

## ***Cronobacter sakasaki* un peligro potencial para la salud proveniente de los alimentos**

### ***Cronobacter sakasaki* a potential health hazard in food**

CORTÉS-SÁNCHEZ, Alejandro De Jesús\*† & ESPINOSA-CHAURAND, Luis Daniel

Consejo Nacional De Ciencia y Tecnologia (CONACYT). Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, Unidad Nayarit (UNCIBNOR+). Calle dos No. 23. Cd. Del conocimiento. Av. Emilio M. Gonzalez. Cd. Industrial C.P. 63173. Tepic, Nayarit.Mexico.

ID 1° Autor: Alejandro De Jesús Cortés-Sánchez/ **ORC ID:** 0000-0002-1254-8941, **Researcher ID Thomson:** F-8844-2018, **PubMed ID:** alecortes

ID 1° Coautor: Luis Daniel Espinosa-Chaurand/ **ORC ID:** 0000-0002-0587-5549, **Researcher ID Thomson:** A-9763-2017, **PubMed ID:** ldespinosa, **CVU CONACYT-ID:** 160072.

Recibido Enero 05, 2018; Aceptado Marzo 05, 2018

#### **Resumen**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son consideradas tema de relevancia en salud pública global debido a la tasa de incidencia, mortalidad y secuelas negativas económico sociales. Algunas ETA presentan como agentes causales a hongos, virus, parásitos y bacterias; siendo estas últimas comúnmente asociadas a estos padecimientos. *Cronobacter sakasaki* es considerado un patógeno alimentario de graves daños a la salud incluso la muerte, principalmente en lactantes derivado del consumo de alimentos en polvo. Se han desarrollado diferentes estrategias de vigilancia, control y prevención involucrándose organizaciones internacionales, autoridades gubernamentales, industria de alimentos y consumidor alrededor del mundo a fin de reducir su incidencia y proteger la salud pública. La finalidad del presente documento es mostrar una perspectiva general de las enfermedades transmitidas por alimentos y específicamente, las derivadas por bacterias del género *Cronobacter* spp., como *C. sakasaki* abarcando desde sus características metabólicas, métodos para su detección en los alimentos, hasta la normatividad en control y prevención para la protección de la salud. Así mismo se muestra una potencial dualidad al reportarse en diversas investigaciones alrededor del mundo que más allá del carácter patógeno de estos microorganismos, algunos pueden mostrar potenciales aplicaciones biotecnológicas principalmente en el área ambiental e industria del petróleo.

***Cronobacter sakasaki*, alimentos, biosurfactantes.**

#### **Abstract**

Foodborne Diseases (FD) are considered a relevant issue in global public health due to the incidence rate, mortality and negative social economic consequences. Some FD present as causal agents to fungi, viruses, parasites and bacteria; being the latter commonly associated with these conditions. *Cronobacter sakasaki* is considered a foodborne pathogen of serious damage to health including death, mainly in infants derived from the consumption of powdered food. Different surveillance, control and prevention strategies have been developed involving international organizations, government authorities, food industry and consumers around the world in order to reduce their incidence and protect public health. The purpose of this document is to show a general perspective of foodborne diseases and specifically, those derived by bacteria of the genus *Cronobacter* spp., As *C. sakasaki* covering aspects from their metabolic characteristics, methods for their detection in foods, regulations in control and prevention for the protection of health. It also shows a potential duality to be reported in various research around the world that beyond the pathogenic nature of these microorganisms, some may show potential biotechnological applications mainly in the environmental area and oil industry.

***Cronobacter*, food safety, biosurfactants**

**Citación:** CORTÉS-SÁNCHEZ, Alejandro De Jesús & ESPINOSA-CHAURAND, Luis Daniel. *Cronobacter sakasaki* un peligro potencial para la salud proveniente de los alimentos. Revista de Aplicación Científica y Técnica. 2018, 4-11: 7-19.

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: alecortes\_1@hotmail.com )

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

### Los alimentos y su relación con la salud

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son aquellas que se generan como resultado del consumo de agua y alimentos contaminados con agentes de origen químico o biológico. Siendo originada la contaminación en los alimentos debido a procesos deficientes involucrados en la elaboración, manipulación, conservación, transporte, distribución o comercialización (Zamudio *et al.*, 2011). Estas enfermedades se clasifican en infecciones o intoxicaciones alimentarias y están consideradas un serio problema de salud pública alrededor del mundo debido a su alto índice de morbilidad y mortalidad además de los efectos negativos en el sector económico y servicios de salud (Zamudio *et al.*, 2011; Alerte *et al.*, 2012; López *et al.*, 2013).

Acorde a cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los casos de diarrea estimada en el mundo son alrededor de 1500 millones al año, derivado del consumo de alimentos y de agua contaminados; siendo los grupos poblacionales de bajos recursos económicos, niños, mujeres embarazadas y ancianos los más afectados (Alerte *et al.*, 2012; López *et al.*, 2013).

Se han identificado aproximadamente 250 agentes productores de enfermedades transmitidas por alimentos entre los que se encuentran incluidos bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales (Olea *et al.*, 2012).

Entre los agentes biológicos frecuentemente responsables se encuentran las bacterias como por ejemplo *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella spp.*, *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakasaki*, *Campylobacter jejuni* entre otros (Hernández *et al.*, 2011; Palomino *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2018).

Algunos de los factores que han propiciado un aumento en la incidencia de estas enfermedades en los últimos años son atribuidos a los actuales sistemas agropecuarios de producción de alimentos, la globalización, comercialización de alimentos y a modificaciones en los hábitos alimenticios.

La importancia e interés en temas de salud por estas enfermedades se ha incrementado, debido al surgimiento de nuevas formas de transmisión, grupos poblacionales vulnerables, y el aumento de la resistencia a los compuestos antimicrobianos por microorganismos causales (Palomino *et al.*, 2014).

La finalidad del presente documento es presentar una perspectiva de manera general de las enfermedades transmitidas por alimentos y en específico las derivadas de agentes biológicos como las bacterias *Cronobacter spp.*, en específico *C. sakasaki*; abarcando aspectos que van desde sus características metabólicas y de identificación pasando por los métodos comúnmente utilizados de detección en los alimentos, normatividad de control y prevención alrededor del mundo todo a favor de la protección a la salud de la población. Así mismo se muestra brevemente una reciente y potencial dualidad más allá del carácter patógeno de este género de bacterias al reportarse alrededor del mundo potenciales aplicaciones biotecnológicas en el área ambiental e industria del petróleo.

