



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA INGENIERIA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

“ESTUDIO SOBRE LAS BIOPELICULAS EN SUPERFICIES DE PROCESADO EN LA INDUSTRIA CÁRNICA”

Trabajo de titulación

Tipo: Proyecto de investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTOR: JENNYFER CAROLINA GALEAS DUTAN

DIRECTOR: Ing. JESÚS RAMON LÓPEZ SALAZAR MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

©2022, Jennyfer Carolina Galeas Dutan

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo citas bibliográficas del documento; siempre y cuando se reconozca el Derecho del autor.

Yo, Jennyfer Carolina Galeas Dutan, declaro que el presente trabajo de titulación, de enfoque investigativo es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor; asumo toda la responsabilidad legal y académica de los contenidos expuestos en este trabajo de titulación, el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 enero 2022



Jennyfer Carolina Galeas Dutan

060535490-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Trabajo Investigación Bibliográfico “**ESTUDIO SOBRE LAS BIOPELICULAS EN SUPERFICIES DE PROCESADO EN LA INDUSTRIA CÁRNICA**”, realizado por la señorita: **JENNYFER CAROLINA GALEAS DUTAN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. José Miguel Mira Vásquez PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	19-01-2022
Ing. Jesús Ramón López Salazar MsC. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	19-01-2022
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy PhD. MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	19-01-2022

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, mis padres e hijo por estar siempre presentes, por enseñarme a crecer y valorar cada instante de mi vida. Por ser ese enorme motor que me impulsaba cada día en mis estudios, por apoyarme y guiarme hasta llegar a ser una excelente persona y profesional. A todos ellos mi más infinita gratitud.

Jennyfer Carolina Galeas Dutan

AGRADECIMIENTO

A mis profesores que con su gran conocimiento y experiencia me inculcaron a ser una buena profesional llenándome de conocimientos, en especial a mi tutor de trabajo de titulación Ing. Jesús López y a mi asesor Dr. Byron Díaz por la paciencia, conocimiento y tiempo que me brindaron en el transcurso de mi trabajo.

A mis compañeros de clase que me ayudaron en temas que se me dificultaban entender en su momento, a todos ellos mis más sinceros agradecimientos.

Jennyfer Carolina Galeas Dután

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
RESÚMEN.....	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	2
1.1. Seguridad Alimentaria.....	2
1.2. Importancia de la Inocuidad de los alimentos	2
1.3. Enfermedades de transmisión alimenticia	2
1.4. Biopelículas: generalidades	4
1.5. Principales causas de la generación de Biopelículas en la Industria Cárnica	4
<i>1.5.1. Factores implicados.....</i>	<i>5</i>
<i>1.5.1.1. Propiedades de la célula.....</i>	<i>5</i>
<i>1.5.1.2. Propiedades de la superficie</i>	<i>5</i>
<i>1.5.1.3. Propiedades del medio</i>	<i>6</i>
1.6. Etapas de la formación de Biopelículas.....	7
<i>1.6.1. Adhesión bacteriana.....</i>	<i>8</i>
<i>1.6.2. Adhesión bacteriana secundaria</i>	<i>8</i>
<i>1.6.3. Maduración de la biopelícula</i>	<i>8</i>
<i>1.6.4. Desprendimiento activo.....</i>	<i>8</i>
1.7. Estructura y composición de las biopelículas	9
<i>1.7.1. Agua.....</i>	<i>9</i>
<i>1.7.2. Exopolisacáridos</i>	<i>10</i>
<i>1.7.3. Proteínas extracelulares.....</i>	<i>10</i>
<i>1.7.4. Tensioactivos y lípidos.....</i>	<i>11</i>
<i>1.7.5. ADN extracelular (eADN)</i>	<i>11</i>
1.8. Resistencia de las biopelículas.....	11
<i>1.8.1. Bloqueo.....</i>	<i>12</i>
<i>1.8.2. Protección mutua</i>	<i>12</i>
<i>1.8.9. Hibernación (bacterias inactivas).....</i>	<i>12</i>
1.9. Biopelículas en la industria cárnica	12

1.9.1.	<i>Principales problemas que causan las biopelículas en la Industria cárnica</i>	13
1.9.1.1.	<i>Listeria monocytogenes</i>	14
1.9.1.2.	<i>Salmonella spp.</i>	15
1.9.1.3.	<i>Escherichia coli</i>	15
1.9.1.4.	<i>Pseudomonas spp.</i>	15
1.9.1.5.	<i>Campylobacter jejuni</i>	16
1.10.	Métodos de control y eliminación de biopelículas	16

CAPÍTULO II

2.	METODOLOGÍA	19
2.1.	Búsqueda de información bibliográfica	18
2.2.	Criterios de selección	19
2.3.	Métodos de sistematización de la información	21

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS DE INVESTIGACIONES Y DISCUSIÓN	22
3.1.	Causas y elementos que constituyen las biopelículas en las superficies de procesado en la industria cárnica.	22
3.2.	Efecto de las biopelículas en las superficies de procesado sobre la inocuidad alimentaria	24
3.3.	Métodos para la detección de biopelículas en la Industria Alimentaria	26
3.4.	Métodos de eliminación de biopelículas en la Industria Alimentaria	27

CONCLUSIONES	32
---------------------------	-----------

RECOMENDACIONES	33
------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3:	Variables más destacadas que intervienen en el desarrollo de biopelículas en las superficies en la Industria Cárnica	22
Tabla 2-3:	Brotos de origen alimentario por bacterias patógenas causadas principalmente por contaminación cruzada.....	24
Tabla 3-3:	Métodos disponibles para la detección de biopelículas en Industrias Alimentarias	26
Tabla 4-3:	Métodos de eliminación de biopelículas mediante antimicrobianos de origen vegetal (componentes de aceites esenciales) y enzimas.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Esquema representando las etapas presentes durante el desarrollo de una biopelícula sobre un sustrato.	7
Figura 2-1:	Distribución de los componentes mayoritarios de la matriz de una biopelícula bacteriana.	9
Figura 3-1:	Biopelícula desarrollada en una superficie de acero inoxidable en un sistema de agua potable. Canales de H ² O.	10

RESÚMEN

La presente investigación tuvo como objetivo el estudio sobre las biopelículas en superficies de procesado en la Industria Cárnica. Para lo cual se realizó una indagación bibliográfica exhaustiva de documentos, textos, artículos científicos, tesis y libros digitales en español o inglés; obtenidos de diversas plataformas digitales como: Scielo, Science Direct, PubMed, Dialnet, DSpace ESPOCH, también de instituciones internacionales como: Universidad de Santiago de Compostela (España), Universidad Nacional de la Plata (Argentina), Universidad Autónoma de Barcelona (España), Universidad Complutense de Madrid (España), Universidad de Chile (Chile), Universidad de La Laguna (España); tomando en cuenta que la información debe provenir de fuentes confiables y actuales, el 80% va desde el año 2010 hasta la actualidad, y el otro 20% son de años que van del 2006 hasta 2010; se empleó la técnica de “Recopilación y selección de la información” con un criterio de selección, discriminando información que no contribuya en el trabajo y sintetizando la información valedera en tablas de formato Excel y Word para un mejor discernimiento. Obteniendo como resultados que las características de las superficies son las que más influyen en el desarrollo de las biopelículas, provocando contaminación cruzada en el producto final y por consiguiente toxiinfecciones alimentarias en quienes las consuman; encontrándose que estas biopelículas pueden ser detectadas de manera temprana mediante BioFinder, producto que reacciona en presencia de biopelículas a partir de una carga de 10^4 UFC/cm² y pudiéndose eliminarlas mediante carvacrol en concentraciones de 1000 ppm a 37° C por 45 min en superficies de acero inoxidable. Se concluye que las biopelículas en ambientes de procesado de alimentos afectan a la inocuidad de sus productos terminados y por lo mismo a la salud de quienes lo consuman, por lo que se recomienda prevenir su formación mediante un plan de limpieza y desinfección que intente erradicarlos.

Palabras clave: <INOCUIDAD ALIMENTARIA>, <BIOPELÍCULAS BACTERIANAS>, <SUPERFICIES DE PROCESADO>, <INDUSTRIA CÁRNICA>, <TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS >

CRISTHIAN
FERNANDO
CASTILLO
RUIZ

Firmado digitalmente por
CRISTHIAN FERNANDO CASTILLO
RUIZ
Fecha: 2022.01.26 13:34:05 -05'00'



0106-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The objective of this research was to study biofilms on processing surfaces in the meat industry. For which exhaustive bibliographic research of documents, texts, scientific articles, theses and digital books in Spanish or English was carried out. The information was obtained from various digital platforms such as: Scielo, Science Direct, PubMed, Dialnet, DSpace ESPOCH, and from international institutions such as: University of Santiago de Compostela (Spain), National University of La Plata (Argentina), Autonomous University of Barcelona (Spain), Complutense University of Madrid (Spain), University of Chile (Chile), University of La Laguna (Spain). Taking into account that the information must come from reliable and current sources, 80% goes from the year 2010 to the present, and the other 20% are from years ranging from 2006 to 2010; The technique of "Collection and selection of information" was used with a selection criterion, discriminating information that does not contribute to the work and synthesizing the valid information in Excel and Word format tables for better discernment. Obtaining as results that the characteristics of the surfaces are the most influential in the development of biofilms, causing cross contamination in the final product and consequently food toxiinfections in those who consume them. The results showed that these biofilms can be detected early by BioFinder, a product that reacts in the presence of biofilms from a load of 104UFC/cm2 and can be eliminated by carvacrol in concentrations of 1000 ppm at 37° C for 45 min on stainless steel surfaces. It is concluded that biofilms in food processing environments affect the safety of finished products and therefore the health of those who consume them, so it is recommended to prevent their formation through a cleaning and disinfection plan that tries to eradicate them.

Keywords: <FOOD INSECURITY>, <BACTERIAL BIOPELICLES>, <PROCESSING SURFACES>, <CHANICAL INDUSTRY>, <FOOD TOXIINFECTIONS>, <FOOD TOXIINFECTIONS>.

ÕŠÛÜÖZÒÜÓŠÁ
ÒÛÖWÖÜÁ
ÛÜZÛ

08[. aij] Áá ää(^) e Á[: ÖŠÛÜÖZÒÜÓŠÁ
ÖÖWÖÜÁÛÜZÛ
Öp=ñö MÖŠÛÜÖZÒÜÓŠÁÖÖWÖÜÁÛÜZÛÖÁ
äüÖÖMÖÖWÖÜÁÛÜZÛÖZÒÜÓŠÁ MÖp=VÖZÒÜÓŠÁ
ÖÖÜVÖZÒÜÓŠÁÖÖWÖÜÁÛÜZÛÖZÒÜÓŠÁ
T[öj] KÜj ^ Á/äé é : ä^ Á^ e^ ä[& (^) é
Väöäöä) K
ö^ ä^öööööööööööö ö ö K I ÉFJHEE

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con las disposiciones del Código de Alimentos de la OPS (2015, p. 2) la seguridad alimentaria consiste en garantizar que los alimentos no causen daños a los consumidores cuando se preparan o ingieren de acuerdo con el uso previsto. Los alimentos son la principal fuente de exposición a patógenos químicos y biológicos (virus, parásitos y bacterias) a los que nadie es inmune afirma (Sánchez, 2020, p. 1).

Los alimentos no inocuos o contaminados pueden causar enfermedades en quienes los consuman, se estima que alrededor de 600 millones de personas en todo el mundo se enferman por comer alimentos contaminados cada año, OMS (2020, p. 2). Estos brotes son causados por hábitos de higiene insuficientes del personal, contaminación cruzada, contaminación de materias primas y problemas ambientales. En este caso, en la industria alimentaria, la superficie es una de las vías de contaminación bacteriana más comunes, (Whitchurch & Nielsen, 2015, pp. 1-2).

Según (Domínguez & Badiola, 2015, p. 4) en las últimas dos décadas, se ha puesto de manifiesto que las bacterias no se encuentran en el medio ambiente exclusivamente de forma libre, comportándose como seres unicelulares como se creía, sino que, en muchas ocasiones pueden encontrarse formando parte de comunidades microbianas con un sistema de organización más típico de los organismos coloniales, creciendo adheridas a superficies y embebidas en matrices extracelulares que ellas mismas sintetizan denominándolas biopelículas.

