K) producidas por la bacteria durante el crecimiento de las formas vegetativas en el intestino o posterior a la germinación de las esporas (Manzo *et al.*, 2005; Wijnands *et al.*, 2009; Pérez, 2012). A pesar de la potencialidad de cepas de *B. cereus* para generar enfermedad, la gravedad de la misma dependerá de la cantidad de toxina producida, la cual a su vez está asociada a factores como la composición del alimento, pH, aireación y concentración de determinados carbohidratos, así como a la condición inmunológica del individuo afectado (Pérez *et al.*, 2012). Los reportes de ETA en México, cuyo agente causal es *B. cereus*, no son de carácter obligatorio y prácticamente no hay estudios acerca de estas enfermedades, debido posiblemente a la baja mortalidad y autolimitación, y a que la sintomatología de sus padecimientos se asemejan a los generados por *S. aureus* y *Clostridium perfringens* (Coto *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 2012; Tejeda *et al.*, 2013).

Estudios realizados en el país de Cuba reportan que *B. cereus* estuvo implicado en un brote de ETA en la Habana en el período 2006-2010, correspondiente a 1.3 % de los agentes causales (Puig *et al.*, 2013). En Estados Unidos de América las enfermedades esporádicas ocasionadas por *B. cereus*, *C. perfringens* y *S. aureus* no son reportadas. Sin embargo, un estudio realizado en el período 1998-2008 reportó que hubo 13,405 brotes en total, de los cuales 1, 229 fueron originados por alguno de los

siguientes patógenos, *C. perfringens* (44 %, n=536 brotes), seguido de *S. aureus* (37 %, n=458) y de *B. cereus* (19 %, n=235) (Bennet *et al.*, 2013). Además, en países de Europa como España, a través de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica se reportó que del período 2004-2007 ocurrieron 20 brotes de ETA, cuyo agente causal fue *B. cereus*, correspondiente a 0.6 % del total de 3511 brotes, siendo los huevos y ovoproductos los alimentos más implicados con 31.5 % (Martínez, 2008).

Prevención

Los alimentos son un vehículo de transmisión de enfermedades generadas por agentes biológicos, debido a que se puede contaminar con el aire, agua, suelo, animales, utensilios, el hombre, durante la producción primaria, elaboración, transporte, almacenamiento, y distribución. El control de *B. cereus* es complicado por su capacidad de generar esporas y sobrevivir a diferentes condiciones adversas, además de su habilidad de generar biopelículas en sistemas y equipos hidráulicos. La contaminación de los alimentos por *B. cereus* y toxinas involucra temperaturas de cocción inadecuadas, equipos contaminados, higiene deficiente en el sitio de elaboración y conservación de alimentos antes de su consumo (Sánchez *et al.*, 2016; Manzo *et al.*, 2005), por lo que es necesario implementar acciones de control y prevención en toda la cadena alimentaria basadas en buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de higiene en la manipulación, elaboración y conservación de alimentos, así como sistemas de control, análisis de peligros y puntos críticos de control (Elika, 2015; OMS, 2007). En Europa se han establecido criterios microbiológicos normativos referentes a este microorganismo aplicables a los productos alimenticios de alto riesgo con sus posteriores modificaciones para la industria alimentaria, con la finalidad de asegurar la inocuidad del alimento; tal es el caso del Reglamento (CE) 2073/2005, de la comisión de las comunidades europeas del 15 de noviembre de 2005 para preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados dirigidos a usos médicos especiales para lactantes menores de seis meses, donde menciona que el límite permisible es de 50-500 UFC/g en el alimento en la fase final del proceso de fabricación, siendo las acciones de mejora, la higiene de la producción, prevención de la recontaminación y selección de las materias primas en caso de que el producto no cumpla con el límite permisible (Elika, 2015; Reglamento, 2005), mientras que en países latinoamericanos como el Perú, a través de la resolución ministerial del año 2008 (N° 615-2003 SA/DM), se aprobaron los criterios microbiológicos de

calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano donde se incluyen para *B. cereus* en productos alimenticios deshidratados: liofilizados, concentrados y mezclas un límite de 100 a 1000 UFC/g (Resolución ministerial, 2008), mientras que en México en materia de higiene e inocuidad en la producción de alimentos se ha implementado de manera obligatoria la norma oficial mexicana NOM-251-SSA1-2009, referente a las prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios destinados a los consumidores en el territorio nacional y que involucra la aplicación de un sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP), afín de garantizar la inocuidad en la industria alimentaria y evitar riesgos a la salud de la población.