### Las enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo de bacterias bastante heterogéneo las cuales comparten diferentes características morfológicas y bioquímicas como es el presentar forma de bacilo, ser Gram negativos, aerobios, anaerobios facultativos, comúnmente de 1-3  $\mu\text{m}$  de largo por 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, no esporulados, generalmente móviles con flagelos peritricos, presentan pilis, producen oxidasa y catalasa, fermentan la glucosa con la consecuente producción de gas y ácido, reducen los nitratos a nitritos y presentan el antígeno somático "O" (Polisacáridos o proteínas de pared celular), "K" (polisacáridos de capsula) y antígeno "H" (proteínas de flagelo).

Se les denomina enterobacterias debido a que comúnmente se encuentran de manera saprofita en el aparato digestivo del hombre y animales, así como en el medio ambiente en suelo, agua y vegetación.

Algunos de los géneros integrantes de este grupo de microorganismos de mayor relevancia desde el punto de vista clínico son: *Escherichia spp.*, *Salmonella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Hafnia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*, entre otros esto debido a que son responsables de diversas infecciones en sistema nervioso central, tracto respiratorio, torrente sanguíneo, tracto urinario y sistema gastrointestinal (Romero, 2007; Puerta y Mateos, 2007).

### El género *Cronobacter spp.*

*Cronobacter spp.*, fue definido originalmente como *Enterobacter sakasaki*. Sin embargo, diversos estudios moleculares a través de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP por sus siglas en inglés), matrices fenotípicas, ribotificación, 16S rRNA secuenciación de genes y ADN-ADN de hibridación ha generado un cambio en la clasificación de *E. sakasaki* de esta manera la bacteria fue asignada en un nuevo género denominado *Cronobacter spp.*, constituido de 6 especies que incluyen a *Cronobacter sakasaki*, *Cronobacter malonicus*, *Cronobacter turicensis*, *Cronobacter muytjensii*, *C. dublinensis subsp. Dublinensis*, *C. dublinensis subsp. Lactaridi*, *C. dublinensis subsp. lausannensis* y *Cronobacter genomospecies I* todas ellas relacionadas en casos clínicos (Chen *et al.*, 2012; Saez *et al.*, 2012). El género *Cronobacter spp.*, pertenece a la familia de las enterobacterias y presenta forma de bacilo Gram negativo, aerobio facultativo, móvil, no forma esporas, sus colonias son rugosas o lisas de consistencia viscosa y presentan una pigmentación amarilla característica en agar soya tripticasa (Vanegas *et al.*, 2009; Lujan *et al.*, 2014; CDC, 2017). Estos microorganismos presentan un amplio rango de temperatura de crecimiento que van de los -5°C a los 47°C siendo la óptima entre los 37°C y 39°C, pueden presentar tolerancia a condiciones de desecación, adherencia a material inerte (látex, silicón, poli estireno, vidrio o acero) y generación de material capsular que facilita la producción de biopelículas (Holý & Forsythe, 2014; Ye *et al.*, 2018) que a su vez le confieren resistencia a agentes de limpieza y desinfección siendo aisladas cepas de biopelículas presentes en conductos de alimentación enteral de recién nacidos (Holý & Forsythe, 2014).

Estas bacterias se encuentran de manera ubicua en el medio ambiente incluyendo alimentos como queso, carne, trigo, arroz, leche en polvo, té de hierbas, almidones entre otros (Holý & Forsythe, 2014; Lujan *et al.*, 2014; CDC, 2017). *Cronobacter sakasaki* es considerada agente causal emergente y de importancia en salud pública debido a infecciones transmitidas a través de los alimentos, siendo las fórmulas lácteas la fuente de contaminación común y riesgo a la salud relacionándose principalmente a infecciones infantiles (meningitis, bacteremia y enterocolitis necrosante) y muerte en recién nacidos, prematuros, adultos mayores e inmunocomprometidos (Holý & Forsythe, 2014; Lujan *et al.*, 2014; Parra *et al.*, 2015; CDC, 2017; McMullan *et al.*, 2018; Chandrasekaran *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2018). Sumado a lo anterior despierta todavía más el interés en temas de salud debido a que diversos estudios realizados en el aislamiento de especies procedentes de hospitales, alimentos y ambientes relacionados con su producción muestran una variada susceptibilidad a diferentes antimicrobianos por lo que se continúan realizando estudios a nivel global tanto de susceptibilidad como de los mecanismos de sobrevivencia fenotípicos y genómicos a los antimicrobianos por parte de este microorganismo (Xianfeng *et al.*, 2011; Kilonzo *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012; Holý & Forsythe, 2014; Li *et al.*, 2014; Ye *et al.*, 2018) tal y como ha ocurrido con *Salmonella spp.*, *E. coli*, (Puig *et al.*, 2011), *Listeria monocytogenes* (Granier *et al.*, 2011) entre otros patógenos alimentarios.

### Análisis e identificación en los alimentos

Alrededor del mundo el análisis en el laboratorio para el aislamiento e identificación de *C. sakasaki* se realiza a través de diversos métodos algunos de ellos normalizados y comúnmente utilizados en la detección en muestras ambientales y de alimentos como es el reportado en el manual bacteriológico analítico (BAM por sus siglas en inglés) de la administración de alimentos y drogas de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés) el cual presenta un método que implica la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) en tiempo real para la detección rápida así como un método tradicional de cultivo para la detección y aislamiento de *Cronobacter spp.*

(Figura 1) este método involucra además un procedimiento opcional de enumeración por el procedimiento de número más probable (NMP) a través de diluciones en tres tubos donde se procede a pesar en condiciones de asepsia por triplicado, 100 g, 10 g y 1 g de la fórmula láctea en polvo incorporándolo a frascos Erlenmeyer de 2 litros, 250 mL y 125 mL, respectivamente, procediendo con la preparación de la muestra, aislamiento en cultivo e identificación; determinando así el NMP de células *Cronobacter* / g de muestra basándose en el número de "tubos" en cada dilución en la que se ratificó la presencia de *Cronobacter* spp., (Chen *et al.*, 2012). Otro método normalizado comúnmente utilizado es el propuesto por la organización internacional de normalización (ISO por sus siglas en ingles) el método ISO/TS 22964:2006 el cual consiste en 4 fases como son el pre enriquecimiento no selectivo, enriquecimiento selectivo, aislamiento presuntivo y confirmación bioquímica previo a la emisión de resultados (ANMAT, 2011); ahora en su versión actualizada ISO 22964:2017 para el análisis de *Cronobacter* spp., en la cadena alimentaria.

