

Revista **HECHOS** **Microbiológicos**

Publicación Científica Oficial
Universidad de Antioquia - Escuela de Microbiología
Volumen 13 - Número 1 - Enero - Junio - 2022
<http://www.udea.edu.co/hm>



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA**

Escuela de Microbiología

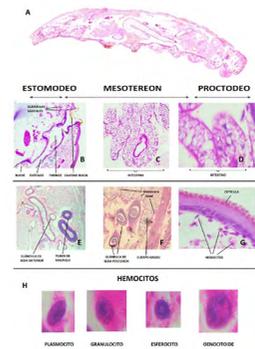


IMAGEN ORIGINAL DE LA PORTADA

Características microscópicas de larva *Galleria mellonella*. A. Larva completa por reconstrucción topográfica de la anatomía microscópica. B. Estomodeo o región anterior formada por cavidad bucal, faringe, esófago y el buche, región que presenta revestimiento por una capa de células escamosas y presencia de músculo liso (longitudinal interna y circular externa). C. Mesotereon o región media que presenta membrana peritrófica, revestimiento por una capa de células columnares con microvellosidades y células regenerativas, en la parte distal presenta músculo y tejido conectivo. D. Proctodeo o región posterior revestida por células epiteliales cilíndricas con microvellosidades, lámina propia y musculo circular y longitudinal. E. Túbulos formados por una capa de células cilíndricas, glándula exocrina anterior de forma tubular. F. Glándula de seda posterior que contiene fibroínas con función bioadherente, cuerpo graso que sirve de almacenamiento de energía y síntesis de carbohidratos, lípidos y proteínas. G. Cutícula de apariencia gruesa acelular y hemocitos. H. Tipos de hemocitos presentes en hemolinfa.

CORTESÍA

Imagen tomada del artículo: Variante cromosómica en síndrome Klinefelter, 49, XXXXY: reporte de un caso en un paciente colombiano, de las autoras: María Fernanda Jácome Hernandez, Andrea Katerine Melo Vargas, Cladelis Rubio Gómez, Yermis Carolina Rocha Arrieta.

Cómo citar este artículo: Jácome-Hernández MF, Melo-Vargas AK, Rubio Gómez C, Rocha-Arieta YC. Variante cromosómica en Síndrome Klinefelter, 49, XXXXY: reporte de un caso en un paciente colombiano. *Hechos Microbiol.* 2021;12(1):57-64. DOI: 10.17533/udea.hm.v12n1a06

IMÁGENES DE LA PORTADA INTERNA

Respaldo de la portada inicial

“NASA-Funded Research Discovers Life Built With Toxic Chemical”, publicada el día 2 de diciembre del año 2010 en la página del Departamento de Astrobiología de la NASA (<http://astrobiology.nasa.gov>).

Respaldo de la contra portada

Imagen de archivo, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.



RECTOR

John Jairo Arboleda Céspedes

VICERRECTOR GENERAL

Elmer de Jesús Gaviria Rivera

VICERRECTORA DE DOCENCIA

Elvia María González Agudelo

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Ramón Javier Mesa Callejas

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN

Luz Fernanda Jiménez Segura

VICERRECTOR DE EXTENSIÓN

Pedro Amariles Muñoz

SECRETARIO GENERAL

William Fredy Pérez Toro

DIRECTOR

Ricardo Velasco Vélez

SUBDIRECTORA

Astrid Milena Bedoya

JEFE DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Leonardo Alberto Ríos

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN ACADÉMICA

Natalia Valencia López

COORDINADORA DE EXTENSIÓN

Olga María Arrieta Ramírez

COORDINADORA DE CALIDAD DE LOS SERVICIOS DE EXTENSIÓN

Claudia Patricia Henao Mejía

COORDINADOR DEL LABORATORIO DOCENTE, ASISTENCIAL E INVESTIGATIVO

Julio César Fernández Chica

COORDINADOR DEL LABORATORIO CLÍNICO, SEDE CLÍNICA LEÓN XIII

Óscar Omar Gaviria Cortés

COORDINADOR DEL BANCO DE SANGRE, SEDE CLÍNICA LEÓN XIII

Jaiver Patiño Carreño

COORDINADOR DE POSGRADOS

Juan Álvaro López Quintero

COORDINADORA DE BIENESTAR UNIVERSITARIO

Claudia Agudelo Escobar

COORDINADOR DE RELACIONES INTERNACIONALES E INTERINSTITUCIONALES

Andrés Felipe Villa Restrepo

COORDINADORA DE PRACTICAS DE MICROBIOLOGÍA Y BIOANÁLISIS

Victoria Eugenia González Cárdenas

COORDINADORA DE PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL

Lida Arias Marín

COORDINADORA DE LA OFICINA ADMINISTRATIVA, FINANCIERA Y DE APOYO LOGÍSTICO

Ada Catalina Taborda Valencia

PROFESORA ENLACE DEL PROGRAMA DE EGRESADOS

Luisa María Múnera Porras

EDITOR

Ángel González, MSc., PhD.

Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Colombia

EDITORES ASOCIADOS

Claudia parra Giraldo, MSc., PhD (Sección Micología)

Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Marlen Martínez Gutiérrez, MSc., PhD. (Sección Virología)

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

Jorge Enrique Gómez, MD., PhD. (Sección Parasitología)

Universidad del Quindío, Armenia, Colombia.

Judy Natalia Jiménez, MSc., PhD. (Sección Bacteriología)

Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Colombia.

Luisa Fernanda Rojas., MSc., PhD. (Sección Microbiología Industrial)

Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Colombia

Howard Junca, PhD. (Sección Microbiología Ambiental)

Microbial Interactions and Processes (MINP), Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung HZI, Braunschweig, Alemania.

COMITÉ EDITORIAL

Paulo César Rodríguez, MSc., PhD.

Departamento de Inmunología, Universidad del Sur de la Florida, Estados Unidos.

Carlos Pelleschi Taborda, PhD.

Instituto de Medicina Tropical, Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil.

Cristian Dragos Stefanescu, MD., PhD.

Universidad de Medicina y Farmacia, Bucarest, Rumania.

Diego Hernando Cáceres, MSc.

Centro para el Control y prevención de Enfermedades, CDC, Atlanta, Estados Unidos.

Cristina Elena Canteros, PhD.

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS, Buenos Aires, Argentina.

Alfonso J. Rodriguez-Morales, MD, MSc, DTM&H, DipEd, FRSTM&H(Lon), FFTM RCPS(Glasg), FACE, FISAC, HonDSc.

Facultad de Medicina, Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Pereira, Risaralda.

Beatriz Lucía Gómez, PhD.

Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

Patricia Escandón, PhD.

Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.

Adriana María Celis, MSc., PhD.

Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá Colombia.

Juan David Puerta Arias, MSc.

Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB, Medellín, Colombia.

COMITÉ CIENTÍFICO

Ángela Restrepo Moreno, MSc., PhD.

Investigadora Emérita, Medellín, Colombia.

Alexander Bonifaz, MD, PhD.

Universidad Autónoma de México, México D.F., México.

Natalia Castro -López, MSc.

Texas Christian University, Fort Worth, Texas, Estados Unidos.

Victoria Sepúlveda, MSc., PhD.

Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de Carolina del Norte, Chapel Hill, Carolina del Norte, Estados Unidos.

Clayton Borges., PhD.

Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Ciencias Biológicas, Goiânia, Brasil.

Lucelly López., PhD.

Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Antioquia.

Orville Hernández Ruíz., MSc., PhD.

Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Colombia

ASISTENTE EDITORIAL

Ladis Frias

DISEÑO GRÁFICO

Leonardo Sánchez Perea

COMUNICADOR SOCIAL

Diego León Morales Flórez



Esta obra se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

©2017 por la Universidad de Antioquia. Reservados todos los derechos. Los conceptos y las opiniones expresadas en cada artículo son responsabilidad exclusiva del autor. Ni la Universidad de Antioquia, ni el equipo editorial, se hacen responsables del uso de la información aquí publicada, ni de los resultados que se obtenga con ella.