Casi todas las biopelículas de los ambientes alimentarios contienen múltiples especies de microorganismos, y las complejas interacciones que se establecen dentro de esta comunidad van a influir significativamente en su arquitectura, actividad y resistencia a la desinfección. Es un hecho que, en los ambientes de la industria cárnica coexisten frecuentemente estas tres especies patógenas, como *Escherichia coli* O157: H7 (y otras cepas de *Escherichia coli* enteropatógenas productoras de toxina Shiga, STEC) *Salmonella entérica* y todos sus serotipos potencialmente patógenos, y *Listeria monocytogenes*, que es la única especie patógena de este género, pueden desarrollar biopelículas en muchas áreas de las plantas de procesamiento de alimentos, incluidos los suelos, paredes y tuberías (Lopez & Ortiz, 2020, p. 7).

Es en este contexto que se busca desarrollar el presente trabajo de investigación donde se desea estudiar las causas y elementos que constituyen las biopelículas en las superficies de procesamiento en la industria cárnica, evaluar el efecto de las biopelículas en las superficies de procesamiento sobre la inocuidad alimentaria y los métodos de control y eliminación de las biopelículas empleados en la actualidad.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Seguridad Alimentaria

La seguridad alimentaria es frecuentemente usada asociándola a la inocuidad, es así que (Graziano Da Silva, 2019, p. 1) lo expresa como: sin inocuidad alimentaria no existe la seguridad alimentaria, pero se debe tomar en cuenta que estos son dos conceptos diferentes.

La seguridad alimentaria se establece cuando todas las personas pueden acceder de forma física, social, económica y permanentemente a los alimentos seguros, nutritivos y de calidad con el fin de satisfacer los requerimientos nutricionales y de preferencia con el propósito de tener una vida activa y saludable FAO (2015, p. 3).

1.2. Importancia de la Inocuidad de los alimentos

La calidad de los alimentos está constituida por cuatro características básicas, que son las nutricionales, organolépticas, inocuas y comerciales. La característica de inocuidad es aquella que determina la seguridad de que dicho alimento no causará afectación alguna al consumidor. Los alimentos son la principal fuente de exposición a patógenos químicos y biológicos, cuando estos se llegan a contaminar puede llegar a afectar a cualquier persona, pues ningún país ni persona es inmune a estos independientemente de la situación económica y nivel de desarrollo (ISOTools, 2018, p. 1).

La OMS (2020, p. 1) manifiesta que, debe tenerse en cuenta la importancia de la seguridad alimentaria, porque varios alimentos a menudo provocan brotes alimentarios. Estos brotes pueden ser causados por malas prácticas de higiene en toda la cadena de producción, desde la agricultura o la cría de animales hasta que llega a los consumidores. Además de representar una amenaza para la salud del consumidor, también tiene implicaciones económicas, porque la desconfianza de los consumidores en las medidas de seguridad alimentaria puede conducir a interrupciones del comercio nacional e internacional.

1.3. Enfermedades de transmisión alimenticia

Las enfermedades de transmisión alimentaria o conocidas como ETAs, son las causadas por microorganismos o por sustancias químicas que ingresan en las personas debido al consumo de alimentos. La contaminación de los alimentos por estos agentes puede ocurrir en cualquier etapa

de la cadena de valor, el ambiente es otro factor para que se puedan llegar a contaminar OMS (2020, p. 1).

El consumo de alimentos en mal estado o contaminados pueden conllevar a presentar síntomas que van desde dolor abdominal, diarreas, vómitos y fiebre, estos suelen depender del tipo de microorganismo y la cantidad ingerida. Es decir que de estos depende la intensidad y rapidez de afectación a la persona que lo ha consumido, el cual puede variar de entre deshidratación, shock o la muerte ECUARED (2017, p. 239).

(González & González, 2019, pp. 27-33) expresa que “Las enfermedades de transmisión alimentaria son procesos originados por la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, en cualquier etapa o eslabón de la cadena alimentaria (del campo o mar a la mesa), que constituyen un problema creciente de Salud Pública en todo el mundo”. Este a su vez considera que depende del tipo de patógeno se las pueden clasificar en:

- Infecciones e Infestaciones Alimentarias, son aquellas donde los alimentos son únicamente el vehículo que transporta al agente infeccioso, dentro de estas se puede ejemplificar con: brucelosis, tuberculosis, etc.
- Intoxicaciones Alimentarias, estos son procesos secuenciales de la ingesta de alimentos contaminados con sustancias tóxicas que pueden ser químicas o abióticas que llegaron a este de forma accidental o intencionalmente dentro de su cadena de valor hasta ser ingeridas por el consumidor, por ejemplo: botulismo, enterotoxina estafilocócica, etc.
- Toxiinfecciones Alimentarias, estas son enfermedades causadas por la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos patógenos, que provoca alteraciones en el consumidor producidas por la multiplicación y colonización del microorganismo, como, por ejemplo: *Salmonella*, *Shigella*, *V. parahaemolítico*, *E. coli enteropatógeno*, etc.

Acorde a ECUARED (2017, p. 2) entre los alimentos con mayor riesgo de contaminación tenemos a:

- Alimentos preparados que son fácilmente consumibles fríos o calentados.
- Carnes, pescados y mariscos crudos.
- Carnes molidas o en picadillo.
- Leche y productos lácteos sin pasteurizar o sin hervir.
- Huevos y alimentos con huevos, entre otros.

1.4. Biopelículas: generalidades

Las biopelículas son comunidades microbianas complejas que contienen bacterias y hongos; los microorganismos sintetizan y secretan una matriz de protección constituida por sustancias poliméricas extracelulares (EPS, extracellular polymeric substance) que adhiere firmemente a la biopelícula en la superficie abiótica o biótica. Las biopelículas representan un modo primario de crecimiento y vida para las bacterias. Donde quiera que haya agua, una superficie de soporte y los nutrientes disponibles, se formará biopelículas manifiesta (Martinez Joaquin, 2020, p. 3).

Esta forma de vida, según registros fósiles de biopelículas calcificados se remontan a hace 3.700 millones de años plantea (Nutman A, 2016, p. 53). La forma de las estructuras y los componentes, presentes en cada biopelícula, son una mezcla única de componentes, dado que la formación de la biopelícula está muy influenciada por el ambiente, como los nutrientes, las especies que lo crean, las demás especies que pueden interactuar con la biopelícula o posteriores colonizadores de la estructura, una ya vez ya ha sido generada sostiene (Sutherland, 2016, pp. 54-55).

En resumen, una biopelícula puede describirse como un conjunto de bacterias incrustadas en barrera densa y viscosa de azúcares y proteínas. La barrera de la biopelícula protege a los microorganismos de las amenazas externas como el estrés oxidativo, falta de nutrientes, desecación, exposición a los rayos UV, así como a distintos agentes antimicrobianos y cuenta con un sistema de canales que le permite establecer un vínculo con el medio externo para hacer intercambio de nutrientes y eliminar metabolitos de desecho menciona (Phillips PL, 2015, p. 3).

1.5. Principales causas de la generación de Biopelículas en la Industria Cárnica

(Guillermo, 2013, pp. 92-102) manifiesta que, para que las biopelículas se puedan desarrollar es necesario que existan las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas apropiadas ya que, las bacterias pueden crear condiciones para formar biopelículas casi en cualquier ambiente. La interface sólido-líquida entre una superficie y un medio acuoso (agua-sangre) proporciona un entorno ideal para la fijación y crecimiento de microorganismos, actuando principalmente para la formación de biopelículas estos tres componentes:

- Las células bacterianas
- La superficie de anclaje
- y el medio que las rodea.

1.5.1. Factores implicados

1.5.1.1. Propiedades de la célula

La unión de bacterias con una superficie es un proceso físico-químico determinado por fuerzas electroestáticas entre las células y superficie. Las estructuras y moléculas propias de la superficie externa de las células bacterianas determinan las propiedades de la célula para formar biopelículas:

- Las prolongaciones de las bacterias como: flagelos y fimbrias ayudan a la adhesión celular y afectan al grado de unión entre las bacterias y la superficie de contacto.
- Los pili mediante el proceso de conjugación estimula el desarrollo de biopelículas.
- La presencia de polisacáridos en la superficie externa de la célula ayuda a facilitar la adherencia de las bacterias a las superficies.
- La “comunicación celular” o “quórum sensing (QS)” es un mecanismo utilizado por las bacterias para determinar los cambios en su entorno y aplicar estrategias específicas que le permiten la adaptación ambiental en el espacio y el tiempo. Los microorganismos que utilizan este tipo de QS suelen crecer de forma sigilosa mientras la densidad poblacional es baja; una vez alcanzada una alta densidad poblacional los autoinductores iniciaran la liberación de polímeros formando una red que permitirá agrupar a toda la población y adherirse a una superficie, (Rodríguez, Frizzo, & Espinoza, 2020, pp. 24-28).

1.5.1.2. Propiedades de la superficie

Los factores que mayormente destacan en la formación de biopelículas incluyen:

- Hidrofobicidad
- Limpiabilidad
- Resistencia al desgaste
- Rugosidad superficial, los autores (Verran & Whitehead, 2016, p. 27) han determinado que aquellas superficies más rugosas tienen la capacidad de retener una mayor cantidad de microorganismos. Por ejemplo, mediante microtopografía de una muestra de acero inoxidable se observó la existencia de grietas superficiales proveyendo mayor área para la adhesión celular y, posiblemente protección frente la limpieza.

La energía libre superficial es uno de los parámetros que mayor relevancia aporta en la adhesión de bacterias hacia superficies, existen superficies como el acero inoxidable y el oro con una alta energía superficial y otras como la resinas con más baja energía superficial, lo que podría modificar la adhesión bacteriana. Una alta energía superficial del sustrato favorecería unas condiciones de hidrofilia y una baja energía superficial la hidrofobia. Si la energía superficial de la bacteria es superior que la superficie, la adhesión se ve favorecida por la hidrofilia. Sin embargo, para la hidrofobia, la energía superficial de la bacteria debe ser menor que la del medio para favorecer la adhesión, (Ábalos, 2016, p. 23).

(Lopez & Ortiz, 2020, p. 1) menciona que, el tipo de material también influyera en la adhesión celular, disgregación de la biopelícula y la transferencia de las células al alimento. La adhesión al acero inoxidable es más débil que la adhesión a diferentes tipos de plástico como el cloruro de polivinilo, por lo que la transferencia es mayor desde el acero inoxidable que desde el cloruro de polivinilo. A pesar de que el acero inoxidable suele presentar una elevada resistencia a la corrosión, no hay ningún material que no sufra el deterioro. Las células bacterianas se pueden incorporar a las estrías microscópicas producidas por la corrosión y comenzar el desarrollo de biopelículas resistentes a la desinfección.

1.5.1.3. Propiedades del medio

- Nutrientes
- pH
- Temperatura

El crecimiento de una biopelícula está limitado por la cantidad de nutrientes que se encuentran en el medio y para conocer el tipo de biopelícula que se puede formar. En la industria cárnica se dan niveles muy altos de nutrientes por lo que facilita la formación y adhesión de biopelículas en superficies de procesado (Ofek & Doyle, 2017, p. 19), observaron que la carga del fluido puede afectar la interacción entre la célula y la superficie.

Se considera que el pH tiene una gran influencia sobre el crecimiento de bacterias, varios estudios han demostrado que un aumento gradual de la acidez da lugar a que la supervivencia bacteriana sea mayor en comparación a un aumento repentino por la rápida adición de ácido clorhídrico, esto manifiesta que los microorganismos poseen mecanismos para que la población bacteriana se adapte a pequeños cambios en el pH, (Trujillo, 2017, pp. 12-13).

La temperatura es posiblemente el factor más influyente en el crecimiento de microorganismos ya que estos tienen la capacidad de desarrollarse y adaptarse fácilmente a cambios en su entorno, pueden vivir en un rango muy amplio de temperatura siendo un factor que afecta a los procesos microbiológicos, velocidad de reacción de las enzimas en el metabolismo bacteriano y, por tanto, afectara fisiológicamente y bioquímicamente a las células cuando forman una biopelícula, sostiene (Mconer, V, & A., 2015, p. 8).

Algunos autores han determinado el incremento de bacterias en verano ya que estas crecen en un rango de temperatura de 15 a 50 °C, en el que a mayor temperatura mayor desarrollo y crecimiento de microorganismos, (Islam, 2015, p. 9) plantea que, aunque tienen biopelículas aisladas en varios meses del año durante mayo / agosto, el grado de aislamiento es significativamente mayor, lo que coincide con el mes más caluroso en Bangladesh.

1.6. Etapas de la formación de Biopelículas

La formación de biopelículas sobre superficies es una estrategia adaptativa, para que estas biopelículas se desarrollen estas dependen de una serie de factores, como los recursos y nutrientes presentes, condiciones ambientales, propiedades y metabolismo de las bacterias, la comunicación celular y la regulación genética. El desarrollo de biopelículas se ha dividido en las siguientes etapas como se observa en la siguiente figura:



Figura 1-1. Esquema representando las etapas presentes durante el desarrollo de una biopelícula sobre un sustrato.