El análisis de identificación en el laboratorio de un aislamiento de *C. sakazakii* puede realizarse a través de diferentes pruebas bioquímicas entre las que se encuentran la prueba de oxidasa e indol con un resultado negativo, catalasa positivo, reducción de nitratos, metabolismo de citrato, descarboxilación de L-ornitina, hidrólisis de esculina y arginina, producción de ácido a partir de D-glucosa, sacarosa, rafinosa, celobiosa, D-manitol, D-manosa, L-ramnosa, L-arabinosa, D-xilosa, trehalosa, galacturonato y maltosa; además es generalmente positiva la producción de acetoina y negativa para la prueba de rojo de metilo, indicando una ruta de 2-3 butanodiol más que una fermentación ácida mixta (Lujan *et al.*, 2014).

Otra característica metabólica de *C. sakazakii* es que es el único miembro del género capaz de utilizar como fuente de carbono el ácido sialico presente en la leche materna, mucina y gangliosidos; así mismo este compuesto forma parte de las fórmulas lácteas infantiles el cual es asociado al desarrollo del cerebro pudiendo ser esta característica una adaptación evolutiva y de valor clínico en la identificación (Holý & Forsythe, 2014).

La identificación de este patógeno también puede realizarse también mediante kits fenotípicos de prueba como el API 20E, ID32E, Vitek y microarray con el inconveniente de consultar bases de datos que no pudieran estar actualizadas considerando todavía el patógeno como *Enterobacter sakazakii* por lo que se debe tener cuidado y especial atención en su utilización (Parra *et al.*, 2015).

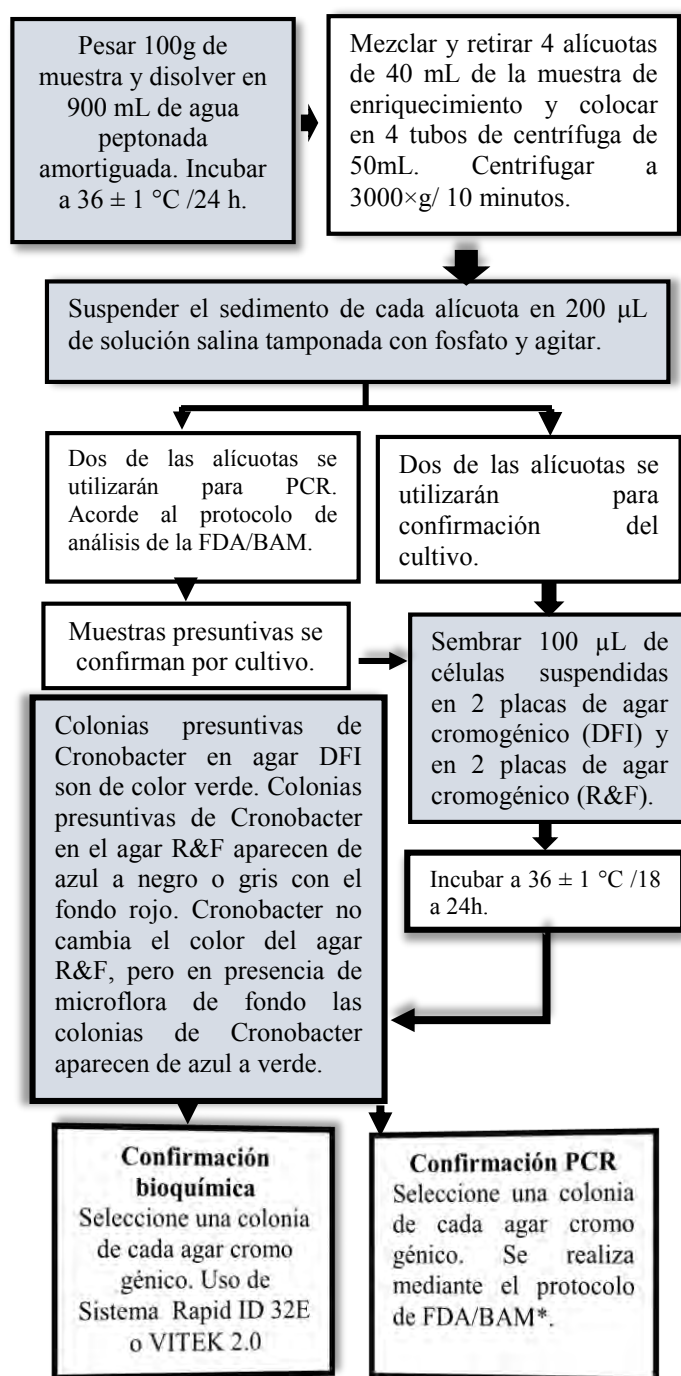
Por otra parte, más allá de los métodos tradicionales de análisis microbiológico se han desarrollado métodos basados en la biología molecular para la detección de *Cronobacter* spp., en específico con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, tipificación multilocus de secuencias (MLST), polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP por sus siglas en ingles) entre otras (Vanegas *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2012; Holý & Forsythe, 2014; Li *et al.* 2014; Parra *et al.*, 2015).

### **Normatividad, prevención y control de enfermedades transmitidas por alimentos.**

La alimentación es una necesidad imperante en el ser humano y el acceso y disponibilidad a alimentos inocuos y nutritivos un derecho universal; por lo que es tarea conjunta de varios sectores sociales como las autoridades de gobierno (salud, sanidad, ganadería, agricultura entre otras) en apoyo con la industria, academia y comercio de constituir e implementar normas, sistemas de control y vigilancia dirigida a la contaminación de alimentos por sus diferentes agentes causales (físicos, químicos y biológicos) de enfermedades al consumidor en todas las fases de la cadena alimentaria a fin de tener productos de calidad higiénica y nutricional (Piqueras, 2016).

*Cronobacter sakazakii* es considerado un importante patógeno alimentario y las fórmulas lácteas infantiles una frecuente y significativa fuente de contaminación y riesgo a la salud derivado de condiciones inadecuadas de producción, almacenamiento y preparación previa al consumo por lo que asegurar la inocuidad microbiológica de estos productos es de vital interés para entidades reguladoras y productores (Holý & Forsythe, 2014; Lujan *et al.*, 2014; Parra *et al.*, 2015).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) han realizado acciones de evaluación de riesgo a la salud por parte de *Cronobacter* spp., y otros patógenos con el propósito de generar información; tal es el caso en el 2004 con una revisión y actualización del Código Internacional de Prácticas Recomendado de Higiene para Alimentos para Lactantes y Niños centrándose en los patógenos provenientes de los preparados en polvo incluyendo *C. sakazakii* donde se estableció el análisis epidemiológico, evaluación y recomendaciones en la reducción de riesgos a la salud para este grupo poblacional



\*BAM: Manual Analítico Bacteriológico. FDA: Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica

**Figura 1** Flujograma de aislamiento y detección de *Cronobacter* spp., en alimentos (Chen et al. 2012)

A fin de facilitar la toma de decisiones por parte de las autoridades de salud, además de comunicar como parámetro sanitario la ausencia de microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y genero *Cronobacter* spp., en leches en polvo dirigida a la alimentación de lactantes (FAO 2004; Parra et al. 2015). Entre otras acciones realizadas se encuentran a través del Codex Alimentarius la elaboración de los principios y directrices de higiene que abarcan la cadena alimentaria de la producción primaria al consumo final, destacando diferentes controles de higiene en cada fase y que incluyen por solo citar el establecimiento y aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos el CAC/GL 21-1997 y las directrices CAC/RCP-1 1969, Rev. 3-1997, enmendado en 1999 para la aplicación de sistemas de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP por sus siglas en inglés) con un enfoque de control y garantizar la inocuidad alimentaria actuando como marco de referencia para organismos reguladores, industriales y consumidores de la vigilancia y control a fin de minimizar el riesgo proveniente de los alimentos a través de toda la cadena alimentaria (FAO, 2017).