La revista Hechos Microbiológicos es la publicación científica oficial de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia. Se publica en formato digital e impreso con periodicidad semestral. Su misión es difundir los conocimientos científicos relacionados con la práctica y los procesos en Microbiología y Bioanálisis, y de otras disciplinas afines con las áreas de la salud, la industria, el ambiente y la educación en Microbiología. Busca mantener una vía de intercambio de conocimientos y experiencias con disciplinas que tengan su centro de acción en la investigación básica y aplicada.

PÚBLICO OBJETIVO

Esta publicación está dirigida a todos los profesionales de la salud con interés en la Microbiología, el bioanálisis y sus aplicaciones básicas, clínicas, ambientales e industriales. Adicionalmente, sirve a los estudiantes y profesionales de la salud cuya formación involucre, directa o indirectamente, conceptos de la Microbiología.

OBTENCIÓN Y REPRODUCCIÓN DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS EN HECHOS MICROBIOLÓGICOS

Los artículos pueden obtenerse mediante la suscripción a la versión impresa o de manera gratuita, con previo registro, a través de la versión digital en: <http://www.udea.edu.co/hm/>

REVISTA HECHOS MICROBIOLÓGICOS

Publicación semestral

Escuela de Microbiología

Universidad de Antioquia

Volumen 13 - Número 1 - Enero - Junio - 2022

ISSN

2145-8898

NOMBRE ABREVIADO

Hechos Microbiol.

IMPRESIÓN Y TERMINACIÓN

GCC. Global Creativo & Comunicaciones

CANJES

Universidad de Antioquia, Biblioteca Central

Calle 67 #53-108, Bloque 8, Teléfono +57(4) 2195148

Selección y adquisición, canje y donación

Contacto: Claudia María Durango

cmaria.durango@udea.edu.co

canjeydonacionbiblioteca@udea.edu.co

CORRESPONDENCIA

Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología

Calle 70 #52-72, Piso 6, Oficina 607, Teléfono: 2198490

Centro de Investigación y Extensión

revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co

<http://www.udea.edu.co/hm>

Medellín, Colombia

GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

Grupo de Investigación Salud y Sostenibilidad

COORDINADOR: Yamilet Arcos, MSc.
TELÉFONO: 219 5493
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A
CONTACTO: yamilet.arcos@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/salud-sostenibilidad>

Grupo de Investigación en Microbiología Veterinaria

COORDINADORA: Yamilet Arcos, MSc.
TELÉFONO: 219 5493
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: Reconocido
CONTACTO: yamilet.arcos@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/microbiologia-veterinaria>

Grupo Bioprocesos Microbianos – BIOmicro

COORDINADORA: Lida Arias Marín. MSc, PhD. Biotecnología y Microbiología Ambiental
TELÉFONO: 219 5487
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: B
CONTACTO: lida.arias@udea.edu.co
biomicroudea@gmail.com
<http://www.udea.edu.co/biomicro>

Grupo de Investigación Salud Sexual y Cáncer

COORDINADORA: Lucía Stella Tamayo Acevedo. MSc, PhD. en Ciencias Médicas.
TELÉFONO: 219 5488
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: C
CONTACTO: lucia.tamayo@udea.edu.co
gruposaludsexualcancer@udea.edu.co

Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada - MICROBA

COORDINADOR: Ángel González Marín. MSc, PhD. en Ciencias Básicas Biomédicas
TELÉFONO: 219 5489
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A1
CONTACTO: angel.gonzalez@udea.edu.co
grupomicroba@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/microba>

Grupo de Micología Médica y Experimental - MME

COORDINADORA: Luz Elena Cano R. PhD. en Ciencias con Énfasis en Inmunología
TELÉFONO: 605 1808 ext. 219
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A1
CONTACTO: luz.cano@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/micologiamedicaexperimental>

Hematopatología Molecular

COORDINADORA: Paola Andrea Acevedo Toro. MSc. en Ciencias Básicas Biomédicas
TELÉFONO: 219 5489
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: B
CONTACTO: paola.acevedo@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/hemo>

Microbiología Ambiental

COORDINADORA: Astrid Milena Bedoya. MSc, PhD. en Ciencias Básicas Biomédicas
TELÉFONO: 219 5491
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A
CONTACTO: orville.hernandez@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/microbiologia-ambiental>

Microbiología Molecular

COORDINADORA: Orville Hernández Ruíz, PhD en Biología
TELÉFONO: 219 8485
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A1
CONTACTO: margaritcorrea@gmail.com
<http://www.udea.edu.co/microbiologia-molecular>

Grupo de Biotransformación

COORDINADORA: Luisa Fernanda Rojas Hoyos. MSc, PhD. en Biología
TELÉFONO: 219 5497
CLASIFICACIÓN: Colciencias
CATEGORÍA: A
CONTACTO: lfernanda.rojas@udea.edu.co
<http://www.udea.edu.co/biotransformacion>

* Convocatoria Nacional para el reconocimiento de grupos de investigación, desarrollo tecnológico o de innovación y para el reconocimiento de investigadores del SNCTeI, 2018.

Contenido

EDITORIAL

- COVID-19, monkeypox, and the need for vaccines in low- and middle-income countries 10
Alfonso J. Rodriguez-Morales
-

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

- Descripción histológica de *Galleria mellonella*. Contribución a su implementación como modelo animal 13
Marcela Gómez Garzón, Jeannette León Enciso, Jefferson Parga, Laura Daniela Padilla, Diana Peñuela Franco, Carlos Esteban Pinzón Ruiz, Didier Javier Lugo Cohetato
-

ARTÍCULO DE REVISIÓN SISTEMÁTICA

- Bacteriófagos más allá de la fagoterapia: aplicaciones para el control bacteriano en la clínica, la industria y el ambiente 20
Marlon Alexis Gallego Gómez, Judy Natalia Jiménez Quiceno
-

- Aplicación de pigmentos producidos por *Streptomyces coelicolor* en la síntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana 37
Laura N. Barrios, Paola Santos
-

- Panorama general de los protozoos intestinales en México 2000-2020 47
José Trinidad Sánchez Vega, Alondra Navez Valle, Ana Citlali Tapia Castor, Eunice Galilea Morales Reyes, Diego Iván Sánchez Aguilar, Ricardo Hernández López, Arnulfo Eduardo Morales Galicia, Brenda Coquis Téllez, Adriana Alejandra Animas Fernández
-

- Instrucciones para los autores** 58
Comité Editorial
-

Contents

EDITORIAL

- COVID-19, monkeypox, and the need for vaccines in low- and middle-income countries 10
Alfonso J. Rodriguez-Morales
-

INVESTIGATION ARTICLE

- Histological description of *Galleria mellonella*. Contribution to its implementation as an animal model 13
Marcela Gómez Garzón, Jeannette León Enciso, Jefferson Parga, Laura Daniela Padilla, Diana Peñuela Franco, Carlos Esteban Pinzón Ruiz, Didier Javier Lugo Cohetato
-

SYSTEMATIC REVIEW

- Bacteriophages beyond phage therapy: applications for bacterial control in the clinic, industry, and the environment 20
Marlon Alexis Gallego Gómez, Judy Natalia Jiménez Quiceno
-

- Application of pigments produced by *Streptomyces coelicolor* in the synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity 37
Laura N. Barrios, Paola Santos
-

- Overview of intestinal protozoa in México 2000-2020 47
José Trinidad Sánchez Vega, Alondra Navez Valle, Ana Citlali Tapia Castor, Eunice Galilea Morales Reyes, Diego Iván Sánchez Aguilar, Ricardo Hernández López, Arnulfo Eduardo Morales Galicia, Brenda Coquis Téllez, Adriana Alejandra Animas Fernández
-

Instructions for Authors

- Editorial Board* 64
-



COVID-19, monkeypox, and the need for vaccines in low- and middle-income countries

Alfonso J. Rodriguez-Morales^{*}

Over the last two years, the world has faced the challenge and devastation that the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and its Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic has imposed,^[1] especially to low- and middle-income countries (LMIC) including those from Latin America, as is the case of Colombia.^[2]

The COVID-19 pandemic has not ceased. However, in August 2022, the circulation is considered low. Although SARS-CoV-2 is still circulating, especially the number of deaths, admissions to the intensive care units (ICU) due to severe disease, and hospitalizations have decreased significantly as a consequence of the vast development and deployment of effective and safe vaccines against SARS-CoV-2 in a broad number of biotechnological platforms (mRNA, viral vectors, inactive, among others).^[3-5] The global COVID-19 vaccination is a milestone for medicine and vaccinology. More than 10 billion doses have been applied in the world.