Fuente: Caroline, 2013

1.6.1. Adhesión bacteriana

Consiste en el encuentro entre una superficie y bacterias planctónicas a partir de una serie de variables físico-químicas que dan lugar a la interacción entre la pared bacteriana y la superficie en cuestión. Inicialmente, la bacteria debe acercarse a la superficie, ya sea directamente por quimiotaxis, o por una corriente o por la movilidad de la propia bacteria; cuando el microorganismo se encuentre a menos de 1 nanómetro (nm) de la superficie se produce la unión gracias a las fuerzas atractivas o repulsivas en ambas superficies. Esta unión es totalmente reversible, (Trujillo, 2017, pp. 7-8).

1.6.2. Adhesión bacteriana secundaria

Menciona (Caroline, 2013, pp. 7-15) que, la unión antes mencionada se consolida con la producción bacteriana de exopolisacáridos, que se acoplan a materiales superficiales mediante ligandos específicos ubicados en los pili, fimbrias y bacterias en proceso de adhesión. En esta etapa la unión es irreversible, el microorganismo queda unido a una superficie inerte permanentemente. En esta fase, las bacterias planctónicas se pueden unir unas a otras (Co-agregación) y a diferentes especies que estén ya unidas al material (Co-adhesión), formando las microcolonias de sustrato.

1.6.3. Maduración de la biopelícula

Cuando finalmente la bacteria se ha unido de forma irreversible, comienza el proceso de maduración de la biopelícula. Las bacterias se dividen activamente y los compuestos extracelulares creados por ellas mismas interactúan con las moléculas orgánicas e inorgánicas del medio creando así, la glicocálix (material exudado polimérico extracelular compuesto por proteínas y carbohidratos producido por algunas bacterias y células como las epiteliales de las superficies mucosas), (Carrillo Raul, 2016, pp. 132-133).

1.6.4. Desprendimiento activo

Para que una biopelícula alcance el equilibrio dinámico, las capas más externas de ésta comienzan a generar células planctónicas metabólicamente activas y capaces de dividirse, las cuales colonizarán nuevas superficies. Esta liberación puede ocurrir por dos mecanismos, (González E., 2016, pp. 19-23):

- Erosión (Pérdida de células individuales).
- Migración (Pérdida de agregados mayores).

1.7. Estructura y composición de las biopelículas

Una biopelícula típica está formada principalmente por los siguientes elementos:

- Agua hasta un 97% del contenido total.
- Microorganismos de un 15-20% del volumen.
- Matriz de naturaleza polimérica, entre un 75-90% del volumen de una biopelícula madura. Conteniendo en mayor cantidad exopolisacáridos y en menor cantidad macromoléculas como proteínas, lípidos, minerales y ADN microbiano procedentes de la lisis de las bacterias, como se observa en la siguiente figura:

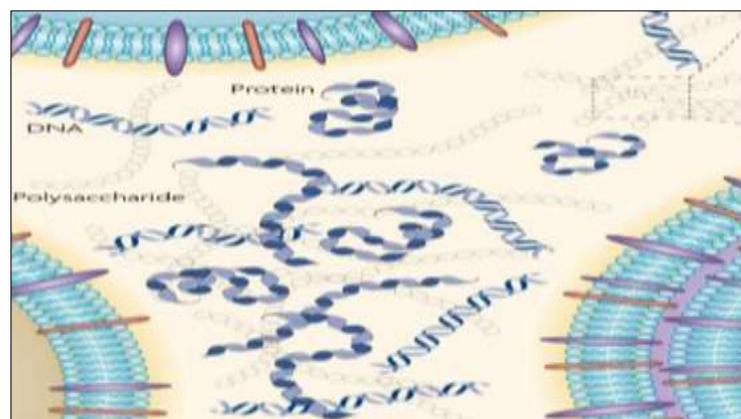


Figura 2-1. Distribución de los componentes mayoritarios de la matriz de una biopelícula bacteriana.

Fuente: Lorenzo, 2015

Esta matriz de exopolisacáridos tiene la función de retener y mantener cerca a los macroorganismos entre sí, dicha matriz además protege a los microorganismos frente a la desecación, radiación ultravioleta, algunos antibióticos, biocidas, oxidantes, cationes metálicos y defensas inmunes, (Alfricia Villamil, 2012, p. 6).

A continuación se describen algunos de los componentes mayoritarios de la matriz de la biopelícula.

1.7.1. Agua

El componente que en mayor proporción se encuentra en la biopelícula es el agua; (Firestone, 2021, pp. 7-8) menciona que, esta se encuentra internamente como una red de canales de agua que sirven como un sistema circulatorio básico, actuando como medio de transporte de nutrientes y de remoción de productos de desecho. Esto ocurre gracias a que el agua es predominantemente

aniónica, de manera que atrapa los nutrientes y minerales del entorno externo de la biopelícula. Por lo que los canales de agua son, en esencia, la línea de vida del sistema, como se muestra en la siguiente figura:

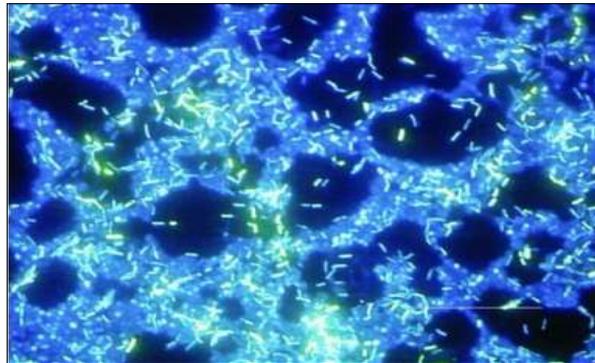


Figura 3-1. Biopelícula desarrollada en una superficie de acero inoxidable en un sistema de agua potable. Canales de H²O.

Fuente: Ibañez, 2018

1.7.2. Exopolisacáridos

Los polisacáridos constituyen una fracción mayoritaria de la matriz extracelular, se tratan de moléculas largas, lineales o ramificadas, que poseen una masa molecular de alrededor de 10⁶, consistentes en una mezcla de azúcares neutros y cargados, de forma que dan lugar a heteropolisacáridos. También pueden contener sustituyentes orgánicos o inorgánicos que afectan significativamente sus propiedades físicas y biológicas sostiene (Ábalos, 2016, p. 12).

Los exopolisacáridos cumplen diferentes funciones esenciales para la formación y desarrollo de biopelículas, como la adhesión a superficies y al mantenimiento estructural. Su naturaleza química puede cambiar ya que depende de los microorganismos que la conformen, existiendo en algunas biopelículas de especies mixtas células incapaces de generar exopolisacáridos, (Nazar, 2007, p. 6).

1.7.3. Proteínas extracelulares

- Las proteínas enzimáticas tienen funciones que permiten la supervivencia de las biopelículas y de las células alojadas, permitiendo el acceso a nutrientes, ayudando a la regulación de la integridad o la estabilidad de la biopelícula.
- Las proteínas no enzimáticas de la matriz, tales como las agrupadas a las paredes celulares o las lectinas (proteínas de unión a carbohidratos), están involucradas en la formación y estabilización de la red de polisacáridos de la matriz y constituyen un enlace entre la superficie bacteriana y las (EPS) extracelulares.

Por último, los apéndices proteicos, tales como pili, fimbrias y flagelos, pueden también actuar como elementos estructurales mediante su interacción con otras (EPS) de la matriz de la biopelícula manifiesta, (Penadés, 2006, p. 10).

1.7.4. Tensioactivos y lípidos

(Somolinos & Garcia, 2010, pp. 2-9) sostienen que, además de las moléculas hidrofílicas como los polisacáridos, ADN y proteínas, existen en la matriz de la biopelícula otras EPS con propiedades hidrofóbicas. Este carácter hidrofóbico ha sido asociado a sustituyentes metilo y acetilo en polisacáridos o a lípidos, que son cruciales para la adherencia de las bacterias a superficies hidrófobas.

Además, otras EPS con capacidad tensioactiva, como surfactina, viscosina y emulsan, pueden esparcir sustancias hidrofóbicas y facilitar su disponibilidad. Los biotensioactivos han sido reconocidos como elementos que causan la formación inicial de microcolonias, facilitando la migración de bacterias asociadas a la superficie y la formación de estructuras con forma de champiñón, previniendo la colonización de canales y contribuyendo a la dispersión de la biopelícula, (Trujillo, 2017, p. 11).

1.7.5. ADN extracelular (eADN)

El ADN extracelular (eADN) compone una parte integral de la matriz de la biopelícula y de su forma de vida. (Whitchurch & Nielsen, 2015, p. 2) mencionan que, se ha comprobado que el eADN es un componente mayoritario en la matriz de la biopelícula de *P. aeruginosa*, donde actúa como conector intercelular. En biopelículas de otras especies, eADN actúa como adhesivo o incluso como antimicrobiano, causando lisis celular mediante la quelación de cationes que estabilizan lipopolisacáridos y la membrana externa bacteriana.

1.8. Resistencia de las biopelículas

(Lopez & Ortiz, 2020, p. 5) manifiesta que, la resistencia de las biopelículas depende de los atributos de la propia biopelícula, como la matriz EPS, que puede restringir la entrada del antimicrobiano y la presencia de diferentes microambientes en los que los antimicrobianos pueden ser antagonizados. En cambio, la resistencia de las células viene dada por factores intrínsecos de cada cepa bacteriana, como la concentración mínima del antimicrobiano necesario para inhibir la propagación bacteriana, que puede aumentar por mutación o por la adquisición de genes de resistencia por transferencia genética horizontal.

Se describirán tres mecanismos de tolerancia o protección:

1.8.1. Bloqueo

El exopolímero tiene el trabajo de proteger a la biopelícula como también de la dispersión de sustancias nutritivas, del acceso de los biocidas y de la desecación, pero, el ingreso a las zonas más profundas es limitado gracias a su organización estructural y a que la biopelícula en su interior posee diversos ambientes donde su pH, disponibilidad de oxígeno y concentración de nutrientes es variada. En el caso del oxígeno, existen partes de la biopelícula que poseen una limitada cantidad de oxígeno y es ahí donde se albergaran microorganismos anaerobios. La difusión restringida es uno de los fenómenos que proporciona a las células de la biopelícula una resistencia o protección extra frente a circunstancias adversas del entorno como la exposición a sustancias antimicrobianas, (Barroso, Maia, & Cabrita, 2019, p. 16).

1.8.2. Protección mutua

(Ruiz, 2015, p. 8) menciona, otra particularidad exclusiva de las biopelículas polimicrobianas son los efectos cooperativos de protección que diferentes especies de bacterias ejercen entre sí. Por ejemplo, las bacterias resistentes a los antibióticos pueden segregar enzimas protectoras o proteínas fijadoras de antibióticos que pueden proteger a las bacterias colindantes no resistentes a ese antibiótico en una biopelícula.

1.8.9. Hibernación (bacterias inactivas)

Se refiere a que una subpoblación de bacterias se convierte metabólicamente inactiva (hibernación). Para que los antibióticos pueden ocasionar efecto estas requieren de bacterias metabólicamente activas, ya que en muchas ocasiones emplean como dianas sus sistemas enzimáticos. Por lo que, una bacteria metabólicamente inactiva carecerá de las dianas pertinentes para la acción del agente antimicrobiano, (Phillips PL, 2015, pp. 5-8).

1.9. Biopelículas en la industria cárnica

Tradicionalmente se creía que la principal fuente de contaminación en la industria cárnica era durante el sacrificio de los animales; sin embargo, (Canet, 2020, p. 3) ha comprobado que también las propias instalaciones de la industria favorecen al desarrollo de las biopelículas. En los ambientes de la industria cárnica lo más frecuente es encontrar biopelículas mixtas formados por una sola especie patógena (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* o *Listeria monocytogenes*) y

diferentes no patógenas (*Staphylococcus*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, entre otros); dado que en el ambiente los organismos comensales o alterantes son más comunes que los organismos patógenos, estos pueden DESARROLLAR BIOPELÍCULAS en distintas áreas, incluidos los suelos, paredes, tuberías, maquinas, utensilios, etc.

Las proteínas presentes en la carne como: fibronectina, laminina y colágeno podrían interactuar con las biopelículas presentes en las superficies de procesado ayudando a su adherencia. Los residuos orgánicos de la industria cárnica presentan una fuente de acumulación de microorganismos y la consecuente formación de biopelículas convirtiéndose en una fuente de contaminación cruzada, (Srey & Kabir, 2013, p. 3).