Controles biotecnológicos para *B. cereus*

La bioconservación es una alternativa biotecnológica de conservación y prevención de enfermedades alimentarias por *B. cereus* y otros microorganismos que ha adquirido relevancia en los últimos años y se define como el uso de microorganismos o de sus metabolitos generados (ácido láctico, ácido acético, etanol, diacetilo, peróxido de hidrógeno, 2-3 butanodiol, péptidos, bacteriocinas entre otros) para inhibir o destruir microorganismos indeseables en alimentos, siendo incluso algunos de estos metabolitos de origen proteico considerados como alternativa para combatir el fenómeno de resistencia a los antimicrobianos, debido al uso indiscriminado en el área clínica y agropecuaria (Ramírez *et al.*, 2011; Rojas y Vargas, 2008; Tonarelli y Simonetta, 2013).

Las bacteriocinas constituyen un conjunto diverso de péptidos ribosomales elongados o globulares generados por microorganismos como las BAL (bacterias ácido lácticas) y que son comúnmente reconocidos como seguros; han tomado relevancia en los últimos años como relevo de diversas sustancias utilizadas en el proceso de conservación de alimentos, ya que al ser purificadas, semi purificadas o bien incorporar la cepa productora (fermentación) al producto puede reducir o eliminar diferentes microorganismos que van desde los responsables del deterioro hasta diversos patógenos (Rojas y Vargas, 2008). Un ejemplo del uso de bacteriocinas enfocadas para el control antimicrobiano de *B. cereus* es el que se realizó en el arroz almacenado (*Oryza sativa* L.), donde la bacteriocina denominada enterocina AS-48 producida por *Enterococcus* ssp., al adicionarse (20-35 $\mu\text{g mL}^{-1}$), presentó un efecto antimicrobiano y de control para *B. cereus* a diferentes temperaturas (37 °C, 15 °C y 6 °C), ya

que los recuentos de células viables disminuyeron durante el tiempo de incubación, dependiendo de la concentración de bacteriocina, temperatura de incubación y la muestra de alimento. La producción de enterotoxina a 37 °C fue inhibida, mientras que la sensibilidad al calor por parte de las endosporas aumentó en las muestras adicionadas con enterocina, consiguiendo la inactivación de endosporas mediante un calentamiento durante 1 minuto a 90 °C en arroz hervido y 95 °C en papilla a base de arroz (Grande *et al.*, 2006).

Los biosurfactantes (BS), producidos por hongos, levaduras y bacterias, generalmente como metabolitos secundarios extracelulares, presentan propiedades, tales como la capacidad emulsionante, baja toxicidad, alta biodegradabilidad, alta capacidad espumante, actividad biológica (antimicrobiana, antitumoral e inmunomoduladora), estabilidad a condiciones de temperatura, pH y salinidad, que han despertado el interés de su utilidad en diversas industrias (alimentos, farmacéutica, medio ambiente, petróleo entre otras) (Nitschke y Costa, 2007; Saharan *et al.*, 2011; Mora *et al.*, 2005). En el aspecto de higiene e inocuidad en los alimentos los BS despiertan el interés en cuanto a su utilidad como antimicrobiano y anti adhesivo sobre *B. cereus* y otros patógenos de interés en la industria de alimentos que son capaces de generar biopelículas y, por ende, ser una fuente de contaminación (Vanegas *et al.*, 2009). Las biopelículas constituyen un mecanismo de supervivencia microbiana en el medio ambiente y de mayor resistencia a los antimicrobianos en comparación con las células planctónicas, provocando que su eliminación en el ámbito de los alimentos sea un desafío (Simoes *et al.*, 2010). En este aspecto los BS han dado resultados alentadores al ser probados a través de diversas investigaciones en su actividad antimicrobiana y antiadhesiva, evitando la formación de biopelículas de diversos microorganismos patógenos, incluyendo especies del género *Bacillus* sp.; tal es el caso de soforolipidos de *Candida bombicola* que presentaron un efecto bactericida a concentraciones de 5 % en *Cupriavidus necator* y *Bacillus subtilis*, así como interrumpir la formación de biopelículas de *B. subtilis* y *Staphylococcus aureus* (De Rienzo *et al.*, 2015), mientras que Kiran *et al.* (2010) reportaron que un biosurfactante producido por *Brevibacterium casei* en cultivo sumergido presentó actividad bacteriostática e interrupción de biopelículas de diferentes patógenos como *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae* entre otros. *B. cereus* es un microorganismo causante de enfermedades transmitidas a través de los alimentos (ETA), las