En Europa en aspectos relacionados con la salud y los alimentos se establecieron los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria y se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria a través del Reglamento (CE) No 178/2002 del parlamento europeo y del consejo el 28 de enero de 2002 con el fin de unificar principios de regulación y gestión de la seguridad alimentaria en los miembros de la unión europea y asegurar la protección de la salud e intereses de los consumidores en materia de alimentos a través por ejemplo del principio de cautela, análisis del riesgo, prevención, colaboración, información, coordinación y de responsabilidad considerando de manera global las fases de producción, transformación y distribución, aspectos de higiene, manipulación, contaminantes, etiquetado y trazabilidad de los alimentos. Así mismo con el reglamento (CE) No 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005 se indicó específicamente para preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes de menos de seis meses comercializados dentro de su vida útil que *Cronobacter sakasakii* debe estar ausente en 10g de producto.

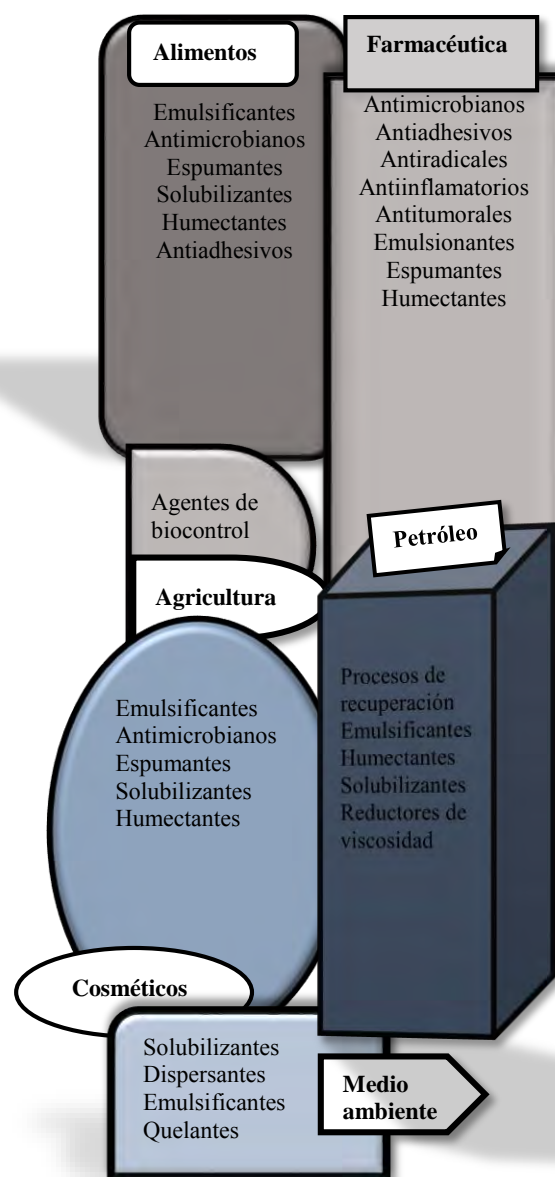
Siendo el método de análisis microbiológico de referencia utilizado el procedente de la organización internacional de normalización ISO 22964. En América latina en países como Argentina a través del código alimentario argentino en su Capítulo XVII - Alimentos de Régimen o Dietéticos- en su artículo 1340 menciona que los productos para lactantes que han de consumirse después de añadir un líquido para la población de 0 a 6 meses y de 6 a 12 meses deben ajustarse al criterio microbiológico referente a *Enterobacter sakasaki* de una ausencia en 10g siendo el método de referencia de detección ISO 22964 (ANMAT, 2013).

En México a fin de proteger la salud pública se ha establecido de manera obligatoria las especificaciones sanitarias para para alimentos que pueden ser vehículo de infección por *Cronobacter* spp., como la Norma Oficial Mexicana NOM-131-SSA1-2012 enfocada a fórmulas para lactantes, de continuación y para necesidades especiales de nutrición. Alimentos y bebidas no alcohólicas para lactantes y niños de corta edad. Productos y servicios. Siendo las especificaciones microbiológicas para *Cronobacter* spp., y Enterobacterias de 0 Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/10g de alimento; mientras que la norma NOM-251-SSA1-2009, establece los requisitos mínimos de buenas prácticas de higiene que deben observarse en el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios y sus materias primas a fin de evitar su contaminación a lo largo de su proceso.

Se han propuesto y establecido además alrededor del mundo estrategias y acciones a fin de reducir el riesgo por esta enfermedad a lo largo de la cadena alimentaria como es el implementar buenas prácticas de higiene y sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control así como la instauración y capacitación en las buenas prácticas de higiene y manipulación en la preparación y conservación de alimentos de riesgo como las fórmulas lácteas dirigidas a guarderías, hospitales y el mismo hogar durante el cuidado de recién nacidos y lactantes; las medidas de higiene se consideran de suma importancia debido al estado de inmadurez que guarda el sistema inmunológico y la falta de flora intestinal competitiva en este grupo poblacional (Codex, 2009; ANMAT, 2013; Elika, 2013; Holý & Forsythe, 2014; Lujan *et al.*, 2014).

## La biotecnología y su relación con *Cronobacter* spp.

La biotecnología se define como el uso de sistemas biológicos, células vivas o componentes para la producción y modificación de productos. La cual además presenta diferentes aplicaciones en múltiples áreas como salud, medio ambiente, ganadería, agricultura, alimentos entre otras (ONU, 1992; OMS, 2005; Sutton & Cherem, 2007). Se ha reportado alrededor del mundo de la producción por diversos microorganismos de compuestos denominados biosurfactantes y que han mostrado diversas propiedades fisicoquímicas y biológicas los cuales los han colocado los reflectores al considerarlos como potenciales alternativas de uso en diferentes áreas industriales como los alimentos, medio ambiente y salud (Figura 2).