(Rodríguez, 2012, pp. 35-37) menciona que, la carne suministra un buen sustrato para el crecimiento de microorganismos, tanto alterantes como patógenos, ya que posee una elevada actividad de agua (0,99), es rica en proteínas, lípidos, diversos componentes solubles de bajo peso molecular, vitaminas y minerales y contiene una pequeña concentración de carbohidratos (0-1,2 %). Además, la carne es susceptible de contaminaciones cruzadas durante las operaciones de sacrificio, carnización, procesado y almacenamiento.

La adhesión de bacterias a superficies en contacto con el alimento o con el producto, conlleva serios problemas higiénicos y numerosas pérdidas económicas por los productos que se llegan a desechar; por este motivo es preciso eliminar todos los microorganismos de las superficies en contacto con los alimentos, antes que contaminen y establezcan una biopelícula que servirá como reservorio. Las biopelículas formadas sobre las carnes crudas y en el entorno del proceso (superficies, utensilios e instrumentos) aumenta las probabilidades de contaminación cruzada y contaminaciones posteriores, (Téllez, 2010, p. 1). Además del riesgo de contaminación, el desarrollo de biopelículas puede interferir en diferentes procesos y causar daños en los equipos.

1.9.1. Principales problemas que causan las biopelículas en la Industria cárnica

Las biopelículas son comunidades complejas de microorganismos capaces de colonizar y adherirse sobre casi cualquier tipo de superficie formando biopelículas. La amenaza de estas estructuras microbiológicas es el doble porque producen el deterioro de productos o superficies en las que se desarrollan; cuando las biopelículas están formadas por microorganismos de naturaleza patógena, son motivo de gran preocupación en la industria cárnica ya que suponen una fuente de contaminación de los productos y un riesgo para la salud pública, (Martinez Joaquin, 2020, p. 6).

En las industrias y en la industria cárnica es de interés que no ocurra una adherencia de las células bacterianas a una superficie metálica ya que esto resulta en biocorrosión y logra dañar las líneas de tuberías lo cual representa un gasto de millones de dólares por reparaciones, (Palmer, Flint, & Brooks, 2007, p. 13). Hoy en día, las industrias alimentarias suman a su lista de cuidados que no ocurra adherencia de patógenos transmitidos por alimentos en las superficies con mayor contacto a los alimentos por motivos de salud pública además de económicos al verse obligados a hacer remplazos de materiales por biocorrosión.

Los principales problemas originados por la presencia de biopelículas son:

- Contaminación del producto, pérdida de calidad y vida útil del mismo.
- Infecciones o enfermedades cuando están presentes microorganismos patógenos.
- Obturación de conducciones y tuberías, produciendo la reducción de la velocidad de flujo y aumento de costes en energía.
- Obturación y deterioro de membranas, produciendo la reducción de permeabilidad.
- Reducción de la transferencia de energía y eficiencia energética.
- Corrosión de superficies metálicas, cuando crecen en la biopelícula bacterias sulfato-reductoras o productoras de ácido, (Martinez, 2015, p. 3).

La gran mayoría de especies bacterianas tienen la capacidad de formar biopelículas, algunos géneros lo forman más fácil como es en el caso de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter jejuni*; siendo las mismas las principales bacterias que se encuentran en la industria cárnica y son de vital importancia en relación con la seguridad alimentaria:

1.9.1.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es una bacteria Gram positiva que puede producir una infección peligrosa llamada listeriosis, que puede llevar a circunstancias graves de la enfermedad, tales como septicemia, encefalitis, meningitis, abortos y muertes. *L. monocytogenes* puede crecer en presencia de altas condiciones de sal o temperaturas de refrigeración, permaneciendo viable en diversos productos alimenticios hasta el final de su vida útil, (Camargo, Woodward, Call, & Nero, 2017, p. 14).

(Téllez, 2010, p. 1) manifiesta que, es un patógeno que puede formar biopelículas en un lapso corto de tiempo capas de proliferarse y unirse a una superficie viva o inerte (acero inoxidable, plástico, vidrio y cemento) en ambientes fríos y húmedos, utilizan sus flagelos, pilis y proteínas de

membrana para iniciar su adhesión. Se ha observado que *Listeria* muestra mayor adhesión cuando está en la fase de mayor actividad metabólica.

1.9.1.2. *Salmonella spp.*

Pertenece al grupo de bacterias gram negativas con un efecto patógeno tanto para humanos como animales; capaces de formar biopelículas en distintas superficies como acero inoxidable, plástico, vidrio, cemento, mármol y granito, las cuales se encuentran normalmente en granjas, mataderos, industria de alimentos, cocinas, entre otros. (Siuce, Maximiliano, Urtado, Rosadio, & Maturrano, 2021, pp. 7-9) argumentan que, esto se debe a que posee estructuras de superficie, como la SEF 17 *fimbriae*, que les facilitan la adhesión a las superficies inanimadas, proporcionando a las células cierta capacidad de resistencia frente a fuerzas mecánicas.

Investigaciones recientes han demostrado que *Salmonella*, *E. coli* y muchas otras enterobacterias producen celulosa que se entreteje con otros componentes extracelulares para formar estructuras tridimensionales, para conferir adhesión a las superficies y promover las interacciones célula-célula y proteger las células del entorno desfavorable, (Fernandez, 2020, p. 5).

1.9.1.3. *Escherichia coli*

Para la formación de biopelículas, *E. coli* emplea flagelos, pilis y proteínas de membrana para iniciar la adhesión. Cuando ya está unida a la superficie pierde sus flagelos e incrementa la producción de sustancias poliméricas extracelulares, se ha demostrado que la formación de biopelículas proporciona una mayor resistencia a *E. coli* O157:H7 cuando se expone a soluciones de hipoclorito, uno de los desinfectantes de mayor uso en la industria alimentaria (Téllez, 2010, p. 1).

1.9.1.4. *Pseudomonas spp.*

Son bacterias muy ubicuas presentes en una variedad de ambientes, producen una gran cantidad de sustancias poliméricas que les permite unirse a superficies inertes como el acero inoxidable, este grupo de bacterias dentro de la biopelícula puede coexistir con *Listeria*, *Salmonella*, y otros patógenos para formar biopelículas multiespecíficos mucho más estables y resistentes. (Gutiérrez, Andrea, & Sánchez, 2017, pp. 26-32).

1.9.1.5. *Campylobacter jejuni*

Campylobacter es el principal agente causante de gastroenteritis transmitida por los alimentos, en países desarrollados, y presenta una prevalencia importante en los países en desarrollo. De manera general, es aceptado que los alimentos de origen aviar son una fuente importante de infección por *Campylobacter* en humanos; y para los casos de infecciones por *Campylobacter jejuni*, el consumo de carne de pollo se ha establecido como el principal factor de riesgo, (Itram Higiene, 2020, p. 5).

(Salcedo, 2020, p. 6) menciona que, *Campylobacter* tiene la capacidad de sobrevivir a ambientes de alto estrés ya que tienen la capacidad de formar biopelículas mono-especies o integrarse a biopelículas ya existentes. El microambiente creado en el interior de la biopelícula, protege a *C. jejuni* de su inactivación por la presencia de oxígeno. Se ha demostrado que esta bacteria en el interior de la biopelícula es capaz de sobrevivir durante una semana a 10 °C, con escasos niveles nutritivos y en condiciones atmosféricas normales, a pesar de su sensibilidad a este tipo de ambientes.

(Silván, 2017, p. 1) señala que, también se ha observado que *C. jejuni* desarrolla biopelículas más rápidamente bajo las condiciones aeróbicas más estresantes (20% O₂) que en condiciones de microaerofilia (5% O₂, 10% CO₂), lo que muestra la capacidad de este microorganismo de adaptar las condiciones propias de la biopelícula en su beneficio, actuando como reservorio de células viables.

1.10. Métodos de control y eliminación de biopelículas

Las biopelículas una vez implantadas son difíciles de erradicar, por lo que es mucho más eficaz prevenir su formación mediante un plan de limpieza y desinfección (L+D) adecuado, por lo que es importante conocer la naturaleza tanto de la suciedad como de los microorganismos que se desean eliminar. Es necesario que el diseño de los equipos y la planta cumplan con altos estándares de calidad, salubridad e inocuidad es decir que cumplan con el “Reglamento de Buenas Prácticas para Alimentos Procesados” establecido en el Decreto Ejecutivo 3253 y publicado en Registro Oficial 696 del 4 de noviembre del 2002, (Oliva, 2016, p. 11).

En función de todos estos factores se debe diseñar un plan que incluya los productos más adecuados, la concentración, la frecuencia y las condiciones de aplicación. Los sistemas de limpieza y desinfección mal diseñados pueden contribuir no sólo a un control ineficiente sino incluso al incremento de la resistencia de las biopelículas. La mayoría de los regímenes de

limpieza incluyen la eliminación con agua o vapor de agua tibia o caliente seguido de la aplicación de agentes químicos, enjuague y saneamiento, (Trujillo, 2017, pp. 23-24). La limpieza se puede lograr mediante el uso de productos químicos o la combinación de fuerza química y física (turbulencia de agua o fregado).

La mayoría de agentes utilizados en la industria son compuestos alcalinos que actúan como detergentes para la grasa y las proteínas, estos se pueden usar en combinación con agentes secuestrantes o quelantes y agentes humectantes aniónicos (compatibles con los compuestos ácidos o alcalinos), entre los principales agentes antimicrobianos convencionales empleados en los sistemas de limpieza se encuentran el yodo, hipoclorito, ácido aniónico, ácido peroxiacético y amonio cuaternario, llegando a eliminar el 90% o más de los microorganismos asociados a las superficies de contacto, pero no siempre resulta posible lograr su total eliminación, (Casarin & Brandeli, 2016, p. 18).

En la actualidad, como opción al uso de desinfectantes químicos tradicionales, se está estudiando la eficacia de algunos antimicrobianos de origen natural. Respondiendo así a la demanda de los consumidores por productos alimenticios más seguros, naturales y saludables, y al naciente crecimiento negativo y apreciación de los consumidores contra los productos químicos sintéticos, lo que se está desplazando el esfuerzo de investigación hacia alternativas naturales (Bonilla, Monroy, & Arrieta, 2021, p. 7).

Las soluciones innovadoras para el control y eliminación de biopelículas pasan por:

- El cuidado y desarrollo de estrategias de diseño higiénico de procesos, estamos refiriéndonos a acciones preventivas que permitan disponer de unas condiciones de trabajo higiénicas de manera que se minimice el riesgo de contaminación del producto. Por ejemplo, ángulos que faciliten la limpieza, evitar zonas muertas, uniones estancas e higiénicas, maquinaria autodrenable, (Silván, 2017, p. 1).
- Sistemas de gestión eficaz de limpieza y desinfección. De manera que todos los equipos se mantengan en adecuado estado de conservación removiendo los residuos y suciedades que puedan ser fuente de contaminación.
- La monitorización y análisis riguroso de la estructura y topografía de las biopelículas. Para ello es necesario analizar la composición en cuanto a microorganismos y sustancias que los sostienen, así como la disposición y viabilidad celular. Para ello se recurre a métodos noveles como:
 - La tinción con marcadores fluorescentes.
 - La observación microscópica de las biopelículas.

- Sensores de superficie y biosensores.
- Evaluación de la eficacia de tratamientos biosidas frente a biopelículas, entre otros:
 - Detergentes químicos o enzimáticos específicos para la eliminación de biopelículas.
 - Nuevos materiales de mayor resistencia a la proliferación de biopelículas y/o con propiedades antimicrobianas.
 - Procedimientos o estrategias antimicrobianas: radiación, UV, desecación, ozono.
 - La monitorización de la aplicación de microorganismos bacteriófagos (fagos) que los eliminen, (Martinez, 2015, p. 1).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Búsqueda de información bibliográfica

La compilación de la información se obtuvo de plataformas digitales tales como: Google académico, Scielo, Science Direct, Revista de microbiología aplicada, Polo del conocimiento, PubMed, Dialnet, Repositorio institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en la base DSpace ESPOCH, también de repositorios institucionales a nivel nacional tales como: de la Universidad Nacional de Chimborazo, Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Universidad Técnica de Ambato, Universidad Técnica de Machala, Universidad Central del Ecuador, y en instituciones internacionales de países como: Universidad de Santiago de Compostela (España), Universidad Nacional de la Plata (Argentina), Universidad Autónoma de Barcelona (España), Universidad Complutense de Madrid (España), Universidad de Chile (Chile), Universidad de La Laguna (España).