cuales son consideradas un problema de salud pública importante alrededor del mundo debido a su incidencia y repercusiones negativas en aspectos económico-sociales. Estas se generan de dos formas clínicas; uno es el síndrome emético derivado del consumo de la toxina emética producida durante el crecimiento de la bacteria en el alimento y el síndrome diarreico producido por toxinas generadas durante su crecimiento en el intestino.

CONCLUSIONES

Para la prevención y control de *B. cereus* se han desarrollado e implementado diferentes acciones que involucran las buenas prácticas de manufactura, manipulación e higiene y sistemas de análisis de riesgos y control de puntos críticos a lo largo de la cadena de alimentaria, así como criterios microbiológicos de aceptación en alimentos. Además, se han propuesto diferentes alternativas biotecnológicas, como es el uso de diferentes compuestos obtenidos de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras), tales como los biosurfactantes y/o bacteriocinas, para la conservación del alimento y la prevención de enfermedades derivadas de su consumo, a fin de salvaguardar la salud de la población.

LITERATURA CITADA

- Badui D.S. 2015. Inocuidad en la industria alimentaria. Industria Alimentaria 14-26.
- Brooks G.F., Carroll K.C., Butel S.J., Morse A. S., Mietzner T. A. 2011. Jawetz, Melnick y Adelberg: Microbiología Médica. McGraw Hill Interamericana editores. 820 p.
- Bennett S.D., Walsh K.A., Gould L.H. 2013. Foodborne disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*-United States, 1998-2008. Clinical Infectious Diseases 57:425-433.
- Coto R., Chaves C., Gamboa M. del M., Arias M.L. 2012. Calidad bacteriológica y detección de *Bacillus cereus* toxigénicos en arroz blanco cocido expendido en el área metropolitana de la provincia de San José, Costa Rica. Archivos latinoamericanos de nutrición 62:283-289.
- De Rienzo M. A. D., Banat I. M., Dolman B., Winterburn J., Martin P. J. 2015. Sophorolipid biosurfactants: possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. New biotechnology 32: 720-726.
- Drobniowski F. A. 1993. *Bacillus cereus* and related species. Clinical microbiology reviews 6: 324-338.
- ELIKA. 2015. Fundación vasca para la seguridad alimentaria. *Bacillus cereus*. http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento151/8Bacillus_act2015.pdf
- Gharaei-Fathabad E. 2011. Biosurfactants in pharmaceutical industry: a mini-review. American Journal of Drug Discovery and Development 1: 58-69.
- Grande M. J., Lucas R., Abriouel H., Valdivia E., Omar N. B., Maqueda M., Martínez-Bueno M., Martínez-Cañamero M., Gálvez A. 2006. Inhibition of toxicogenic *Bacillus cereus* in rice-based foods by enterocin AS-48. International Journal of Food Microbiology 106:185-94.
- Jacques P. 2011. Surfactin and other lipopeptides from *Bacillus* spp. In Biosurfactants Springer Berlin Heidelberg. 57-91.
- Kim P. I., Ryu J., Kim Y. H., Chi Y. T. 2010. Production of biosurfactant lipopeptides Iturin A, fengycin and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 138-145.
- Kiran G.S., Sabarathnam B., Selvin J. 2010. Biofilm disruption potential of a glycolipid biosurfactant from marine *Brevibacterium casei*. FEMS Immunology & Medical Microbiology 59: 432-438.
- Koneman Elmer W., Winn Washington C., Janda William M., Wodds Gail, L., Procop, W. Gary, Schereckenberger Paul, C. Allen Stephen. 2008. Koneman. Diagnóstico Microbiológico: Texto Y Atlas En Color. 6ta edición, Ed. Médica Panamericana, - 1691 p.
- Layton C., Maldonado E., Monroy L.C., Corrales L., Sánchez C.L. 2011. *Bacillus* spp. perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. NOVA - Publicación Científica en ciencias biomédicas 113 - 214.
- Manzo S.A., Natividad R.D.L., Quiñónez R.E. I., Vázquez S.C. 2005. *Bacillus cereus*: peligro bajo el tenedor. Revista Digital Universitaria. 6:4.