But unfortunately, vaccine coverage for primary schedules, as well as for boosters, is unequal between high-income countries and those considered LMIC. Even today in Africa, countries such as Burundi, or the Democratic Republic of Congo, have less than 3% of their people who completed the initial COVID-19 vaccination protocol. Even in the Americas, such as Haiti, other countries still have less than 15% of their

populations vaccinated (Figure 1). Access to vaccines has been a critical issue, as vaccine hesitancy is obviously high in such countries. In this context, autonomous pharmaceutical and biotechnological capabilities during sanitary emergencies have been proposed.^[6] LMICs need to increase them to develop and mainly to produce vaccines, but also at the same time their “vaccination” diplomacy.^[7]

After COVID-19, this is important, as new epidemics, such as the ongoing multicountry outbreak due to monkeypox,^[8] recently declared a Public Health Emergency of International Concern (PHEIC) by the World Health Organization (WHO), are rapidly spreading.^[9] Monkeypox is now present in more than 80 non-endemic countries (outside Africa), causing more than 29,844 cases (Figure 2). Although the WHO does not currently recommend massive vaccination; the LGBTI (lesbian, gay, bisexual, transgender, and intersex) community, the most affected population so far (>95%), as well as the healthcare workers attending cases, will require access to monkeypox vaccines, such as the Jynneos[®].^[10,11] Countries such as the United States of America, Canada, the United Kingdom, Italy, and France, among others, are offering vaccines for monkeypox. But, how long will it take to be available for high-risk populations in LMIC of Asia, Africa and Latin America?

* Faculty of Medicine, Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Pereira, Risaralda, Colombia. Latin American network on Monkeypox Virus research (LAMOVI), Pereira, Risaralda, Colombia. Institución Universitaria Visión de las Américas, Pereira, Risaralda, Colombia. Grupo de Investigación Biomedicina, Faculty of Medicine, Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, 660003, Pereira, Risaralda, Colombia. Master of Clinical Epidemiology and Biostatistics, Universidad Científica del Sur, Lima, 4861, Peru.
 E-mail: arodriguezmo@cientifica.edu.pe

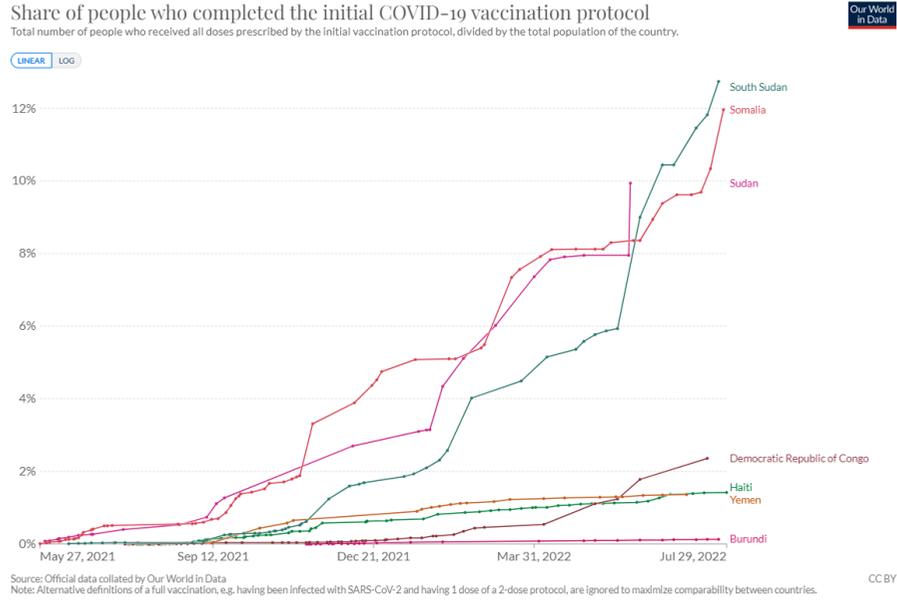


Figure 1. Examples of countries among the lowest vaccination rates for COVID-19, August 9, 2022.

Source: <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>

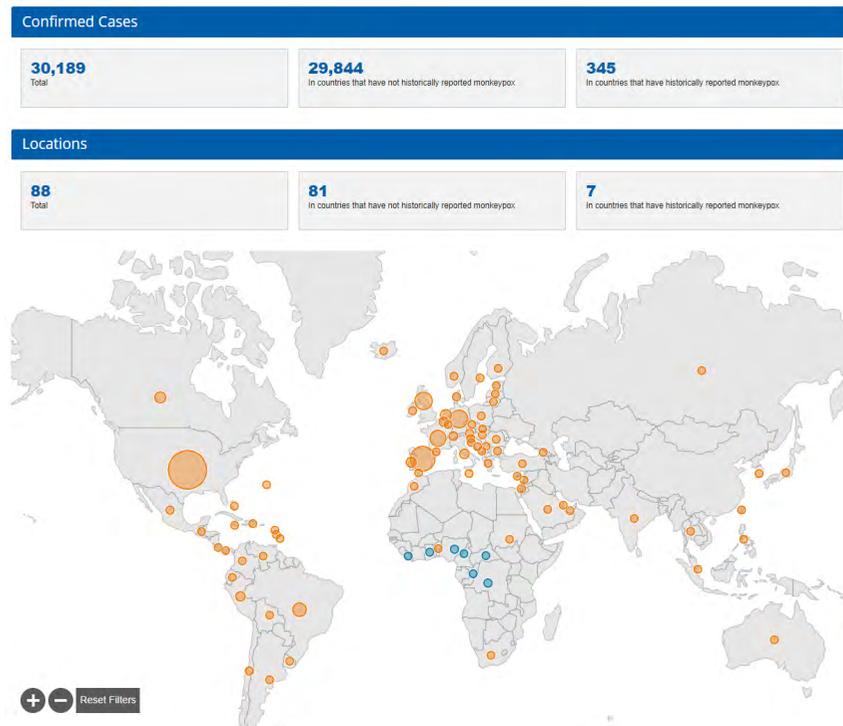


Figure 2. 2022 Monkeypox Outbreak Global Map, August 9, 2022.

Source: <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/response/2022/world-map.html>

Given this situation, the Butantan Institute in Brazil announced that it would assess to produce a vaccine against monkeypox. Brazil, Argentina, Mexico, Colombia, and other countries in the region should be involved in producing COVID-19 and monkeypox vaccines. For example, in Colombia, VaxThera[®], a biotech company, has announced that it will develop and produce vaccines. Under the building, facilities in Rionegro, Antioquia, expect to make 100 million vaccine doses in 2023. In addition, they wish to develop vaccines against COVID-19, dengue, chikungunya, yellow fever, influenza, and Zika. With a new government administration in Colombia, an enhanced interaction between the Ministry of Science, the Ministry of Health and the private biotech sector is urgently needed to address these requirements in the country.

As emerging and reemerging infectious diseases, especially viral and zoonotic, are causing outbreaks, epidemics and pandemics, vaccine availability will be more required than ever.^[12,13]

Conflict of interests

AJ Rodriguez-Morales has been paid member of the advisory board of COVID-19 vaccines of AstraZeneca (2021-2022). AJ Rodriguez-Morales is member of the Editorial Board of *Hechos Microbiológicos*.