Los documentos y textos que se utilizaron en la presente investigación fueron publicados en diferentes años, tomando en cuenta que la mayoría debe ser información actual, el 80% son desde el año 2010 hasta la actualidad, y el otro 20% son de años que va de 2006 hasta el año 2010, permitiendo así obtener una adecuada información.

2.2. Criterios de selección

Los criterios de selección de información se basaron principalmente en el título del trabajo, palabras claves, los resultados obtenidos la mayoría se encontraban en idioma español, y en inglés que fueron traducidos, los intervalos de los años de publicación fueron desde 2015 a la actualidad, y que para ampliar la información se buscó de años atrás, que brindan información relevante, la información en algunas ocasiones no procede de fuentes confiables

Con estos parámetros se recopiló las principales fuentes empleadas en el presente trabajo que se detallan a continuación:

En cuanto a las biopelículas:

- Mosqueda (2015, pp. 12-30): Evaluación de la formación de biopelículas de *Salmonella* sp. en equipo de procesamiento cárnico de acero inoxidable.

- Sarti, Miguez, & Cura (2019, pp. 6-10): Optimization of the culture conditions for the development of a bacterial biofilm and its application as a biofertilizer in *Solanum lycopersicum*.
- Donlan & Costerton (2015, pp. 167-193): Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms.
- Giaouris, Chorianopoulos, & Doulgeraki (2013, p. 17): Co-Culture with *Listeria monocytogenes* within a Dual-Species Biofilm Community Strongly Increases Resistance of *Pseudomonas putida* to Benzalkonium Chloride.
- Caldas (2015, pp. 15-17): Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los biofilms y su repercusión en la seguridad alimentaria.

Referente a los efectos que causan las biopelículas sobre la inocuidad alimentaria tenemos:

- Lapiere (2017, pp. 5-8): Epidemiología, transmisión y control de *Campylobacter spp.*
- Juárez (2020, pp. 12-15): Impacto de la contaminación por *Salmonella spp.*
- Diaz (2020, p. 1): Ranking de los países europeos con mayor número de casos de infección por *E. coli* verotóxica en 2017.
- Milvaques (2019, pp. 32-36): Listeriosis en Europa: los casos más recientes.

En cuanto a los métodos de control y eliminación de biopelículas tenemos:

- Bonilla, Monroy, & Arrieta (2021, p.7): Eliminación de biopelículas mediante antimicrobianos naturales en superficies de proceso en la industria alimentaria.
- Silva (2019, p.1): Actividad antimicrobiana y anti-biofilm de compuestos de aceites esenciales en cepas de *Escherichia coli* presentes en la Industria Cárnica.
- Fernández (2015, pp. 18-23): Eliminación de biopelículas microbianas mediante el uso de compuestos antimicrobianos de origen natural.
- Grao (2016, pp. 13-16): Efectos combinados del carvacrol y citral en la eliminación de biopelículas.
- Alba (2015, pp. 39-47): Estudio de la efectividad de enzimas sobre biofilms mixtos de *Listeria monocytogenes*.

2.3. Métodos de sistematización de la información

Para el siguiente trabajo tipo bibliográfico se empleó la técnica de “Recopilación y selección de la información” con un criterio de selección, discriminando información que no contribuya para la comprensión del trabajo. La información obtenida se ordenó de la manera más adecuada resumiéndola, mediante tablas en formato Excel y en formato Word, para que sea lo más comprensible.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS DE INVESTIGACIONES Y DISCUSIÓN

Los resultados que se obtuvieron de las investigaciones realizadas son expuestos en las siguientes tablas:

3.1. Causas y elementos que constituyen las biopelículas en las superficies de procesado en la industria cárnica.

Muchas son las causas y elementos que pueden influir en el desarrollo de biopelículas en las superficies de procesado en la industria cárnica, algunas de las variables más destacadas que intervienen en el proceso de adherencia y crecimiento de las biopelículas se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1-3: Variables más destacadas que intervienen en el desarrollo de biopelículas en las superficies en la Industria Cárnica.

REFERENCIA	FACTORES QUE INTERVIENEN	PARÀMETROS	DESCRIPCIÓN
Mosqueda (2015)	Características de la superficie de unión	Hidrofobicidad Rugosidad de la interfaz Textura	Impactan la formación de biopelículas y, por lo tanto, afectan al estado de higiene general de la superficie. Juegan un papel importante en la fijación inicial de las células.
Sarti, Miguez, & Cura (2019)	Componentes de la matriz alimentaria	Desperdicios de alimentos	Los desperdicios de carne, facilitan el crecimiento y la multiplicación de microorganismos favoreciendo el desarrollo de biopelículas especialmente de dos especies: <i>E. Coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .
Donlan & Costerton (2015)	Propiedades del fluido	Ph Velocidad del flujo Disponibilidad de nutrientes Temperatura Humedad	Estas se correlacionan con la velocidad de reacción de las enzimas, en el metabolismo bacteriano, y, por lo tanto, afecta el desarrollo de muchos procesos fisiológicos y bioquímicos de las células cuando forman las biopelículas.
Giaouris, Chorianopoulos, & Doulgeraki, (2013) y Caldas (2015)	Composición y diversidad microbiana (Industria)	Componentes de la membrana celular Apéndices (pili, flagelos, fimbrias) EPS secretados por bacterias	Las estructuras bacterianas como pilis y fimbrias interviene en la adhesión, motilidad y comunicaciones intercelulares. La interacción entre proteínas bacterianas y proteínas o carbohidratos situados en la superficie.

Fuente: ¹Mosqueda (2015), ²Sarti, Miguez, & Cura (2019), ³Donlan & Costerton (2015), ⁴Giaouris, Chorianopoulos, & Doulgeraki, (2013), ⁵Caldas (2015).

Realizado por: Galeas Dutan Jennyfer (2021)

Mosqueda (2015, pp. 12-30), realizó un estudio donde experimento con diferentes tipos de aceros inoxidable: acero inoxidable 304, acero inoxidable 316 y acero inoxidable 316 pulido con el fin de determinar la influencia que posee el material de la superficie en el desarrollo de biopelículas. Donde, observo la cinética de crecimiento de las biopelículas de *Salmonella heilderbeg* en un periodo de 24 horas donde no obtuvo diferencias significativas para ninguno de los tres aceros.

Mediante microscopía electrónica de barrido evaluó la morfología y estructuras de las biopelículas en los tres aceros (304, 316 y 316 pulido) donde aprecio que en el acero 304, a las 24 h ya había formación de biopelículas donde las sustancias poliméricas extracelulares ya cubrían la gran parte de microorganismos y solo se observan unos cuantos sueltos. Por otro lado, en el acero 316 observo una gran cantidad de células sueltas o agrupaciones pequeñas, distribuidas por toda la superficie del metal.

Finalmente, en el acero 316 pulido se observó una gran cantidad de células unidas entre ellas en unidades pequeñas y estructura plana, sin llegar a ser biopelículas maduras. Manifiesta que esto puede deberse a la diferencia de aspereza que posee la superficie de acero inoxidable 304 en comparación con los otros dos aceros, a escala microscópica se observa, que el acero presenta diminutas oquedades que permiten una mayor retención de bacterias por el incremento del número de puntos de adhesión también, a la escasez de nutrientes acumulados por la falta de rugosidad en los dos aceros inoxidables 316.

Sarti, Miguez, & Cura (2019, pp. 6-10) manifiestan que, un sustrato sea sólido, agua y algunos nutrientes son suficientes para permitir la construcción de una fortaleza microbiana, llamada biopelícula por lo que, realizaron una investigación donde estudiaron la diferencia de crecimiento de biopelículas de *Bacillus subtilis* en diferentes medios de cultivo como peptona, caldo nutritivo, tripteína soja y cerebro corazón a 30°C en condiciones estáticas.

La cantidad obtenida de biopelícula formada, utilizando caldo nutritivo, no mostro diferencia con la peptona y la tripteína soja, pero cuando se usó caldo de cerebro-corazón, el incrementó de biopelículas en comparación con los otros caldos de cultivo fue el triple 2,7 mg de biopelícula/ml cultivo. Nuestro autor concluye que este último caldo de cultivo además de poseer hidrolizados proteicos, contiene otros nutrientes como fosfatos, glucosa y otros, que actúan y favorecen el crecimiento de las biopelículas.

Con respecto a las propiedades del fluido sobre la superficie en la que se va a formar la biopelícula Donlan & Costerton (2015, pp. 167-193) determinaron que las bacterias forman biopelículas preferentemente en ambientes de alta turbulencia. Las células planctónicas pueden adherirse a

superficies e iniciar a formación de biopelículas en presencia de fuerzas de cizalladura que superan el número de Reynolds de 5000. Este estudio demostró que las biopelículas desarrolladas en ambientes de baja turbulencia tiene una baja resistencia a la tracción y se rompen con facilidad, mientras que aquellos formados en entornos de flujo turbulento son más fuertes y resistentes a la rotura mecánica.

Giaouris, Chorianopoulos, & Doulgeraki (2013, p. 17) en un estudio demostraron que en condiciones de especies duales *L. monocytogenes* y *P. putidas* en este caso, la resistencia de las células aumentaba considerablemente gracias a su estructura más compleja. Estos autores indicaron que la resistencia de las biopelículas de especies mixtas de *L. monocytogenes* y *P. putida* aparece estar relacionado con su estructura microscópica y con la asociación entre las especies involucradas debido a la secreción combinada de las distintas sustancias poliméricas extracelulares. Caldas (2015, p. 15-17) manifiesta que la superficie celular como los flagelos, pili, proteínas de adhesión también influyen, los pili actúan como un velcro para anclar las bacterias a algunas superficies y también actúan como quimiorreceptores, dirigiendo a la bacteria hacia algunos sitios específicos.

3.2. Efecto de las biopelículas en las superficies de procesado sobre la inocuidad alimentaria

Las biopelículas formadas en superficies que están en contacto con los alimentos son la principal causa de contaminación del producto final, con una pérdida de calidad y vida útil, además, de provocar infecciones en sus consumidores por microorganismos patógenos. Las principales bacterias patógenas causantes de toxiinfecciones alimentarias se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2-3: Brotes de origen alimentario por bacterias patógenas causadas principalmente por contaminación cruzada

REFERENCIA	ALIMENTOS IMPLICADOS	FUENTE O VÍA PROBABLE DEL BROTE	BACTERIA PATÓGENA	ENFERMEDAD
Lapierre (2017)	Carne de aves cruda o poco cocida y leche sin pasteurizar	Ambiente de procesado	<i>Campylobacter</i>	Campilobacteriosis
Juárez (2020)	Huevos crudos, carne de aves y otros productos de origen animal.	Ambiente de procesado	<i>Salmonella spp.</i>	Salmonelosis
Díaz (2020)	Leche cruda sin pasteurizar y carne poco cocida. También rutas y hortalizas frescas.	Ambiente de procesado y falta de BPH	<i>Escherichia coli.</i>	Infeción

Milvaques (2019)	Productos lácteos sin pasteurizar, frutas, hortalizas, y diversos alimentos preparados.	Ambiente de procesado y mal manejo doméstico	<i>Listeria spp.</i>	Listeriosis
------------------	---	--	----------------------	-------------

Fuente: ¹Lapierre (2017), ²Juárez (2020), ³Díaz (2020), ⁴Milvaques (2019).

Realizado por: Galeas Dutan Jennyfer (2021)

Según datos recopilados por Lapierre (2017, pp. 5-8) *Campylobacter* es considerada la bacteria que causa la mayor cantidad de casos de disentería en el mundo, en el 2018 se reportó 246,571 casos de Campilobacteriosis para la UE, jugando un papel importante en la contaminación cruzada. Más del 90 % de los casos son asociados con consumo de carne no bien cocida, especialmente la de ave. Las formas de alimentación y técnicas de procesamiento son las fuentes más comunes de contaminación pudiendo darse durante la evisceración o en el chiller. La contaminación viene de la superficie, agua, tierra, otros insumos, maquinarias, operarios, etc.

Juárez (2020, pp. 12-15) mediante revisión bibliográfica obtuvo que la *Salmonella* es el segundo microorganismo patógeno causante de infecciones (Salmonelosis) y enfermedades relacionadas con disentería. La contaminación cruzada es la principal causa de intoxicaciones por *Salmonella*, en el año 2018 en la Unión Europea se registraron 91,957 casos. Según el autor estos brotes se relacionan principalmente con productos como carnes, aves y huevos pocos cocidos o contaminados, esta contaminación cruzada ocurre cuando el microorganismo en un alimento o superficie contaminada entra en contacto con otra superficie.