**Figura 2** Aplicaciones de los biosurfactantes en diversas áreas industriales (Desai y Banat, 1997; Banat *et al.*, 2000; Raiger y López, 2009; Banat *et al.*, 2010; Fakruddin, 2012; Bhardwaj *et al.*, 2013; Cortes *et al.*, 2015; Sourav *et al.*, 2015).

CORTÉS-SÁNCHEZ, Alejandro De Jesús & ESPINOSA-CHAURAND, Luis Daniel. *Cronobacter sakasaki* un peligro potencial para la salud proveniente de los alimentos. Revista de Aplicación Científica y Técnica. 2018

## Los biosurfactantes

Los biosurfactantes (BS) son considerados moléculas anfipáticas debido a que en su constitución presentan un grupo hidrofóbico e hidrofílico. Comúnmente el grupo hidrofóbico son ácidos grasos o derivados de estos, proteínas o péptidos constituidos en alta proporción de cadenas no polares. Mientras que los grupos hidrofílicos pueden ser péptidos, azúcares, o grupos éster. Los BS son producidos por diferentes microorganismos como bacterias, hongos o levaduras (Tabla 1) los cuales son ubicuos encontrándose por diferentes ambientes acuáticos, tierra, sedimentos y lodos, así como ambientes caracterizados por condiciones extremas de pH, temperatura o salinidad como pueden ser los depósitos de petróleo (Cortes *et al.*, 2013; Bhardwaj *et al.*, 2013; Gunaseelan & Ramkrishna, 2014; Sourav *et al.*, 2015; Becerra & Horna, 2016; Gudiña *et al.*, 2016). Los BS son considerados metabolitos secundarios extracelulares con la capacidad para disminuir la tensión superficial e interfacial de mezclas acuosas e hidrocarbonadas y formar emulsiones (Sulbaran *et al.*, 2005; Cortes *et al.*, 2013; Bhardwaj *et al.*, 2013; Gunaseelan & Ramkrishna, 2014; Sourav *et al.*, 2015; Becerra & Horna, 2016). Los BS se pueden clasificar en relación a composición química, peso molecular u origen microbiano, presentándose de manera común los de tipo glicolípido, lipopéptido y lipoproteínas, fosfolípidos y ácidos grasos, surfactantes poliméricos y partículas de surfactantes (Sulbaran *et al.*, 2005; Gharaei 2011; Gunaseelan & Ramkrishna, 2014). La función de estos compuestos en el microorganismo productor involucra aspectos en la captación y metabolismo por parte del microorganismo productor resultando en el crecimiento sobre sustratos inmiscibles en agua a través de la disminución de la tensión superficial, también intervienen en la adherencia celular y en efectos antimicrobianos hacia otros microorganismos en el medio ambiente con fines de supervivencia (Desai & Banat, 1997; Fakruddin, 2012). Además, la generación y clase de estos compuestos ha sido estudiada por diversos investigadores indicando que esta puede ser afectada por condiciones ambientales y nutricionales de cultivo como son la fuente de carbono, fuente de nitrógeno, pH, temperatura, tiempo de incubación, concentración de oxígeno y cationes multivalentes (Bhardwaj *et al.*, 2013; Toribio *et al.*, 2014).

Los BS han tomado relevancia en los últimos años debido a que presentan diferentes propiedades consideradas una ventaja con respecto a sus homólogos sintéticos considerándolos una alternativa potencial ecológica de uso en diferentes áreas industriales como la de los alimentos, farmacéutica, ambiental, agricultura, minería, petróleo, pintura, textiles entre otras (Gharaei, 2011; Bhardwaj *et al.*, 2013; Cortes *et al.*, 2013; Sourav *et al.*, 2015; Becerra & Horna, 2016). Entre las propiedades adjudicadas a los biosurfactantes se encuentran su baja toxicidad, biodegradabilidad, estabilidad bajo diferentes condiciones de pH, temperatura y fuerza iónica, especificidad, biocompatibilidad, digestibilidad, actividad biológica (anti adhesiva, anti biofilm, antimicrobiana y anti carcinogénica) y de superficie además de ser sintetizados a partir de materiales económicos como los residuos agroindustriales (Gharaei, 2011; Toribio *et al.*, 2014; Sourav *et al.*, 2015; Gudiña *et al.*, 2016).

## *Cronobacter* spp., y la generación de biosurfactantes.

Diferentes especies del género *Cronobacter* spp., se encuentran de manera ubicua en la naturaleza y es considerado agente patógeno oportunista principalmente en niños a través del consumo de fórmulas lácteas (Rakeshkumar *et al.*, 2012; Pal *et al.*, 2015). Por otra parte, aparece una dicotomía al reportarse a través de algunas investigaciones del aislamiento de cepas de *Cronobacter* spp., productoras de biosurfactantes en lugares contaminados por hidrocarburos o residuos industriales con potenciales aplicaciones en el ámbito ambiental y la industria del petróleo (Jain *et al.*, 2012; Fayemiwo, 2014; Pal *et al.*, 2015).

Jain *et al.* (2012) informaron de la producción de un biosurfactante por parte de microorganismos extremófilos como *Cronobacter sakasaki* aislada de aguas residuales contaminadas con petróleo en la India. El BS menciona el investigador se produjo en mayor proporción con 3.15g/L después de las 72h de cultivo y comprende en un complejo heteropolisacárido-proteico compuesto de glucosa, manosa, galactosa, xilosa, arabinosa y ácido urónico siendo utilizada para su producción sacarosa como fuente de carbono a pH 10 y 30°C durante 7 días.

El biosurfactante presentó una reología de pseudoplástico, habilidad para enlazar cationes, buenas propiedades emulsificantes, termoestabilidad y tolerancia a un amplio rango de pH lo que lo convierte en un potencial candidato a su aplicación en la bioremediación y otras aplicaciones industriales.

Fayemiwo (2014) reportó el aislamiento de *Cronobacter dublinensis* de suelos contaminados y no contaminados con petróleo productoras de biosurfactantes provenientes del distrito central de negocios de Pretoria Sudáfrica. Lo anterior determinado por la capacidad de la cepa para crecer en un medio de cultivo de sales minerales utilizando como fuente de carbono glicerol (3g/L) y glicerol (3g/L) con hexano (3mL) a 30°C durante 25h (teniendo su mayor crecimiento a una densidad óptica de 600nm a las 24h) y por el uso de la técnica de colapso de gota basada en la estructura anfipática de los biosurfactantes. Sugiriendo que estas cepas productoras pueden ser utilizadas en procesos de recuperación en la industria del petróleo.