- Martínez E.V., Varela M.C., Cevallos C., Hernández-Pezzi G., Torres A., Ordóñez P. 2008. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. España, 2004-2007 (excluye brotes hídricos). Boletín epidemiológico semanal España. Ministerio de ciencia e innovación. Centro nacional de epidemiología. Semana: 48 del 23/11 al 29/11 de 2008. 16:21/241-252.
- Mora M.S., Bahsas A., Velásquez W., Rojas J.O. 2005. Caracterización de Biosurfactantes producidos por *Pseudomonas* Fluorescentes aisladas de emulsiones de petróleo pesado. Ciencia 13: 228-239.
- Muñoz Esquivel A.F. 2014. 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. Revista Científica Médica OMNIA.
- Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
- OMS 2007. Organización mundial de la salud. Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. ISBN 978 92 4 359463 7 http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf
- Pérez Portuondo I. 2012. *Bacillus cereus* and food poisoning. Revista Cubana de Salud Pública 38: 98-108.
- Pérez-Portuondo I., Orberá-Ratón T., Tamayo-Núñez J.L. 2011. Aislamiento e identificación de *Bacillus cereus* a partir de dos variantes de arroz comercial (*Oryza sativa* L.). Revista CENIC Ciencias Biológicas 42: 139-144.
- Puig P.Y., Leyva C.V., Robert M.B.A., Pérez Muñoz Y. 2013. Bacterial agents associated with outbreaks of food-borne diseases in Havana, 2006-2010. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología 51: 74-83.
- Ramírez J., Ulloa P.R., Velázquez M.Y., González J.A.U., Romero F.A. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Revista Fuente 2(7).
- 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). [http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20100519:ES: PDF](http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20100519:ES:PDF)
- Resolución Ministerial No. 591-2008/MINSA. República del Perú. Ministerio de salud. <ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2008/RM591-2008.pdf>
- Rojas C., Vargas P. 2008. Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria. *Tecnología en Marcha* 21-2: 9-16.
- Saharan B.S., Sahu R.K., Sharma D. 2011. A review on biosurfactants: fermentation, current developments and perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal* 1: 1-14.
- Sánchez J., Correa M., Castañeda-Sandoval L.M. 2016. *Bacillus cereus* an important pathogen the microbiological control of food. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 34(2): 230-242.
- Simões M., Simoes L. C., Vieira M. J. 2010. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology* 43: 573-583.
- Tejeda-Trujillo F., Villagrán-Padilla C.L., León-Tello G., Tejeda-Hernández M.A. 2013. Investigación de *Bacillus cereus* y calidad sanitaria de muestras de arroz cocido recolectadas en diferentes establecimientos de la ciudad de Puebla. *CienciaUAT* 8: 48-51.
- Tejera-Hernández B., Rojas-Badía M.M., Heydrich-Pérez M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 42: 131-138.
- Tonarelli G., Simonetta A. 2013. Péptidos antimicrobianos de organismos procariontes y eucariotas como agentes terapéuticos y conservantes de alimentos. *Revista FABICIB* 17: 137-177.
- Torrens H.R., Argilagos G.B., Cabrera M.S., Valdés J.B., Sáez S.M., Viera G.G. 2015. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 16: 1-27.
- Vanegas M., Correa N., Morales A., Martínez A., Rúgeles L., Jiménez F. 2009. Antibiotic resistance of bacteria isolated from biofilms in a food processing plant. *Revista MVZ Córdoba* 14:1677-1683.
- Wijnands L.M., Pielaat A., Dufrenne J.B., Zwietering M.H., van Leusden F.M. 2009. Modelling the number of viable vegetative cells of *Bacillus cereus* passing through the stomach. *Journal of Applied Microbiology* 106: 258-267.