Teniendo en cuenta los datos recopilados por Díaz (2020, p. 1) con mención a *Escherichia coli* tenemos que para el 2017 en la UE surgieron 6243 toxiinfecciones causadas por esta bacteria, esta se encuentra normalmente en los intestinos de las personas y los animales. Normalmente esta se propaga por contaminación cruzada entre superficies, producto y personal operativo mediante uniformes o utensilios, causando en la mayoría de personas diarrea y cólicos estomacales fuertes. Algunas de las formas en las que se puede contagiar es comiendo frutas y verduras contaminadas crudas o sin lavar, beber leche sin pasteurizar, comer carne cruda o no bien cocida, etc.

Según datos recopilados por ⁴Milvaques (2019) *Listeria* es una de las bacterias más preocupantes por las industrias agroalimentarias por su gran resistencia a determinadas condiciones por lo que le convierten en una fuente potencial de contaminación de alimentos. En 2018, en la UE se confirmaron 2549 casos de listeriosis, la listeriosis se contrae normalmente al comer comida contaminada, por ejemplo: alimentos pre cocidos o listos para el consumo, pescados ahumados, carnes, quesos (especialmente los tiernos) y verduras crudas. Más del 90% de los casos de listeriosis corresponde a la ingesta de alimentos listos para el consumo con un nivel de contaminación superior a las 2.000 UFC/g.

3.3. Métodos para la detección de biopelículas en la Industria Alimentaria

El desarrollo de métodos para la detección temprana de biopelículas en superficies de procesado tienen una gran importancia en la prevención de la contaminación cruzada, los cuales se describen en la siguiente tabla:

Tabla 3-3: Métodos disponibles para la detección de biopelículas en Industrias Alimentarias

REFERENCIA	MÉTODO	MATERIAL	DESCRIPCIÓN
Ripolles (2018)	BioFinder	Acero inoxidable Polipropileno	Diseñado para reaccionar con la enzima catalasa positiva presente en las biopelículas, detecta biopelículas de forma visual e inmediata, produciendo una espuma blanca si la reacción es positiva.
Rodríguez (2018)	Bioluminiscencia-ATP	Superficies Equipos	Método que mediante hisopado permite, identificar y corregir rápidamente posibles deficiencias en los protocolos de limpieza y reducir así los riesgos de contaminación microbiana.

Fuente: ¹Ripolles (2018), ²Rodríguez (2018).

Realizado por: Galeas Dutan Jennyfer (2021)

¹Ripolles (2018) utilizó para detectar y revelar biopelículas, se basa en una reacción enzimática que libera oxígeno (espuma blanca) cuando la enzima catalasa positiva de los microorganismos está presente. Evaluó una gama de microorganismos capaces de formar biopelículas; bacterias catalasa-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica ser. Typhimurium* y *Cronobacter sakazakii* fueron empleados, así como la bacteria catalasa negativa: *Lactobacillus brevis*.

Se aplicó 100µl de BioFinder mediante atomización sobre superficies de acero inoxidable y polipropileno observándose, resultados positivos después de 10 min. BioFinder fue capaz de revelar estos patógenos a partir de una carga de 10⁴ UFC/cm² y aunque hubiera microorganismos catalasa negativo este sería capaz de detectar las biopelículas por la estructura multi especies de las biopelículas.

En cuanto ²Rodríguez (2018) utiliza el método de trifosfato de adenosina (ATP) por bioluminiscencia para la detección de microorganismos y carga orgánica presentes en superficies y equipos, mediante un hisopado en superficies y equipos post limpieza y desinfección, se determina mediante un luminómetro la cantidad de trifosfato de adenosina (ATP) presente en la superficie o equipo muestreado. El límite de detección de este método es igual al del BioFinder de 10⁴ UFC/cm².

Se muestreo tres equipos de acero inoxidable mediante un hisopado vertical y horizontal de diferentes equipos: recuperadora de carne, formadora y molino, teniendo lecturas de 5 URL, 9 URL y 0 URL respectivamente encontrándose dentro de los parámetros de validación de limpieza. No obstante, este método no es recomendado para detectar biopelículas dado que todas las células contienen ATP y una lectura positiva indicaría la presencia de cualquier célula, y no solo células bacterianas.

3.4. Métodos de eliminación de biopelículas en la Industria Alimentaria

Se han llevado a cabo varios estudios sobre métodos para eliminar biopelículas los cuales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 4-3: Métodos de eliminación de biopelículas mediante antimicrobianos de origen vegetal (componentes de aceites esenciales) y enzimas

REFERENCIA	MÉTODO	COMPUESTO	MICROORGANISMO	SUPERFICIE	CONCENTRACIÓN	UNIDAD	TIEMPO	pH	t (°C)	RESULTADO				
Bonilla, Monroy, & Arrieta (2021)		Carvacrol	<i>Escherichia coli</i>	Poliestireno	1000	Ppm	60 min	-	37	RL de < 3 ciclos log				
			<i>Listeria monocytogenes</i>	Acero	1000	Ppm					-	Destrucción total		
			<i>Escherichia coli</i>	inoxidable										
Silva (2019)	ANTIMICROBIANO	Timol	<i>Escherichia coli</i>	Poliestireno	0,2	mg/ml	24 h	-	37	Reducción del 80 %				
				Polietileno	0,25	mg/ml				Reducción del 33%				
				Aluminio	0,2	mg/ml				Reducción del 83%				
Fernández (2015)	ANTIMICROBIANO	Citral	<i>Escherichia coli</i>	In vitro	5000	ppm	60 min	7	37	RL de 2 ciclos log				
								4		RL de 4 ciclos log				
Grao (2016)		Citral + Carvacrol	<i>Listeria monocytogenes</i>	In vitro	1000	ppm	60 min	4	45	RL de 5,5 ciclos log.				
								7		RL de 4,5 ciclos log.				
								4		Destrucción total				
Alba (2015)	ENZIMAS	Pronasa	<i>Escherichia coli</i>	Acero inoxidable AISI 316	500, 700 y 1000	(µg/ml)	30 min	7,5	37	RL 0,5; 0,7; 1,2 (log UFC/cm ²)				
		Celulosa						<i>Listeria monocytogenes</i>		500, 700 y 1000	(µg/ml)	6	30-40	RL 0,7; -0,2;-0,2 (log UFC/cm ²)
		DNasa						<i>-Escherichia coli</i>		500, 700 y 1000	(µg/ml)	7-8	32	RL 2; 0,5;0,2 (log UFC/cm ²)

Fuente: ¹Bonilla, Monroy, & Arrieta (2021), ²Silva (2019), ³Fernández (2015), ⁴Grao (2016), ⁵Alba (2015).

Realizado por: Galeas Dutan Jennyfer (2021).

Bonilla, Monroy, & Arrieta (2021, p.7) realizaron un estudio in vitro, utilizando como antimicrobiano carvacrol frente a biopelículas de *Escherichia coli* MG1655 y *Listeria monocytogenes* EGD-e, sobre superficies de acero inoxidable y poliestireno en dosis de 500 y 1000 ppm cada uno por 60 minutos a 37° C, también estudiaron la influencia del pH (4 y 7). Las biopelículas se obtuvieron mediante cultivos en placas de acero inoxidable (AISI 304 y AISI 316) y de poliestireno en estufas de aire estático, durante 72 horas a 37°C.

Transcurrido el tiempo realizaron el conteo y se obtuvo para *Listeria monocytogenes* EGD-e crecidas en poliestireno $>10^6$ UFC/ml 1 ciclo logarítmico mayor al obtenido en el acero inoxidable es decir *L. monocytogenes* tuvo en conteo de $>10^5$ UFC/ml, el pH no presentó ninguna influencia en el crecimiento. Para *Escherichia coli* en placas de poliestireno y acero inoxidable tuvieron un conteo de >5 UFC/ml para ambas superficies donde el pH no tuvo ninguna influencia en el crecimiento.

Obtuvieron que el carvacrol en dosis de 1000 ppm es más eficaz ya que, logro destruir en los dos aceros inoxidables las biopelículas de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* es decir tuvo una reducción microbiana de 5 ciclos logarítmicos, sin embargo, los valores de inactivación en poliestireno para ambas biopelículas fueron inferiores: 3 ciclos logarítmicos. El estudio demostró que las superficies de acero inoxidable favorecen la acción antimicrobiana del carvacrol, lo cual contribuye a ratificar el uso del acero inoxidable como material idóneo para superficies de proceso en contacto con alimentos.

En la investigación de ² Silva (2019) analizó la capacidad del timol como anti-biopelículas frente a biopelículas de *Escherichia Coli*, obtenidas y aisladas de superficies de una industria cárnica, se estudió frente a tres superficies: poliestireno, polietileno y aluminio. En primera instancia se inoculo e incubo las cepas de *Escherichia coli* para luego obtener las biopelículas en las diferentes superficies logrando una concentración de 10^6 UFC/ml. Las concentraciones de timol que nuestro autor utilizo fueron de 0,025; 0,05; 0,15; 0,2 y 0,25 mg/ml respectivamente para cada superficie, estas las aplico directamente a las biopelículas y se dejó actuar por 24 horas a 37° C.

Se obtuvo los siguientes resultados: el poliestireno tuvo una reducción del 80% a 0,2 mg/ml de timol, el polietileno presento una disminución promedio de 33% a 0,25 mg/ml de timol y el aluminio presento un promedio del 83% de reducción a 0,2 mg/ml de timol; concluyendo que el timol presenta más capacidad como antimicrobiano en superficies de aluminio y poliestireno; y presenta menor inhibición de la formación de biopelículas en el polietileno. Manifiesta que podría ser debido a las piezas utilizadas en el ensayo ya que, presentaban bastantes rugosidades en la

superficie, pudiendo haber sido decisivo para la adherencia de las bacterias y la formación de biopelículas.

En el estudio que realizó Fernández (2015, pp. 18-23) evaluó el efecto antimicrobiano del componente de aceite esencial citral frente a biopelículas de *Escherichia coli* MG1655 a dos diferentes pH 7 y 4. Así que, para la formación de la biopelícula se requirió la incubación de los cultivos en placas en estufa de aire estático en una placa de 24 pocillos durante 24 horas a 37 °C, logrando una concentración celular de 10⁵ UFC/pocillo. Determino también la mínima concentración inhibitoria del citral mediante ensayos con diferentes concentraciones, obteniendo que la mínima cantidad es 1000 ppm con la cual procedió a realizar los ensayos en concentraciones de 5 y 10xMIC (mínima concentración inhibitoria).

Para la cuantificación de la capacidad de destrucción del citral frente a biopelículas de *Escherichia coli* se utilizó la técnica del recuento en placa teniendo los siguientes resultados: Citral 5xMIC (pH 7,0) tuvo una reducción de 4 ciclos log; Citral 5xMIC (pH 4,0) redujo 2 ciclos log; Citral 10xMIC (pH 7,0) redujo 4 ciclos log y; Citral 10xMIC (pH 4,0) disminuyo 4 ciclos log. Citral mostro más efectividad a pH neutros; la eficacia del citral *sobre E. coli* en medios de pH neutro ya fue observada y discutida en un estudio previo realizado sobre células planctónicas.

En la investigación de Grao (2016, pp. 13-16) evaluó la eficacia in vitro del carvacrol y el citral en forma combinada frente a biopelículas *Escherichia coli* y *Lissteria monocytogenes*. Para llevar a cabo la formación de la biopelícula se requirió la incubación de los cultivos en placas de 24 pocillos (con 2 mL de TSB por pocillo) en estufas de aire estático, durante 72 horas a 37°C, para determinar la cantidad de microorganismos eliminados se realizó el posterior recuento en placa. En primer lugar, se determinó que la concentración celular inicial en las biopelículas aproximadamente sea de: 10⁷ UFC/pocillo en el caso de *L. monocytogenes* y de 10⁶ UFC/pocillo en el caso de *E. coli*.

La cantidad aplicada en el tratamiento fue seleccionada en base a estudios previos, selecciono una cantidad no muy elevada de 1000 ppm de citrol y 1000 ppm carvacrol combinados; frente a pH neutro 7 y pH ácido 4, obteniendo los siguientes resultados: teniendo que la combinación del carvacrol + citral frente a biopelículas de *L. monocytogenes* a pH 4 tuvo una reducción de 5,5 ciclos log. y pH 7 una disminución de 4,5 ciclos log, la inactivación a pH ácido fue mayor que a pH neutro. Con respecto a las biopelículas de *E. coli* se observó una total destrucción de las biopelículas para ambos pH. Demostrando que la combinación de estos dos constituyentes de los aceites esenciales es más efectiva frente a biopelículas de *E. coli*.