Biosurfactante	Tipo	Microorganismos productores
Ramrólpidos	Glicolípido	<i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Serratia rubidea</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
Soforólpidos	Glicopéptido	<i>Candida batistae</i> <i>Candida bombicola</i>
Lípidos de manosileritritol	Glicopéptido	<i>Candida antártica</i>
Lípidos de trehalosa	Glicolípido	<i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Corynebacterium spp.</i> <i>Nocardia spp.</i>
Celobiolípidos	Glicolípido	<i>Ustilago zaeae</i> <i>Ustilago maydis</i>
Fosfatidiletanolamina	Ácidos grasos fosfolípidos y lípidos neutros	<i>Acinetobacter spp.</i>
Emulsan Liposan	Surfactantes Poliméricos	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Candida lipolytica</i>
Gramicidina Polimixina Iturin Surfactina Lichenisina	Lipopéptidos y lipoproteínas	<i>Bacillus brevis</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Pseudomonas sp WJ6</i> <i>Bacillus lecheniformis</i>
Emulcyan Manoproteína Vesículas extracelulares	Partículas surfactantes	<i>Phormidium J-1</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Acinetobacter spp. HO1-N</i>

**Tabla 1.** Microorganismo productores de los principales tipos de biosurfactantes (Desai y Banat 1997; Raiger y López 2009; Gharaei 2011; Bhardwaj et al. 2013; Toribio et al. 2014; Gunaseelan y Ramkrishna 2014).

Y finalmente Pal *et al.* (2015) publicaron el aislamiento de una cepa de *Cronobacter* spp DJ34 aislada de los lodos que contienen petróleo crudo en los campos de Duliajanoil, Assam, India, con la capacidad de degradar hidrocarburos, resistencia a metales pesados, crecimiento a diferentes condiciones de pH, temperatura y salinidad, capacidad de generar biosurfactantes y utilizar diversos aceptores de electrones en durante el crecimiento bajo condiciones anaeróbicas y cuyo análisis genómico del gen 16S rRNA mostraba una similitud del 99% con la *Cronobacter pulveris*.

La producción de compuestos con actividad de superficie por *Cronobacter* spp., como las mencionadas anteriormente permite tener una posible perspectiva ambivalente útil de este microorganismo, más allá de su perfil patógeno con las aplicaciones biotecnológicas potenciales en áreas industriales específicas como medio ambiente y petróleo.

Ya que en acuerdo con la posición en el pensamiento de múltiples investigadores alrededor del mundo como Uzoigwe *et al.* (2015) el carácter patógeno de diferentes microorganismos productores de biosurfactantes genera y aumenta la diversidad de inquietudes y enfoques de estudio a profundizar en materia de salud, seguridad y medio ambiente; por lo que la atención en este rubro dirige las investigaciones sobre cuestiones relacionadas con el aislamiento, producción, optimización, regulación metabólica y genética por parte de microorganismos no patógenos así como del descubrimiento de biosurfactantes con nuevas y mejores propiedades en comparación a los producidos por patógenos y surfactantes de origen químico.

Cuestiones que además han sido condicionantes para que la producción de biosurfactantes a grandes proporciones y aplicación como alternativas potenciales a sus homólogos sintéticos continúe pendiente.

## Comentarios finales

*Cronobacter sakasakii* es considerado un patógeno alimentario cuyo principal vehículo son los alimentos lácteos en polvo y el cual muestra graves consecuencias negativas en la salud principalmente en la población infantil.

CORTÉS-SÁNCHEZ, Alejandro De Jesús & ESPINOSA-CHAURAND, Luis Daniel. *Cronobacter sakasakii* un peligro potencial para la salud proveniente de los alimentos. Revista de Aplicación Científica y Técnica. 2018



A nivel global se han desarrollado e implementado por organizaciones internacionales, gobierno e industria alimentaria procedimientos de control y prevención a fin de reducir su incidencia y mortalidad y garantizar una alimentación de calidad nutricional, organoléptica y libre de riesgos microbiológicos.

Los biosurfactantes son compuestos anfipáticos producidos por diferentes microorganismos que incluyen hongos, levaduras y bacterias. Estas moléculas emergen como una potencial alternativa de uso a sus homólogos sintéticos debido a propiedades como su biodegradabilidad, baja toxicidad, actividad emulsificante, actividad biológica, estabilidad a un amplio rango de condiciones de pH, temperatura, salinidad en diversos rubros industriales como los alimentos, farmacéutica, medio ambiente, petróleo entre otras.

Especies del género *Cronobacter* spp., han sido catalogadas con un carácter patógeno. Sin embargo, cepas aisladas en el medio ambiente principalmente en sitios contaminados por residuos del petróleo han mostrado una aplicación biotecnológica al ser productores de compuestos como los biosurfactantes que acorde a las propiedades fisicoquímicas mostradas son considerados principalmente en su potencial aplicación en el área ambiental e industria del petróleo.

La dicotomía que se genera en cuanto a su perfil patógeno y benéfico por parte de microorganismos productores de biosurfactantes en el área ambiental y del petróleo los mantienen en estatus de uso potencial lo que abre un horizonte en temas de investigación referente a la seguridad en su uso, salud y dispersión en el ambiente.

Desde hace algunos años se encuentra la tendencia en la búsqueda de microorganismos productores de biosurfactantes no patógenos y las respectivas aplicaciones potenciales en diversas áreas industriales; además al igual que con los productores de carácter patógeno se encuentra la limitación en su uso a nivel comercial e industrial debido a diversos factores como son los elevados costos de producción y la necesidad de una mayor investigación acerca de factores relacionados con los procesos de síntesis y recuperación a fin de subsanar tales limitaciones.

### Conflicto de interés

Los autores expresan no tener ningún conflicto de interés en la elaboración y publicación del presente documento.

### Referencias

Alerte, V., Cortés, A.S., Díaz, T.J., Vollaire, Z.J., Espinoza, MME., Solari, GV., Cerda, L.J., Torres, H.M. (2012) Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). Revista Chilena de Infectología, 29, pp. 26-31.

ANMAT-Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (2013) Ministerio de Salud. Presidencia de la nación. Código Alimentario Argentino. Capítulo XVII. Artículos: 1339 al 1390 - Alimentos de Régimen o Dietéticos. - Actualizado al 3/2013. [fecha de acceso 2017-10-01] [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp) - [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_XVII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XVII.pdf)

ANMAT-Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (2011) Red nacional de laboratorios oficiales de análisis de alimentos. Ministerio de salud. Presidencia de la nación. Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología analítica oficial. microorganismos patógenos. volumen 1. Versión 1. Pp.175. [fecha de acceso 2017-10-03] [http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_Vol\\_I.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_I.pdf)

Banat, IM., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, MG., Fracchia, L., Marchant, R. (2010) Microbial biosurfactants production, applications and future potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 87, pp.427-444.