References

1. **Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Sah R, et al.** SARS-CoV-2/ COVID-19 and advances in developing potential therapeutics and vaccines to counter this emerging pandemic. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2020;19(1):40. DOI: 10.1186/s12941-020-00384-w
2. **Rodriguez-Morales AJ, Gallego V, Escalera-Antezana JP, et al.** COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel medicine and infectious disease* 2020;35:101613. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101613
3. **Mangla S, Zohra Makkia FT, Pathak AK, et al.** COVID-19 Vaccine Hesitancy and Emerging Variants: Evidence from Six Countries. *Behavioral sciences (Basel, Switzerland)* 2021;11. DOI: 10.3390/bs11110148
4. **Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Sah R, et al.** Recent advances in vaccine and immunotherapy for COVID-19. *Hum Vaccin Immunother* 2020;16:3011-22. DOI: 10.1080/21645515.2020.1825896
5. **Schlagenhauf P, Patel D, Rodriguez-Morales AJ, Gautret P, Grobusch MP, Leder K.** Variants, vaccines and vaccination passports: Challenges and chances for travel medicine in 2021. *Travel Med Infect Dis* 2021;40:101996. DOI: 10.1016/j.tmaid.2021.101996
6. **Gomez-Marin JE.** Autonomía farmacéutica y biotecnológica frente a emergencias sanitarias. *Infectio* 2020;24:199-200. DOI: 10.22354/in.v24i4.875
7. **Gomez Marín JE, Castaño Osorio JC, Patarroyo MA, et al.** Una hoja de ruta para la Vacuna COVID 19 en Colombia, un reto posible. *Infectio* 2021;25:7-10. DOI: 10.22354/in.v25i1.901
8. **León-Figueroa DA, Bonilla-Aldana DK, Pachar M, et al.** The never-ending global emergence of viral zoonoses after COVID-19? The rising concern of monkeypox in Europe, North America and beyond. *Travel medicine and infectious disease* 2022;49:102362. DOI: 10.1016/j.tmaid.2022.102362
9. **Farahat RA, Abdelaal A, Shah J, et al.** Monkeypox outbreaks during COVID-19 pandemic: are we looking at an independent phenomenon or an overlapping pandemic? *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2022;21:26. DOI: 10.1186/s12941-022-00518-2
10. **Sah R, Abdelaal A, Asija A, et al.** Monkeypox Virus Containment: The Application of Ring Vaccination and Possible Challenges. *J Travel Med* 2022. DOI: 10.1093/jtm/taac085
11. **Ortiz-Martínez Y, Zambrano-Sánchez G, Rodríguez-Morales AJ.** Monkeypox and HIV/AIDS: When the outbreak faces the epidemic. *Int J STD AIDS*. 2022;9564624221114191. DOI: 10.1177/09564624221114191
12. **Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Collins MH.** Emerging and Reemerging Vector-borne and Zoonotic Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:714630. DOI: 10.3389/fmed.2021.714630
13. **Rodriguez-Morales AJ, Paniz-Mondolfi AE, Faccini-Martínez ÁA, Henao-Martínez AF, Ruiz-Saenz J, Martínez-Gutiérrez M, Alvarado-Arnez LE, Gomez-Marin JE, Bueno-Marí R, Carrero Y, Villamil-Gomez WE, Bonilla-Aldana DK, Haque U, Ramirez JD, Navarro JC, Lloveras S, Arteaga-Livias K, Casalone C, Maguiña JL, Escobedo AA, Hidalgo M, Bandeira AC, Mattar S, Cardona-Ospina JA, Suárez JA.** The Constant Threat of Zoonotic and Vector-Borne Emerging Tropical Diseases: Living on the Edge. *Front Trop Dis*. 2021;2:676905. DOI: 10.3389/fitd.2021.676905



Descripción histológica de *Galleria mellonella*. Contribución a su implementación como modelo animal

Histological description of *Galleria mellonella*.
Contribution to its implementation as an animal model

Marcela Gómez Garzón¹, Jeannette León Enciso¹, Jefferson Parga¹, Laura Daniela Padilla¹,
Diana Peñuela Franco¹, Carlos Esteban Pinzón Ruiz¹, Didier Javier Lugo Cohetato¹

Resumen

Introducción: Las larvas de *Galleria mellonella* están siendo utilizadas como un modelo animal para estudiar enfermedades infecciosas. Para evaluar microscópicamente las interacciones hospedero-patógeno *in vivo* se requiere un correcto procesamiento histológico de las larvas que permita obtener buenos cortes para valorar los cambios que se generan durante la infección. Los investigadores requieren conocer la histología normal de la larva para determinar si el patógeno es capaz de generar enfermedad y si los nuevos tratamientos son efectivos.

Objetivo: Este estudio tuvo como objetivo presentar el procedimiento de fijación y técnica histológica de las larvas de *Galleria mellonella* que realizamos de rutina en el laboratorio Técnica Histológica de la FUCS y la descripción histológica de las larvas normales.

Métodos: Las larvas de *Galleria mellonella* fueron fijadas con 100 μ L de FAATD y se realizaron cortes transversales y longitudinales, que fueron procesados de manera automatizada en el procesador de tejidos Technicon Doble modelo 2A. Las larvas pasaron a la central de inclusión para darle una figura tridimensional al casete y finalmente realizar cortes finos en el micrótopo. Se realizó la coloración de Hematoxilina Eosina (H&E) y registro fotográfico. Se tomó hemolinfa, se extendió en láminas y se coloreó con Wright para registro fotográfico.

Resultados: Se mostraron y describieron los órganos y las estructuras normales de la larva que deben analizarse en los estudios de patogenicidad microbiana y en la evaluación de nuevas moléculas para tratamiento de infecciones.

Conclusión: El estudio histológico presentado es una herramienta que contribuye a la implementación de *Galleria mellonella* como modelo animal.

Palabras Claves: *Galleria mellonella*, Modelo Animal, Técnica histológica, Hematoxilina

Filiación de autores Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia.

Correo de correspondencia:
mgomez@fucsalud.edu.co

Recepción: 5/07/2022. Aceptación: 18/07/2022

Cómo citar este artículo: Gómez G. M., León-Enciso, J., Parga, J., Padilla, L., Peñuela, D., Pinzón, C., Lugo, D. Descripción histológica de *Galleria mellonella*. Contribución a su implementación como modelo animal. Hechos Microbiol. 2022;13(1)13-19. DOI: 10.17533/udea.hm.v13n1a02

Abstract

Introduction: *Galleria mellonella* larvae are being used as an animal model to study infectious diseases. To microscopically evaluate host-pathogen interactions in vivo, an appropriate histological processing of the larvae is required to obtain good sections to assess the changes generated during infection. Researchers need to know the normal histology of the larva in order to determine if the pathogen is capable of causing disease and if new treatments are effective.

Objective: This study aimed to present the fixation procedure and histological technique of *Galleria mellonella* larvae routinely performed in the Histological Technique Laboratory of the FUCS and the histological description of normal larvae.

Methods: *Galleria mellonella* larvae were fixed with 100 μ L of FAATD, and transverse and longitudinal sections were made, which were processed automatically in the Technicon Doble model 2A tissue processor. The larvae went to the embedding center to give the cassette a three-dimensional figure and finally to fine cuts in the microtome. Hematoxylin Eosin (H&E) staining and photographic record were performed. Hemolymph was taken, spread on slides, and colored with Wright for photographic recording.

Results: We show and describe the normal organs and structures of the larvae that should be analyzed in studies of microbial pathogenicity and the evaluation of new molecules for the treatment of infections.

Conclusion: The histological study presented is a tool that contributes to the implementation of *Galleria mellonella* as an animal model.