Alba (2015, pp. 39-47) estudió la efectividad de las enzimas (pronasa, celulasa y DNasa) sobre biopelículas mixtas de *Listeria monocytogenes*-*Escherichia coli* formadas en 24 horas a 25° C, sobre cupones de acero inoxidable AISI 316. Las enzimas comerciales las obtuvo disolviéndolas en diferentes medios para conseguir soluciones enzimáticas de 500, 700 y 1000 µg/ml con las cuales realizó la investigación. Tras las 24 horas de incubación de las biopelículas en los cupones de acero inoxidable teniendo un recuento de células de 10⁷ UFC/ml se procedió a adicionar las soluciones enzimáticas, dejándolas actuar por 30 min en las condiciones óptimas para cada enzima (pronasa 37° C-pH 7,5; celulasa 30-40°C-6 pH y DNasa 32°C 7-8 pH).

Finalizado el tiempo determinó el número de células adheridas con la ayuda de un contador de colonias donde *Listeria monocytogenes* resultó ser más sensible a la aplicación de las enzimas que *E. coli*, la DNasa demostró tener un efecto significativamente mayor en ambas cepas en comparación con las otras dos enzimas con máximos de alrededor de 2 log reducidos en el caso de DNasa y valores entre 0,5 y 1 en el caso de pronasa y celulasa pero, sin embargo, solo hasta la concentración de 400 µg/ml de DNasa se logra tener resultados positivos ya que a concentraciones mayores el efecto se invierte y reduce drásticamente su capacidad de limpieza. Lo mismo se puede observar en el caso de la celulasa sobre todo frente a *E. coli*, mientras que el efecto de la pronasa continúa incrementándose a medida que la concentración de la enzima aumenta.

CONCLUSIONES

De acuerdo con las varias revisiones bibliográficas relacionadas con las biopelículas en la industria alimentaria cárnica tenemos las siguientes conclusiones:

- Múltiples son los factores que inciden en el desarrollo de las biopelículas, entre estas tenemos las características de la superficie de unión, componentes de la matriz alimentaria, propiedades del fluido, composición y diversidad microbiana, siendo la rugosidad una de las características de la superficie más influyentes en la retención de bacterias por el incremento de números de puntos de adhesión.
- Las biopelículas en ambientes de procesamiento de alimentos afectan directamente a la inocuidad de sus productos terminados y por consiguiente a la salud de quienes lo consuman puesto que, su integridad como alimento seguro fue alterada por bacterias causando toxiinfecciones en quienes la consuman. Según la información recopilada *Campylobacter*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Listeria spp* son los principales microorganismos contaminantes que se encuentran en las industrias alimentarias formando biopelículas.
- Se ha catalogado a *Campylobacter* como la bacteria que causa la mayor cantidad de casos de disentería en el mundo, asociándola con el consumo de carne de ave contaminada durante procesos industriales, superficies u operarios con deficientes niveles de higiene. Teniendo también que *Listeria spp.*, es uno de los microorganismos que más preocupa al sector alimentario debido a su gran resistencia a ambientes adversos y por ende cuando forman biopelículas resultan una gran amenaza para la industria.
- El producto más adecuado para la detección de biopelículas en superficies de procesamiento es el BioFinder debido a que reacciona con la enzima catalasa positiva presente en algunos microorganismos, produciendo una espuma blanca si la reacción es positiva a partir de una carga microbiana de 10^4 UFC/cm². Siendo adecuado para poder detectar cualquier biopelícula por la uniformidad de microorganismos que la forman.
- El carvacrol (compuesto del orégano) según los datos recopilados es el método que elimina con facilidad y en su totalidad biopelículas de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en acero inoxidable (AISI 304 y AISI 316) en concentraciones de 1000 ppm a 37° C por 45 min.

RECOMENDACIONES

Como recomendación para impedir la formación y desarrollo de biopelículas se puede mencionar:

- Las biopelículas una vez implantadas en una superficie es muy difícil erradicarlas por lo que, es mejor prevenir su formación mediante un plan de limpieza y desinfección adecuado que intente erradicar a los mismos.
- Rotar los productos químicos de limpieza y desinfección para evitar la adaptación de los microorganismos.
- Diseño sanitario adecuado para las instalaciones y equipos, que facilite la limpieza y desinfección de puntos internos o externos de difícil acceso donde pueden desarrollarse las biopelículas.
- Realizar capacitaciones periódicas al personal operativo sobre la importancia de cumplir con todas las normas y protocolos instauradas por la empresa como BPM y BPH para evitar contaminaciones cruzadas en el producto terminado.

BIBLIOGRAFÍA

ÁBALOS, Carlos. "Adhesión bacteriana a biomateriales". *Scielo* [En línea], 2016, (España) 21(1), pp. 12-23. [Consulta: 12 Junio 2021]. ISSN 0213-1285. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852005000100003

ALBA, Justo. Estudio de la efectividad de enzimas sobre biofilms mixtos de *Listeria monocytogenes*. [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de Santiago de Compostela, España. Septiembre de 2015. pp. 39-47. [Consulta: 12 Junio 2021]. Disponible en: https://digital.csic.es/bitstream/10261/162558/1/Estudio_efectividad_enzimas_2015.pdf

ALFRICIA Villamil, HERNÁNDEZ Ana & ESLAVA Carlos. "Producción de biopelículas y resistencia a desinfectantes en cepas de *Salmonella* aisladas de nopal, agua y suelo". *Scielo* [En línea], 2012, (México) 3(6), p. 6. [Consulta: 23 Mayo 2021]. ISSN 2007-0934. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000600001

BARROSO, MAIA & CABRITA. "The benzalkonium chloride resistant or sensitive phenotype of *Listeria monocytogenes* planktonic cells did not dictate the susceptibility of its biofilm counterparts". *Science Direct* [En línea], 2019, (España) 123, p. 16. [Consulta: 20 mayo 2021]. ISSN 0963-9969. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919303114>

BONILLA ESPARZA, Cristian, DIAZ MONROR, Byron & ARRIETA DIAZ, Ronal. "Eliminación de biopelículas mediante antimicrobianos naturales en superficies de proceso en la industria alimentaria". *Polo del conocimiento* [En línea], 2021, (Ecuador) 6(2), p. 7. [Consulta: 2 abril 2021]. ISSN: 2550 - 682X. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiav8v51PxAhVtGVkFHTKZA6gQFnoECAYQAA&url=https%3A%2F%2Fpolodelconocimiento.com%2Fojs%2Findex.php%2Fes%2Farticle%2Fdownload%2F2288%2F4626&usg=AOvVaw1cGQaSbeZYuIQ5gmEt0>

CALDAS, Liliana. "Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los biofilms y su repercusión en la seguridad alimentaria". *Dialnet* [En línea], 2015, (Colombia) 17(1), pp. 15-17. [Consulta: 12 abril 2021]. ISSN 0124-308X. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5816943>

CAMARGO, Anderson; et al. "Listeria monocytogenes in Food-Processing Facilities, Food Contamination, and Human Listeriosis: The Brazilian Scenario". *PubMed* [En línea], 2017, (Brazil) 14(11), p. 14. [Consulta: 5 abril 2021]. ISSN 623-636. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2016.2274>.

CANET, Juan Jose. *Biofilms en la industria alimentaria: casos de éxito* [En línea]. Valencia-España: Betelgeux Christeyns Food Hygiene, 2020. [Consulta: 1 abril 2021]. Disponible en: <https://www.betelgeux.es/blog/2020/02/14/biofilms-en-la-industria-alimentaria-casos-de-exito/>

CAROLINE. *Descripción de biofilms, desarrollo e importancia de su estudio, impacto de las técnicas de micro-nanofabricación en sistemas biológicos* [En línea]. 2013. [Consulta: 7 junio 2021]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/1_-_Descripci%C3%B3n_de_biofilm_desarrollo_e_importancia_de_su_estudio._Impacto_de_las_t%C3%A9cnicas_de_micronanofabricaci%C3%B3n_en_sistemas_biol%C3%B3gicos.pdf?sequence=6&isAllowed=y

CARRILLO Raul, ZEPEDA Adriana & FLORES Oscar. "Glicocálix. Una estructura a considerar en el enfermo grave". *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina* [En línea], 2016, (México) 30(2), pp. 132-133. [Consulta: 3 julio 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medcri/ti-2016/ti162j.pdf pp. 132-133>

CASARIN, Leticia & BRANDELI, Adriano. "Influence of free energy on the attachment of Salmonella Enteritidis and Listeria monocytogenes on stainless steels AISI 304 and AISI 316". *Science Direct* [En línea], 2016, (United State of America) 69, p. 18. [Consulta: 26 junio 2021]. ISSN 0023-6438. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643816300354>

DIAZ. Ranking de los países europeos con mayor número de casos de infección por E. coli verotóxica en 2017. [En línea] 11 de Diciembre de 2020, p. 1. [Consulta: 5 agosto 2021]. Disponible en: <https://es.statista.com/estadisticas/627472/numero-de-casos-de-infeccion-por-e-coli-verotoxica-en-europa-por-pais/>

DOMÍNGUEZ, Lucas & BADIOLA. "Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los biofilms y su repercusión en la

seguridad alimentaria". *Revista del Comité Científico de la AESAN* [En línea], 2015, (España) 12, p. 4. [Consulta: 16 agosto 2021]. ISSN 2010-002. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3437294>

DONLAN, Rodney & COSTERTON, William. "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms". *Revisión de microbiología clínica* [En línea], 2015, (United State of America) 15(2), pp. 167-193. [Consulta: 2 agosto 2021]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>

ECUARED. Inocuidad en los alimentos. [En línea] 2017. [Consulta: 3 mayo 2021]. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Inocuidad en los alimentos](https://www.ecured.cu/Inocuidad_en_los_alimentos)

MCONER, Besner, V, Gauthier & A., Camper. "Explaining the occurrence of coliforms in distribution systems". *Journal AWWA* [En línea], 2015, (United State of America), p. 8.[Consulta: 9 junio 2021]. Disponible en: <https://awwa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.1551-8833.2002.tb09529.x>.

FAO. Estadísticas sobre seguridad alimentaria, supervisión global del objetivo relativo al hambre de la FAO. [En línea] 2015, p. 3. [Consulta: 26 mayo 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/economic/ess/essfs/es/#:~:text=La%20seguridad%20alimentaria%20se%20da,una%20vida%20activa%20y%20saludable>.

FERNÁNDEZ, Ana. Eliminación de biopelículas microbianas mediante el uso de compuestos antimicrobianos de origen natural [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Zaragoza, Zaragoza, España. 2015. pp. 18-23. [Consulta: 2 agosto 2021]. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/32246/files/TAZ-TFM-2015-687.pdf>.

FERNANDEZ, Carlota. Análisis de la capacidad de formación de biofilms en *Salmonella Typhimurium*. [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad del país Vasco, Euskadi, España. 2020. p. 5. [Consulta: 15 mayo 2021]. Disponible en: https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/51183/TFG_Ferna%CC%81ndez.pdf?sequence=1&isAllowed=y

FIRESTONE, Emily, ROBERSON & MERY. "Relationship between Desiccation and Exopolysaccharide Production in a Soil *Pseudomonas spp*". *American Society for Microbiology*

[En línea], 2021, (United State of America) 58 (4), pp. 7-8. [Consulta: 3 junio 2021]. ISSN 1075-1801. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.58.4.1284-1291.1992>

GIAOURIS, Efstathios, CHORIANOPOULOS, Nikos & DOULGERAKI, Agapi. "Co-Culture with *Listeria monocytogenes* within a Dual-Species Biofilm Community Strongly Increases Resistance of *Pseudomonas putida* to Benzalkonium Chloride". *Plos One* [En línea], 2013, (United State of America), p. 17. [Consulta: 29 mayo 2021]. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0077276#s5>

GONZÁLEZ, Eulogio & GONZÁLEZ, Eulogio. "Enfermedades de Transmisión Alimentaria". *Dialnet* [En línea], 2019, (España), (16), pp. 19-33. [Consulta: 2 Junio 2021]. ISSN 2605-2156. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7137398>

GONZÁLEZ, Evangelina. Formación y desarrollo de biofilms: su impacto en los sistemas de abastecimiento y distribución de agua potable [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Nacional de la Plata, Argentina. 2016. pp. 19-23. [Consulta: 11 Mayo 2021]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/66667/Documento_completo_.pdf?sequence=1

GRAO, Patricia. Efectos combinados del carvacrol y citral en la eliminación de biopelículas. [En línea](Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Zaragoza, Zaragoza, España. 2016. pp. 13-19. [Consulta: 1 Julio 2021]. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/56847/files/TAZ-TFM-2016-818.pdf>

GRAZIANO DA SILVA, J.G. "No hay seguridad alimentaria sin inocuidad". *El País*. Planeta Futuro, 2019, pp. 1-5.