Banat, IM., Makkar, RS., Cameotra, SS. (2000) Potential commercial applications of microbial surfactants. Applied Microbiology and Biotechnology, 53, pp. 495-508.

Becerra, G.L.K., Horna, A.M.V. (2016) Isolation of biosurfactant producing microorganisms and lipases from wastewaters from slaughterhouses and soils contaminated with hydrocarbons. Scientia Agropecuaria, 7, pp. 23 – 31.

CORTÉS-SÁNCHEZ, Alejandro De Jesús & ESPINOSA-CHAURAND, Luis Daniel. *Cronobacter sakasaki* un peligro potencial para la salud proveniente de los alimentos. Revista de Aplicación Científica y Técnica. 2018

Bhardwaj, G., Cameotra, SS., Chopra, HK. (2013) Biosurfactants from Fungi: A Review. *J. Pet. Environ. Biotechnol.* 4: 6. 1000160.

CDC- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 2017. Departamento de Salud y Servicios Humanos. GobiernoUSA.gov. *Cronobacter*. [Fecha de acceso 2017-09-03] <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/cronobacter/index.html>

Chandrasekaran, S., Burnham, C. A. D., Warner, B. B., Tarr, P. I., Wylie, T. N. (2018) Carriage of *Cronobacter sakazakii* in the very preterm infant gut. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy062>

Chen, Y., Lampel, K., Hammack, T. (2012) *Cronobacter*. *Bacteriological Analytical Manual*. Chapter 29. U.S. Department of Health and Human Services. U.S. Food and Drug Administration. [Fecha de acceso 2017-08-04] <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm289378.htm>

Codex (2009) Código de prácticas de higiene para los preparados en polvo para lactantes y niños pequeños. CAC/RCP 66-2008. [Fecha de acceso 2017-09-16] <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/es/>

Cortés Sánchez, A.D.J., Troconis Torres, I.G., Jaramillo Flores, M.E. (2013). Surfactantes biológicos con aplicación potencial en tecnología de alimentos: una revisión. *Biológicas*, 15, pp.16–23.

Cortés Sánchez, A.D.J., Diaz Ramirez, M., Hernández Álvarez, A.J., García Ochoa, F., Villanueva Carvajal, A., León López, L., San M, A.L. (2015). Bio surfactants produced by enterobacterial. *Glob Adv. Res. J. Microbiol.* 4, pp. 103-112.

Desai, JD., Banat, IM. (1997) Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, pp.47-64.

Elika- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (2013) *Cronobacter*. [Fecha de acceso 2017-09-10] [http://www.elika.eus/datos/pdfs\\_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf](http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento88/Copia%20de%2010.Cronobacter.pdf)

Fakruddin, Md. (2012). Biosurfactant: Production and Application. *J Pet Environ Biotechnol.* 3, pp.124.

FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2017) Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para los alimentos. CAC/GL 21-1997. Código internacional recomendado de prácticas principios generales de higiene de los alimentos. CAC/RCP-1 (1969), Rev. 3 (1997), enmendado en 1999. [Fecha de acceso 2017-09-13] <http://www.fao.org/docrep/005/y1579s/y1579s04.htm>  
[http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits\\_es/others/docs/CAC-RCP1-1969.PDF](http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/CAC-RCP1-1969.PDF)

FAO- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2004) *Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en los preparados en polvo para lactantes. serie de evaluación de riesgos microbiológicos 6. Informe de la reunión. Organización Mundial de la Salud. [Fecha de acceso 2017-09-18] <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5502s/y5502s00.pdf>

Fayemiwo, OM. (2014) Microbial enhanced oil recovery from oily sludge using a novel plug flow reactor system (Magister Scientiae dissertation). University of pretoria. [Fecha de acceso 2017-10-10] [https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/43335/Fayemiwo\\_Microbial\\_2014.pdf;sequence=1](https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/43335/Fayemiwo_Microbial_2014.pdf;sequence=1)

Gharaei, FE. (2011) Biosurfactants in pharmaceutical industry (A mini-Review). *American Journal of Drug Discovery and Development*, 1, pp. 58–69.

Granier, SA., Moubareck, C., Colaneri, C., Lemire, A., Roussel, S., Dao, TT., Brisabois, A. (2011) Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 2788-2790.

Gudiña, EJ., Teixeira, JA., Rodrigues, LR. (2016) Biosurfactants produced by marine microorganisms with therapeutic applications. *Marine drugs*, 14, pp. 38.

- Gunaseelan, D., Ramkrishna, S. (2014). Amphiphilic Molecules of Microbial Origin: Classification, Characteristics, Genetic Regulations, and Pathways for Biosynthesis. Chapter 2 In: Biosurfactants. Research Trends and Applications. Catherine N. Mulligan, Sanjay K. Sharma, Ackmez Mudhoo (Ed). CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York. p. 32-42.
- Hernández Cortez, C., Aguilera Arreola, Ma. G., Castro Escarpulli, G. (2011) Gastrointestinal diseases, situation in Mexico. *Enf Inf Microbiol.* 31, pp.137-151.
- Holý, O., Forsythe, S. (2014) *Cronobacter* spp. as emerging causes of healthcare-associated infection. *Journal of Hospital Infection*, 86, pp. 169-177.
- ISO-International Organization for Standardization. (1999) 6887-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs -Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
- ISO-International Organization for Standardization. (2001) 8261:2001 Milk and milk products -General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination.
- ISO-International Organization for Standardization. (2006) ISO/TS 22964:2006 (IDF/RM 210: 2006) Milk and milk products - Detection of *Enterobacter sakazakii*. Method for the detection of *Enterobacter sakazakii* in milk powder and powdered infant formula.
- ISO-International Organization for Standardization. (2017) ISO 22964:2017. Microbiology of the food chain —Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp.
- Jain, RM., Mody, K., Mishra, A., Jha B. (2012) Isolation and structural characterization of biosurfactant produced by an alkaliphilic bacterium *Cronobacter sakazakii* isolated from oil contaminated wastewater. *Carbohydrate polymers*, 87, pp. 2320-2326.
- Kilonzo Nthenge, A., Rotich, E., Godwin, S., Nahashon S., Chen, F. (2012) Prevalence and antimicrobial resistance of *Cronobacter sakazakii* isolated from domestic kitchens in middle Tennessee, United States. *Journal of Food Protection*, 75, pp. 1512-1517.
- Kim, D. H., Jeong, D., Song, K. Y., Kang, I. B., Kim, H., Seo, K. H. (2018) Culture supernatant produced by *Lactobacillus kefir* from kefir inhibits the growth of *Cronobacter sakazakii*. *Journal of Dairy Research*, 85, pp. 98-103.
- Lee, YD., Park, JH., Chang, H. (2012) Detection, antibiotic susceptibility and biofilm formation of *Cronobacter* spp. from various foods in Korea. *Food Control*, 24, 225-230.
- Li, Y., Chen, Q., Zhao, J., Jiang, H., Lu, F., Bie, X., Lu, Z. (2014) Isolation, identification and antimicrobial resistance of *Cronobacter* spp. isolated from various foods in China. *Food Control*, 37, pp.109-114.
- López, AD., Rivero, ÁE., Martínez, TA., Alegret, RM. (2013) Enfermedades transmitidas por alimentos en Villa Clara. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 51, pp. 203-213.
- Luján, MGA., Treviño, AL., Aguilar, CN. (2014) *Cronobacter sakazakii*: A Food Borne Emergent Pathogen. *Acta Química Mexicana*. 6, pp.24-29.
- McMullan, R., Menon, V., Beukers, A. G., Jensen, S. O., van Hal, S. J., Davis, R. (2018). *Cronobacter sakazakii* Infection from Expressed Breast Milk, Australia. *Emerging infectious diseases*, 24, pp. 393-394.
- NOM- Norma Oficial Mexicana. (2012) NOM-131-SSA1-2012, Productos y servicios. Fórmulas para lactantes, de continuación y para necesidades especiales de nutrición. Alimentos y bebidas no alcohólicas para lactantes y niños de corta edad. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Etiquetado y métodos de prueba. Norma Oficial Mexicana. [Fecha de acceso 2017-09-10] <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/index.nmx>