KeyWords: *Galleria mellonella*, Animal Model, Histological technic, Hematoxylin

Introducción

Estudiar la virulencia de agentes infecciosos, en laboratorios, requiere alternativas al uso de animales que aseguren la reducción en el número de individuos utilizados, minimicen el dolor y la angustia, y disminuyan los costos de mantenimiento. El uso de insectos como modelos de infección ha sido una opción valiosa, gracias a que son susceptibles a muchos microorganismos, poseen un sistema de defensas antimicrobianas com-

plejo que genera información homologable sobre el proceso de interacción hospedero-patógeno y, finalmente porque permite evaluar nuevas moléculas para tratamiento de infecciones, así como su toxicidad *in vivo*^(1,2).

Galleria mellonella es una especie de insecto lepidóptero del suborden Glossata y clado Ditrysia. Las larvas son usadas como modelo invertebrado en investigaciones en el áreas de inmunología y biomédica y presenta muchas ventajas como son los bajos costos de mantenimiento, la posibilidad de utilizar a gran escala y la ausencia de restricciones éticas⁽³⁾. Este insecto puede ser criado en un rango de temperaturas entre 25°C y 37°C, simulando de esta forma la temperatura corporal en la que los microorganismos causan la enfermedad en el hombre. El ciclo de vida del insecto incluye las etapas de larva y pupa antes de la transformación final a polilla, la cual ocurre aproximadamente en un mes, permitiendo obtener resultados rápidamente durante la fase larval (Fig. 1). Este invertebrado tiene un sistema de defensa celular y humoral, con la producción de péptidos antimicrobianos y hemocitos por su sistema de hemolinfa, semejando la respuesta celular que se generaría en el humano^(4,5).

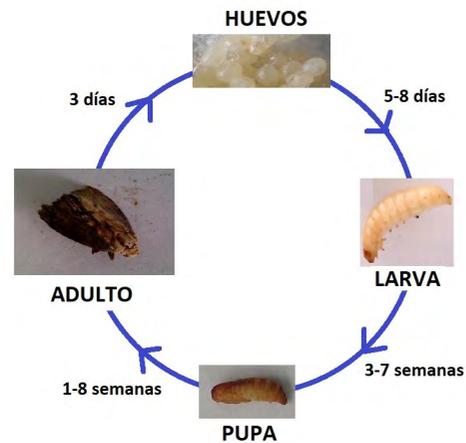


Figura 1. Ciclo de vida *Galleria mellonella*

Para comprender los resultados de los experimentos es importante conocer la anatomía e histología de este modelo invertebrado. El objetivo de este estudio fue presentar el procedimiento de fijación y el procesamiento histológico de las larvas de *G. mellonella*, procedimiento que se realiza en el laboratorio de Técnica

Histológica de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud (FUCS), así como también, presentar la descripción histológica de larvas normales (no infectadas) y de los sitios blancos que se requieren conocer para los estudios de patogénesis microbiana, la evaluación de nuevas moléculas y su toxicidad.

Materiales y métodos

CONSIDERACIONES ÉTICAS

A pesar de que en Colombia no existe legislación que especifique el uso de los invertebrados en investigaciones, se solicitó el aval al Comité de Cuidado y Uso de Animales (CICUA). La respuesta del comité fue que hasta el momento se define que los invertebrados no sean evaluados en los comités de manejo animal, por lo tanto, no exigen a los investigadores someter a revisión los protocolos. El comité de ética de la FUCS otorgó el aval para el estudio.

Las larvas de *Galleria mellonella*, en su último estadio, fueron adquiridas de Scientia Colombia SAS, La Unión Valle, Colombia, y fueron almacenadas en oscuridad a 15°C durante dos días. Se seleccionaron larvas sanas con un peso entre 150 - 230 mg y un tamaño entre 2,0 - 2,5 centímetros.

TRATAMIENTO DE LARVAS

Las larvas sin inocular (Fig. 2A) se incubaron a 37°C durante 5 días y se procesaron para técnica histológica de la siguiente forma:

Las larvas fueron llevadas a refrigeración durante 15 minutos y se fijaron inyectando 100 µL de FAATD (Alcohol de 96° 75 mL, Formaldehído 10 mL, Ácido acético 5 mL, Dimetilsulfóxido 10 mL y Ácido tricloroacético 1g) (Fig. 2B), luego se sumergieron en el fijador FAATD durante 24h en refrigeración (Fig. 2C)⁽⁶⁾. Las larvas fueron almacenadas a 4°C durante 24h, esto permitió la fijación de los órganos internos y el bloqueo del proceso de melanización del exoesqueleto.

A un total de 20 larvas se les realizaron dos cortes transversales (de cabeza y cola) de 0,1 mm a 0,3 mm y a otras 20 larvas un corte del cuerpo en posición sagital dividiendo los estigmas abdominales con un grosor de 0,3 mm. Las piezas de los cortes fueron colocadas en un casete (Fig. 2D).

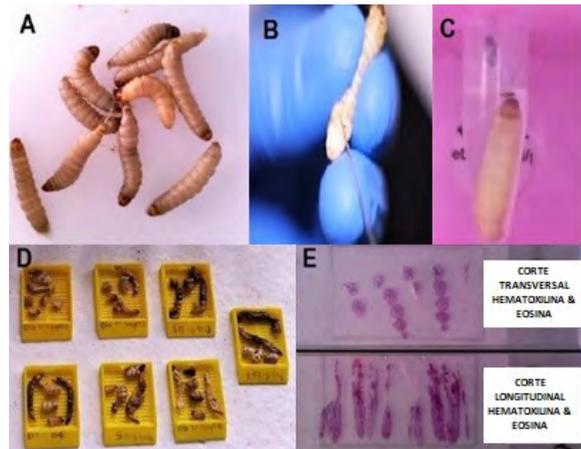


Figura 2. Manejo y procesamiento de las larvas de *Galleria mellonella*. A. Larvas sanas. B. Inoculación con fijador FAATD. C. Mantenimiento en FAATD. D. Casetes con cortes de larvas. E. Láminas histológicas coloreadas con H&E.

El procesamiento de la anatomía entomológica se llevó de manera automatizada, en el procesador de tejidos Technicon Doble modelo 2A, iniciando con deshidratación en formol salino, aclaramiento y embebido en parafina por 12 horas. Los casetes rotaron por cada recipiente durante una hora en un recipiente con formol, seis recipientes de alcoholes, tres recipientes de xiloles y dos de parafina a 60°C. Al terminar el proceso de los tejidos en el equipo automatizado, se pasó a la central de inclusión para darle una figura tridimensional al casete y, finalmente a cortes finos en el micrótom.

Se realizó la coloración de Hematoxilina Eosina (H&E), para su estudio microscópico (Fig. 2E), y se realizó registro fotográfico para la descripción de estructuras de *G. mellonella*.

RECOLECCIÓN DE LA HEMOLINFA

Para evaluar la respuesta inmunológica, larvas se llevaron a refrigeración durante 5 min. Utilizando aguja de insulina, se pinchó entre dos de los segmentos de la superficie del cuerpo y se presionó la larva hasta obtener la hemolinfa que se recogió en tubo con EDTA⁽⁷⁾, y se realizaron extendidos sobre lámina portaobjetos. Se permitió el secado de la hemolinfa a temperatura ambiente y las láminas se colorearon con Wright de la siguiente manera: se cubrió la lámina completamente con el colorante y se agregaron unas gotas de agua destilada. Con una pipeta se sopló y se dejó durante 5

minutos. Se lavó con agua corriente, se dejó secar cada lámina y se observó al microscopio en campo claro con objetivo de 100X.

Resultados y discusión

Para implementar el uso de *Galleria mellonella* como modelo animal en laboratorios de investigación, presentaremos las descripciones que se consideraron útiles para evaluar procesos infecciosos, el uso de nuevas moléculas y la toxicidad. El proceso histológico al que se sometieron las larvas permitió obtener cortes de muy buena calidad y las imágenes fotográficas serán un referente para los investigadores.

ASPECTOS MACROSCÓPICOS DE LAS LARVAS

Las larvas de *Galleria mellonella* tienen una forma cilíndrica y generalmente la parte central del cuerpo es mucho más gruesa. La cabeza es lobulosa y el cuerpo es blando y dividido en trece segmentos. En los segmentos torácicos tienen 3 pares de patas verdaderas, y en los abdominales hay cinco pares de patas falsas, que no son más que protuberancias membranosas (Fig. 3A).