GUILLERMO, Abel. Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo [En línea] (Trabajo de Titulación). (Doctoral) Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. 2013. pp. 92-102. [Consulta: 15 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/458695/aegn1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

GUTIÉRREZ, Andrea & SÁNCHEZ, Gutiérrez. "Desarrollo de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*". *Jóvenes en la ciencia* [En línea], 2017, (México) 3(2), pp. 26-32. [Consulta: 4 Junio 2021]. ISSN 2395-9797. Disponible en: <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1912>

IBAÑEZ, Juan. *Las biopelículas: Bioestructuras de las comunidades microbianas (la salud del suelo y las plantas: los Biofilms)* [Blog]. Madrid: Iqbal Ahmad, 26 Noviembre, 2018. [Consulta: 26 Julio 2021]. Disponible en: <https://www.madrimasd.org/blogs/universo/2018/11/26/149218>

ISOTOOLS. *La importancia de la Inocuidad Alimentaria* [Blog]. España: Enero, 2018. [Consulta: 6 Mayo 2021]. Disponible en: <https://www.isotools.org/2018/01/16/la-importancia-la-inocuidad-alimentaria/>

ITRAM HIGIENE. *Los biofilms en la Industria Alimentaria* [Blog]. España: 25 Enero, 2020. [Consulta: 2 mayo 2021]. Disponible en: <https://itramhigiene.com/biofilms-industria-alimentaria/>

JUÁREZ, Carlos. *Impacto de la contaminación por Salmonella spp* [Blog]. México: The food tech, 7 Mayo, 2020. [Consulta: 11 Junio 2021]. Disponible en: <https://thefoodtech.com/seguridad-alimentaria/impacto-de-la-contaminacion-por-salmonella/>

LAPIERRE, Lisete. *Epidemiología, transmisión y control de Campylobacter spp* [Blog]. Chile: Julio, 2017. [Consulta: 30 Mayo 2021]. Disponible en: <http://grupomontevideo.org/ndca/casaludanimal/wpcontent/uploads/2017/07/Epidemiolog%C3%ADa-Transmisi%C3%B3n-y-Control-de-Campylobacter-spp.pdf>

LOPEZ, Pilar & ORTIZ, Sagrario. *Formación de biofilms en el ambiente de la industria cárnica* [Blog]. España: Interempresas, 11 Febrero, 2020. [Consulta: 3 Junio 2021]. Disponible en: <https://www.interempresas.net/Industria-Carnica/Articulos/264467-Formacion-de-biofilms-en-el-ambiente-de-la-industria-carnica.html>

LORENZO, Fernando. *Componentes y funciones de la matriz de los biofilms bacterianos* [Blog]. 10 Marzo, 2015. [Consulta: 5 Junio 2021]. Disponible en:

<https://www.betelgeux.es/blog/2015/03/10/componentes-y-funciones-de-la-matriz-de-los-biofilms-bacterianos/>

MARTINEZ Joaquin. Formación de biofilms en el ambiente de la Industria Cárnica [En línea] Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. 2020. pp.3-6. [Consulta: 25 Agosto 2021]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/129516/Silva%20%20Actividad%20antimicrobiana%20y%20antibiofilm%20de%20compuestos%20/>

MARTINEZ, Joseph. *Biofilms, ¿cómo controlarlos y eliminarlos?* [Blog]. Barcelona: Ainia, 2015. [Consulta: 7 Julio 2021]. Disponible en: <https://www.ainia.es/tecnolimentalia/tecnologia/biofilms-como-controlarlos-yeliminarlos/>

MILVAQUES, Alma. *Listeriosis en Europa: los casos más recientes* [Blog]. Valencia: Betelgeux, 22 Mayo, 2019. [Consulta: 23 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.betelgeux.es/blog/2019/05/22/los-casos-de-listeriosis-en-europa/>

MOSQUEDA, José. Evaluación de la formación de biopelículas de *Salmonella spp.* en equipo de procesamiento cárnico de acero inoxidable [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, México. 2015. pp. 12-30. [Consulta: 3 Septiembre 2021]. Disponible en: <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/83/1/Mosqueda%20Mendoza%20Jos%C3%A9%20Alberto.pdf>

NAZAR, Julio. "Biofilms bacterianos". *Scielo* [En línea], 2007, (Chile) 67(1), p. 6. [Consulta: 13 Agosto 2021]. ISSN 0718-4816. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-48162007000100011

NUTMAN A, BENNET V & BARREL. Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700 million year old microbial structures [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universitat Autònoma de Barcelona, España. 2016. p. 53. [Consulta: 9 Septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/458695/aegn1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

OFEK & DOYLE. Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Nacional de la Plata, Argentina. 2017. p. 17. [Consulta: 14 Junio 2021]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/66667/Documento_completo_.pdf?sequence=1

OLIVA, Dolors Parés. *Biofilms: un peligro a controlar en plantas de procesamiento de alimentos* [Blog]. Febrero, 2016. [Consulta: 30 Mayo 2021]. Disponible en: https://www.3tres3.com/articulos/biofilms-un-peligro-a-controlar-en-plantas-de-procesamiento-alimentos_44216/

OMS. *Inocuidad de los alimentos, datos y cifras* [Blog]. Abril, 2020. [Consulta: 8 Julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

OPS. *Educación en inocuidad de alimentos* [Blog]. 2015. [Consulta: 21 Mayo 2021]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433:educacion-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidaddealimentos&Itemid=41278&lang=es

PALMER, Jon, FLINT, Steve & BROOKS, Jonh. "Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm". *PubMed* [En línea], 2007, (United State of America) 34(9), p. 13. [Consulta: 1 Julio 2021]. ISSN: 1761-9090. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17619090/>

PENADÉS, Iñigo. "Bap: una familia de proteínas de superficie implicadas en la formación de biopelículas". *PubMed* [En línea], 2006, (United State of America) 157(2), p.10. [Consulta: 4 Septiembre 2021]. ISSN: 1642-7771. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16427771/>

PHILLIPS PL, WOLCOTT RD, FLETCHER J & SCHULTZ GS. "Biofilms made easy". *Wounds International* [En línea], 2015, (United State of America) 1(3), pp. 3-8. [Consulta: 22 Julio 2021]. Disponible en: <https://sghweb.es/documentos-consenso/made-easy/biofilmsmadeeasy.pdf>

ISLAM, Ahmed. "Presence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in biofilms formed in water containers in poor households coincides with epidemic seasons in Dhaka". *Journal of Applied*

Microbiology [En línea], 2015, (United State of America) 114(4), pp. 9-14. [Consulta: 4 Septiembre 2021]. ISSN: 2327-9124. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23279124/>

RIPOLLES, Carolina. "Development of a peroxide biodetector for a direct detection of biofilms produced by catalase-positive bacteria on food-contact surfaces". *Journal of Food* [En línea], 2018, (United State of America) 16(1), pp. 5-10. [Consulta: 19 Julio 2021]. ISSN: 1947-6337. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1418434>

RODRIGUEZ, Frizzo, & ESPINOZA, Martinez. "Biofilms microbianos en la industria alimentaria". *Publitéc* [En línea], 2020, (Argentina) 54(349), pp. 26-29. [Consulta: 10 Septiembre 2021]. ISSN: 0325-3384. Disponible en: http://alaccta.org/wp-content/uploads/2020/09/LAL-349_w.pdf

RODRIGUÉZ, José. Supervivencia de *Listeria monocytogenes* sobre superficies de contacto con alimentos: un abordaje multidisciplinar de un problema complejo [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. 2018. pp. 133-157. [Consulta: 12 Octubre 2021]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2018/hdl_10803_664171/cra1de1.pdf

RODRÍGUEZ, Juan. Consecuencias higiénicas de la alteración [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. 2012. pp. 35-37. [Consulta: 8 Julio 2021]. Disponible en: http://www.aeemt.com/contenidos_socios/Recursos/Documentos_interes/Consecuencia_Higienica_Alteracion_Alimentos_2012.pdf

RUIZ, Javier. Resistencia bacteriana por formación de biopelículas en pacientes con fibrosis quística. Nuevas perspectivas de tratamiento [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Complutense, Madrid, España. 2015. p. 8. [Consulta: 9 Septiembre 2021]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JAVIER%20RUIZ%20SANZ.pdf>

SALCEDO, Cristal. Formación de biopelículas en cepas de *Campylobacter* termotolerantes aisladas durante el proceso de faenamiento de pollos broiler [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de Chile, Chile. 2020. p. 6. [Consulta: 10 Julio 2021]. Disponible en:

<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/173889/Formacion-de-biopelículas-en-cepas-de-campylobacter-termotolerantes-aisladas-durante-el-proceso-de-aclimatación.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SANCHEZ, J. *Pan American Health Organization World Health Organization* [Blog]. Octubre, 2020. [Consulta: 15 Septiembre 2021]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433:educación-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&Itemid=41278&lang=es

SARTI, Gabriela, MIGUEZ, Ana & CURA, Alfredo. " Optimization of the culture conditions for the development of a bacterial biofilm and its application as a biofertilizer in *Solanum lycopersicum* L. var. Río grande". *Scielo* [En línea], 2019, (Argentina) 34(2), pp. 6-10. [Consulta: 6 Julio 2021]. ISSN: 2224-4697. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522019000200007

SILVA, Sarada. Actividad antimicrobiana y anti-biofilm de compuestos de aceites esenciales en cepas de *Escherichia coli* presentes en la Industria Cárnica [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 2019. p.1. [Consulta: 12 Junio 2021]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Actividad-antimicrobiana-y-antibiofilm-de-de-en-de-Janeiro-Da/650ba52c5d1d3bdeee96ff42ad088fcb9380f86f>

SILVÁN, Jose Manuel. *Estudio de la producción de biofilms por Campylobacter en la industria alimentaria* [Blog]. Interempresas, 22 Noviembre, 2017. [Consulta: 3 Septiembre 2021]. Disponible en: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/estudio-de-la-produccion-de-biofilms-por-campylobacter-en-la-industria-alimentaria>

SIUCE, Juan; et al. "Desarrollo de una proteína recombinante fimbrial F17 de *Escherichia coli* y respuesta inmune frente a células mononucleares periféricas sanguíneas (PBMC) de alpaca". *Scielo* [En línea], 2021, (Perú) 32(2), pp. 7-9. [Consulta: 11 Septiembre 2021]. ISSN: 1609-9117. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172021000200003&script=sci_arttext&tlng=pt

SOMOLINOS & GARCIA. "Inactivation of *Escherichia coli* by citral". *Society for Applied Microbiology* [En línea], 2010, (España) 108(6), pp. 2-9. [Consulta: 7 Octubre 2021]. ISSN: 1364-5072. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2009.04597.x>

SREY, Sokunrotanak & KABIR, Iqbal. "Biofilm formation in food industries: A food safety concern". *Science Direct* [En línea], 2013, (República de Corea) 31(2), p. 3. [Consulta: 12 Septiembre 2021]. ISSN: 0956-7135. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713512006536>

SUTHERLAND, I. Biofilm exopolysaccharides: A strong and sticky framework [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universita Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. 2016. pp. 54-55. [Consulta: 8 Julio 2021]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/458695/aegn1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

TÉLLEZ, Sonia. "Los Biofilms y su repercusión en la Industria Alimentaria". *Visavet* [En línea], 2010, (España) 12(2), p. 1. [Consulta: 13 Agosto 2021]. ISSN: 2536-1212. Disponible en: <https://www.visavet.es/es/articulos/biofilms-repercusion-industria-alimentaria.php>

TRUJILLO, Melania. Biofilms microbianos [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de La Laguna., España. 2017. pp. 7-24. [Consulta: 9 Agosto 2021]. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5023/BIOFILMS+MICROBIANOS.pdf;jsessionid=E726C84509D911B69C4726CE9DAB5BB4?sequence=1>

VERRAN, J & WHITEHEAD, K. "Assessment of Organic Materials and Microbial Components on Hygienic Surfaces". *Science Direct* [En línea], 2016, (United State of America) 84(4), p. 27. [Consulta: 14 Septiembre 2021]. ISSN: 0960-3085. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096030850670548X>

WHITCHURCH, Cynthia & NIELSEN, Tim. " Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation". *Science* [En línea], 2015, (Dinamarca) 295(55), pp. 1-27. [Consulta: 14 Septiembre 2021]. ISSN: 1487-2174. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/CynthiaWhitchurch/publication/11503087_Extracellular_DNA_Required_for_Bacterial_Biofilm_Formation/links/02e7e516ca71ea7d6e000000/Extracellular-DNA-Required-for-Bacterial-Biofilm-Formation.pdf