NOM- Norma Oficial Mexicana. (2009) NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Norma Oficial Mexicana. [Fecha de acceso 2017-09-10] <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/index.nmx>

Olea, A., Díaz, J., Fuentes, R., Vaquero, A., García, M. (2012) Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 29, pp. 504-510.

OMS- Organización Mundial de la Salud. (2005) Biotecnología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencias. Departamento de inocuidad de los alimentos. [Fecha de acceso 2017-09-30] [http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/biotech\\_sp.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/biotech_sp.pdf)

ONU- Organización de las Naciones Unidas. (1992) Convenio sobre Diversidad Biológica. [Fecha de acceso 2017-10-12] <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-es.pdf>

Pal, S., Das Banerjee, T., Roy, A., Sar, P., Kazy, SK. (2015) Genome sequence of hydrocarbon-degrading *Cronobacter* sp. strain DJ34 isolated from crude oil-containing sludge from the Duliajan oil fields, Assam, India. *Genome Announc* 3: e01321-15.

Palomino, CC., González, MY. (2014) Molecular techniques for detection and identification of pathogens in food: advantages and limitations. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública*, 31, pp.535-46.

Parra, FJ., Oliveras, VL., Rodríguez, FA., Riffo, SF., Jackson, E., Forsythe, S. (2015) Risk of *Cronobacter Sakazakii* contamination in powdered milk for infant nutrition. *Rev Chil Nutr.* 42, pp.83-89.

Piqueras, MM. (2016) Actualización en higiene alimentaria, manipulación, toxiinfecciones alimentarias y etiquetado de alimentos. 1ra edición, 3Ciencias. Area de Innovación y Desarrollo, S.L. p.50

Puerta, GA, Mateos, RF. (2010) Enterobacterias. *Medicine*, 10, pp.3426-31.

Puig Peña, Y., Espino Hernández, M., Leyva Castillo, V. (2011) Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura. *Panorama Cuba y Salud*, 6, pp.30-38.

Raiger, LLJ., López, NI. (2009) Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Química Viva*, 8, pp.146-161.

Reglamento (CE) No 178/2002 del parlamento europeo y del consejo de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. [Fecha de acceso 2017-09-12] <http://www.boe.es/doue/2002/031/L00001-00024.pdf>

Reglamento (CE) No 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. [Fecha de acceso 2017-10-12] <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20100519:ES:PDF>

Romero, CR. (2007) Microbiología y parasitología humana / Microbiology and Human Parasitology: Bases etiologicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias / Etiological Basis of Infectious and Parasitic Diseases. 3<sup>ra</sup> edición. Ed. Médica Panamericana, pp.1802.

Sáez, M., Llanos, S., Tamayo, R. (2012) First isolation of *Cronobacter* spp (*Enterobacter sakazakii*) in powdered baby formula in Chile. *Rev Chil Salud Pública*, 16, pp. 11-15.

Sourav De, Susanta M., Aniruddha, G., Rumpa S., Bidyut, S. (2015) A review on natural surfactants. *RSC Adv.* 5, pp. 65757.

Sulbarán, MM., Bahsas, A., Velásquez, W., y Otoniel, RJ. (2005). Caracterización de Biosurfactantes producidos por *Pseudomonas* Fluorescentes aisladas de emulsiones de petróleo pesado. *Ciencia*, 13, pp.228 – 239.

Sutton, AH., Cherem, JH. (2007) Ética y biotecnología: más allá de los tratamientos médicos. *Rev Fac Med UNAM*, 50, pp.86-88.

Toribio, JJ., Velázquez, AJC., Romero, RY., Rodríguez, BMA., Chávez, GJD., Guevara, LJ., Aguirre, NJL., Fierro, TA. (2014) *Pseudomonas* sp productoras de biosurfactantes. *Tlamati*, 5, 66-82.

Uzoigwe, C., Ennis, CJ., Rahman, PKSM. (2015) Production of Biosurfactants Using Eco-friendly Microorganisms. In: Thangavel P., Sridevi G. (eds) *Environmental Sustainability*. Springer, New Delhi.

Vanegas, MC., Rugeles, LC., Martínez, AJ. (2009). Isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* in milk feeders of Bogotá, D. C. *Infectio*, 13, pp. 36-42.

Xianfeng, Z., Jianxin, G., Huang, Y., Songzhe, F., Haiying, C. (2011) Antibiotic resistance pattern of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter sakazakii* isolates from powdered infant formula. *African Journal of Microbiology Research*, 5, pp. 3073-3077.

Ye, Y., Ling, N., Gao, J., Zhang, M., Zhang, X., Tong, L., Ou, D., Wang, Y., Zhang, J., Wu, Q. (2018) Roles of outer membrane protein W (OmpW) on survival and biofilm formation of *Cronobacter sakazakii* under neomycin sulfate stress. *Journal of dairy science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13517>

Zamudio, ML., Meza, A., Bailón, H., Martínez, UJ., Campos, J. (2011) Experiences in the epidemiological surveillance of foodborne pathogens by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) in Peru. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Publica*, 28, pp. 128-135.