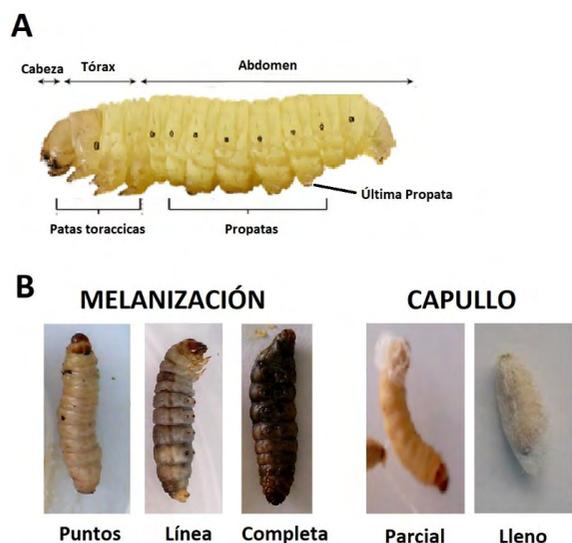


Figura 3. Características macroscópicas de las larvas de *G. mellonella*. A. Partes del cuerpo. B. Generación de melanización y de capullo que se pueden presentar durante una infección microbiana

Las larvas tienen una longitud de 2,0 a 2,5 cm y son de color crema. El color es importante porque durante los procesos de infección, las larvas sintetizan fenoloxidasa (G-difenoloxígeno-óxido reductasa), enzima capaz de oxidar los fenoles a quinonas que, posteriormente polimerizan en forma no enzimática a melanina^(1,8). Los índices de salud de las larvas propuesto por Loh JM y col⁽⁹⁾ correlacionan la melanización completa (larvas negras) con la muerte poco después. Es importante eliminar el capullo de las larvas antes de usarlas, ya que este es uno de los criterios a tener en cuenta en los índices de salud (Fig. 3B).

ASPECTOS MICROSCÓPICOS DE LAS LARVAS

Se realizaron más de 200 cortes de larvas y se realizó el registro fotográfico de los diferentes tejidos. Se generaron secuencias fotográficas para la reconstrucción topográfica de la anatomía, y así poder mostrar la larva completa con sus diferentes partes (Fig. 4A). Con el propósito de mostrar los resultados, la información está organizada en cinco secciones que corresponden a los sitios blancos de diferentes infecciones microbianas, a saber:

1. Integumento

El integumento es el límite protector externo de *G. mellonella*, este órgano evita la entrada de agentes patógenos y la salida de agua, además tiene funciones de soporte, de inserción muscular y participa en la ecdisis (muda o cambio periódico de la cutícula del exoesqueleto de insectos)⁽⁶⁾. A nivel histológico, cuenta con dos componentes: la cutícula y la epidermis (Fig. 5A).

La cutícula es la más distal, es de apariencia gruesa acelular, formada por quitina, un polisacárido nitrogenado que le confiere rigidez, proteínas, compuestos fenólicos y pigmentos⁽¹⁰⁾. Se pueden distinguir tres capas: epicutícula, exocutícula y endocutícula (Fig. 5B). Debajo de la cutícula se encuentra la epidermis, encargada de sintetizar las biomoléculas necesarias para el desarrollo de la cutícula y para realizar la ecdisis. Es una capa de células con apariencia sincitial.

2. Sistema Digestivo

El tracto digestivo se presenta como un tubo enrollado, que se extiende desde la boca hasta el ano y está

compuesto por tres regiones: estomodeo, mesotereon y proctodeo (Fig. 4).

El estomodeo o región anterior está formado por la cavidad bucal, la faringe, el esófago y el buche (Fig. 4B). En esta región se encuentra la íntima esclerotizada, revestida por una capa de células epiteliales de tipo escamoso; más allá de esta hay una gran capa de células musculares, longitudinales en su parte interna y circulares en su parte externa, y con inserciones de tejido conectivo adiposo circundante⁽¹¹⁾.

El mesotereon o región media presenta una membrana peritrófica permeable de quitina y matriz glucoproteica; está revestida por una capa celular epitelial en la cual se evidencia la presencia de células columnares con microvellosidades en su parte apical (enterocitos) junto con células regenerativas (madres) dispuestas en criptas invaginadas (Fig. 4C). En la parte distal del mesotereon encontramos la musculatura de tipo circular, soportado por tejido conectivo y adyacente de tipo longitudinal⁽¹²⁾.

El proctodeo o región posterior está revestido por una íntima delgada y permeable, cubierta de una lámina delgada de células epiteliales cilíndricas que en su parte apical presenta microvellosidades y está soportada en una lámina basal, todo esto recubierto por una capa variable de músculos de tipo circular y longitudinal⁽¹¹⁾ (Fig. 4D).

3. Sistema excretor

Su órgano principal son los tubos de Malpighi carentes de íntima (Fig. 4E). Están formados por una única capa de células epiteliales cilíndricas ciliadas, soportadas sobre una membrana basal. En la parte distal de los tubos hay presencia de fragmentos de células musculares circulares y longitudinales⁽¹³⁾.

Galleria mellonella posee varios órganos accesorios, tipo glándulas, como las glándulas salivales (Fig. 4B) y glándulas productoras de seda.

Las larvas producen fibra de seda, un polímero proteínico, en las glándulas exocrinas anterior, media y posterior, que presentan forma tubular. Las glándulas posteriores (Fig. 4F) producen seda que contiene fibroínas con funciones bioadherentes y en la sección media, la seda, que contiene sericinas con funciones antimicrobianas^(14,15).

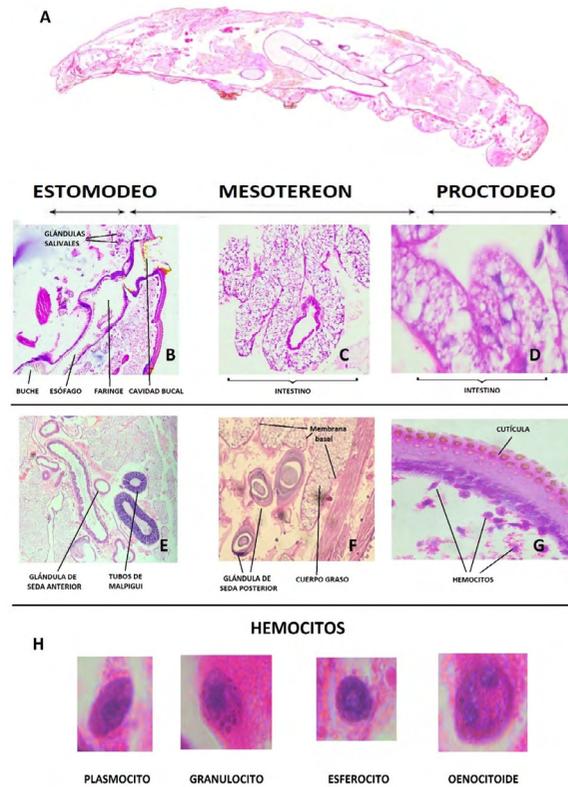


Figura 4. Características microscópicas de larva *Galleria mellonella*. A. Larva completa por reconstrucción topográfica de la anatomía microscópica. B. Estomodeo o región anterior formada por cavidad bucal, faringe, esófago y el buche, región que presenta revestimiento por una capa de células escamosas y presencia de músculo liso (longitudinal interna y circular externa). C. Mesotereon o región media que presenta membrana peritrófica, revestimiento por una capa de células columnares con microvellosidades y células regenerativas, en la parte distal presenta músculo y tejido conectivo. D. Proctodeo o región posterior revestida por células epiteliales cilíndricas con microvellosidades, lámina propia y musculo circular y longitudinal. E. Túbulos formados por una capa de células cilíndricas, glándula exocrina anterior de forma tubular. F. Glándula de seda posterior que contiene fibroínas con función bioadherente, cuerpo graso que sirve de almacenamiento de energía y síntesis de carbohidratos, lípidos y proteínas. G. Cutícula de apariencia gruesa acelular y hemocitos. H. Tipos de hemocitos presentes en hemolinfa.

4. Cuerpo graso

El cuerpo graso desempeña un papel importante en el almacenamiento de energía y síntesis de carbohidratos, lípidos y proteínas en *G. mellonella*. El cuerpo graso es un componente del sistema inmunitario y la fuente de energía. Está organizado en lóbulos cubiertos con una capa de tejido conectivo en forma de membrana basal (Fig. 4G) y sus componentes son glicoproteínas y fosfolipoproteínas⁽¹⁶⁾.

5. Respuesta inmune celular

La respuesta inmune celular está mediada por células fagocíticas, llamadas hemocitos. Los hemocitos se encuentran en la hemolinfa, de forma análoga a la sangre de los mamíferos⁽¹⁷⁾. Estas células participan en los procesos de fagocitosis, encapsulación y coagulación. La mayoría circulan libremente en la hemolinfa y otros se encuentran adheridos en tejidos. En *G. me-*

llonella sobresalen 4 tipos de hemocitos (Fig. 4H) que varían según su forma y la función que cumplen^(1,18,19).

- Plasmocitos: tienen forma redonda o fusiforme (8-10 μM), cuentan con un núcleo central y un citoplasma amplio y vacuolado, encargados de la fagocitosis. Los plasmocitos contienen enzimas lisosomales y son el tipo de célula más abundante.
- Granulocitos: tienen forma redondeada o de disco (8-12 μM), su núcleo suele ser central normocrómico pequeño, rodeado de un citoplasma lleno de gránulos.
- Esferocitos: son ovalados o redondos (10-15 μM), poseen un núcleo central, en ocasiones casi imperceptible, debido a las densas inclusiones presentes en el citoplasma.
- Oenocitoides: son células grandes (12-20 μM), binucleadas, no fagocíticas que pueden contener profenoloxidasas, y el citoplasma suele ser basófilo.

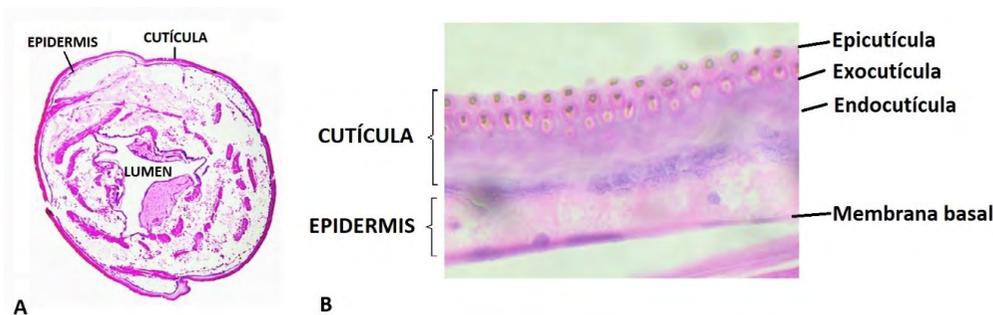


Figura 5: Tegumento de *Galleria mellonella*: cutícula y epidermis. A. Corte transversal 5X. B. Aumento 40X

Conclusiones

Los procesos de fijación y la técnica histológica utilizados permitieron realizar de manera exitosa la evaluación y descripción del modelo animal *G. mellonella*. Se identificó la anatomía entomológica y se llevó a cabo la descripción histológica de las estructuras de los órganos internos que lo conforman. Esta descripción sirve como herramienta de ayuda en la observación de cambios histopatológicos ante agentes infecciosos o nuevas sustancias que sean empleadas como objeto de investigación.

Agradecimientos: Laboratorio de Técnica Histológica de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud

Financiamiento: Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá Colombia

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflictos de intereses.

Referencias

1. **Tsai CJ-Y, Loh JMS, Proft T.** Galleria mellonella infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*. 2016;7(3):214–29. DOI: 10.1080/21505594.2015.1135289
2. **Kavanagh K, Sheehan G. T** The Use of Galleria mellonella Larvae to Identify Novel Antimicrobial Agents against Fungal Species of Medical Interest. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(3):113. DOI: 10.3390/jof4030113
3. **Wojda I, Staniec B, Sufek M, Kordaczuk J.** The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathog Dis*. 2020;78(9):ftaa057. DOI: 10.1093/femspd/ftaa057
4. **Aparecida Procópio Gomes L, Alves Figueiredo LM, Luiza do Rosário Palma A, Corrêa Geraldo BM, Isler Castro KC, Ruano de Oliveira Fugisaki L, Jorge AOC, de Oliveira LD, Junqueira JC. Punica granatum L.** (Pomegranate) Extract: In Vivo Study of Antimicrobial Activity against *Porphyromonas gingivalis* in *Galleria mellonella* Model. *ScientificWorldJournal*. 2016;2016:8626987. DOI: 10.1155/2016/8626987.
5. **Cutuli MA, Petronio Petronio G, Vergalito F, Magnifico I, Pietrangelo L, Venditti N, et al.** *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. *Virulence*. 2019;10(1):527–41. DOI: 10.1080/21505594.2019.1621649
6. **Villalobos-Moreno A, Agudelo M JC, Arrieta P DM. Villalobos M. A, Agudelo M. JC, Arrieta P. DM.** *Histología de Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (hymenoptera) como aporte entomológico. Parte I: Regiones corporales, organización anatómica e integumento. *Bol. cient. mus. hist. nat. univ. caldas*. 2010;14(2):201-14. Disponible en: <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/boletincentifico/article/view/5269>
7. **Wu G, Liu Y, Ding Y, Yi Y.** Ultrastructural and functional characterization of circulating hemocytes from *Galleria mellonella* larva: Cell types and their role in the innate immunity. *Tissue Cell*. 2016 Aug;48(4):297–304. DOI: 10.1016/j.tice.2016.06.007.
8. **Lu A, Zhang Q, Zhang J, Yang B, Wu K, Xie W, et al.** Insect prophenoloxidase: the view beyond immunity. *Front Physiol*. 2014;5:252. DOI: 10.3389/fphys.2014.00252
9. **Loh JMS, Adenwalla N, Wiles S, Proft T.** *Galleria mellonella* larvae as an infection model for group A streptococcus. *Virulence*. 2013;4(5):419–28. DOI: 10.4161/viru.24930
10. **Salazar-Escobar JA, Villalobos-Moreno A.** Algunas notas sobre el integumento quitinoso e iridiscente en la clase Insecta (Arthropoda: Hexapoda) . *Rev. Chilena Ent.* 2021;47(3). <https://www.biotaxa.org/rce/article/view/70348>
11. **Barbosa P, Berry D, Kary C.** *Insect Histology: Practical Laboratory Techniques*. John Wiley & Sons, Ltd; 2014.
12. **Triplehorn C, Johnson N.** *Borror and DeLong's Introduction to the study of insects*. 7th ed. Thompson Brooks / Cole; 2005.
13. **Chapman RF.** *The Insects Structure and function*. Cambridge University Press; 2016.
14. **Kludkiewicz B, Kucerova L, Konikova T, Strnad H, Hradilova M, Zaloudikova A, et al.** The expansion of genes encoding soluble silk components in the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2018; 106:28-38. DOI: 10.1016/j.ibmb.2018.11.003.
15. **Sehnal F, Sutherland T.** Silks produced by insect labial glands. *Prion*. 2008;2(4):145-53. DOI: 10.4161/pri.2.4.7489.
16. **Kryukova NA, Mozhaytseva KA, Rotskaya UN, Glupov V V.** *Galleria mellonella* larvae fat body disruption (Lepidoptera: Pyralidae) caused by the venom of *Habrobracon brevicornis* (Hymenoptera: Braconidae). *Arch Insect Biochem Physiol*. 2021;106(1):e21746. DOI: 10.1002/arch.21746.
17. **Ménard G, Rouillon A, Cattoir V, Donnio PY.** *Galleria mellonella* as a Suitable Model of Bacterial Infection: Past, Present and Future. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:782733. DOI: 10.3389/fcimb.2021.782733.
18. **Kavanagh K, Reeves EP.** Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev*. 2004;28(1):101–12. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.00
19. **Vogelweith F, Moret Y, Monceau K, Thiéry D, Moreau J.** The relative abundance of hemocyte types in a polyphagous moth larva depends on diet. *J Insect Physiol*. 2016;88:33–9. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.02.010



Bacteriófagos más allá de la fagoterapia: aplicaciones para el control bacteriano en la clínica, la industria y el ambiente

Bacteriophages beyond phage therapy: applications for bacterial control in the clinic, industry, and the environment

Marlon Alexis Gallego Gómez, Judy Natalia Jiménez Quiceno

Resumen

Introducción: Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias, representan la entidad más abundante del planeta, son bastante ubicuos ya que se encuentran en la mayoría de ecosistemas. Sobre la base de sus características únicas y propiedades antibacterianas, son cada vez más atractivos en aplicaciones más allá de la fagoterapia.

Objetivo: Describir las aplicaciones que se han enfocado en ampliar el uso de los fagos para control, principalmente de biopelículas, ya sea en superficies bióticas (alimentos) o abióticas (superficies, agua y redes de distribución, entre otras.), así como también en sectores tan diversos que incluyen la industria, la clínica y el ambiente con resultados prometedores.

Metodología: Búsqueda bibliográfica en las bases de datos PMC Medline y ScienceDirect de literatura publicada entre los años 2005-2021.

Resultados: los resultados de los estudios muestran un panorama bastante prometedor sobre la utilidad de los fagos como estrategia de control en los diferentes contextos analizados.

Conclusión: los bacteriófagos conforman una herramienta eficaz que permitirá en un futuro próximo mejorar procesos industriales, la salud humana y ambiental.

Palabras clave: Bacteriophages, biocontrol, biopelículas, coctel de fagos, superficies, resistencia antimicrobiana.

Integrantes Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada – MICROBA, Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correo de correspondencia:
jnatalia.jimenez@udea.edu.co

Recepción: 5/07/2022. Aceptación: 18/07/2022

Cómo citar este artículo: Gallego Gómez, M., Jiménez Quiceno, J.N. Bacteriófagos más allá de la fagoterapia: aplicaciones para el control bacteriano en clínica, industria y ambiente. Hechos Microbiol. 2022;13(1)20-36. DOI: 10.17533/udea.hm.v13n1a03

Abstract

Introduction: Bacteriophages are viruses that infect bacteria, they represent the most abundant entity on the planet, they can be found in almost all ecosystems. Based on their unique characteristics and antibacterial properties, they are becoming increasingly attractive in other applications rather than phage therapy.

Objective: to describe applications that have focused on expanding the use of phages for the control, mainly of biofilm, either on both biotic (food) or abiotic surfaces (water, and distribution networks, among others), as well as in sectors so diverse such as industry, the clinic and the environment with promising results.

Methodology: Bibliographic search published between the years 2005-2021 in the PMC Medline and ScienceDirect databases.

Results: The results of the studies show a very promising prospect on the usefulness of phages as a control strategy in the different contexts analyzed.

Conclusion: Bacteriophages are an effective tool that will allow in the near future to improve industrial processes, human and environmental health.

Keywords: Bacteriophages, biocontrol, biofilms, phage cocktail, surfaces, antimicrobial resistance.

una herramienta para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias, en lo denominado fagoterapia; no obstante, este re-descubrimiento ha dejado claro que sus características biológicas únicas y propiedades intrínsecas los hacen importantes en otros escenarios, en ese sentido se han empezado a explorar los fagos como agentes controladores de biopelículas y en otros sectores como el ambiente, la industria y la clínica.

Metodología de la búsqueda de la información

La información utilizada en esta revisión se obtuvo de dos bases de datos bibliográficas: PMC Medline y ScienceDirect. Se seleccionaron artículos en español e inglés publicados entre los años 2005-2021. Los descriptores utilizados en la búsqueda se relacionaron con: “Bacteriophage” or “Phage” and: (i) “Bacteriophage applications” (ii) “Phage biocontrol” (iii) “Biofilm”.

Los artículos seleccionados incluyeron artículos originales, revisiones y revisiones sistemáticas. La selección de artículos se centró en aquellos cuyas aplicaciones fueran diferentes a fagoterapia dándole importancia a aquellos artículos relacionados con el control bacteriano en la clínica, la industria y el ambiente.

Introducción

Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias, su biomasa excede por mucho a la mayoría de organismos vivos y son particularmente ubicuos, se encuentran en la mayoría de hábitats donde se hallan sus hospederos. Fueron descubiertos a principios del siglo XX de forma independiente por Frederick Twort y Felix d’Herelle, este último enfocándolo en el tratamiento de enfermedades infecciosas con mucho éxito; sin embargo, su uso disminuyó con el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming. No obstante, el uso desmedido de los antibióticos ha llevado a lo que muchos han denominado una era post-antibiótica con altas tasas de resistencia, por lo que el uso de los bacteriófagos y su “re-descubrimiento” ha tomado gran fuerza. Durante los últimos años los esfuerzos se han centrado en el uso clínico de los bacteriófagos como

Historia de los bacteriófagos y primeras aplicaciones

En 1896, el bacteriólogo británico Ernest Hankin, informó por primera vez sobre la posible actividad antibacteriana que existía en las aguas del río Ganges y el río Yamuna en India, frente a microorganismos causantes del cólera. Sin embargo, en ese momento el agente antibacteriano no pudo ser identificado y las implicaciones de sus hallazgos no tuvieron mayor repercusión científica, y el suceso fue designado como el “fenómeno Hankin”^[1].

Fue solo hasta 1915 y 1917 que los científicos Frederick Williams Twort (1877-1950) y Felix d’Herelle observaron de manera independiente la existencia de virus que lisaban bacterias. Twort encontró en un cultivo bacteriano la presencia de pequeñas placas de lisis al que denominó “Factor lítico bacteriano” y se-

ñaló que dicho factor responsable de la lisis podría ser un virus. Posteriormente, en 1917, el francés Felix d'Herelle reportó el hallazgo de un "microbio invisible antagónico del bacilo de la disentería" a los cuales denominó bacteriófagos. Así, el mérito del descubrimiento de los bacteriófagos recayó de forma tácita en estos dos investigadores^[2].

Las primeras aplicaciones alrededor de los bacteriófagos ocurrieron posterior a 1917, al ser el pionero, d'Herelle comenzó a probar sus filtrados en pacientes humanos en compañía del doctor Victor-Henri Hutinel en el Hospital des Enfants-Malades de París, allí demostró la seguridad de sus fagos, al ingerirlos él mismo, y la eficacia de los mismos, al tratar a un niño de 12 años con cuadro de disentería severa, quien resolvió los síntomas después de un solo tratamiento y se recuperó por completo. Posteriormente, se administró a otros tres pacientes, los cuales comenzaron a recuperarse dentro de las 24 horas posteriores^[3]. En 1923, dos médicos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Baylor informaron resultados exitosos de uno de sus ensayos de terapia con fagos realizados en los Estados Unidos y concluyeron que los bacteriófagos tenían muy buena capacidad antimicrobiana^[4]. En la década subsiguiente d'Herelle siguió trabajando en seguir aislando fagos y los continuó suministrando a pacientes con muy buenas tasas de curación, se implementó entonces el término fagoterapia para referirse al tratamiento, con fagos, de pacientes con infecciones bacterianas.

Sin embargo, el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming y la capacidad de producción a gran escala terminó por excluir los bacteriófagos a una esfera muy pequeña, llevando su uso casi a su exterminio. No obstante, luego de la segunda guerra mundial y a la subsiguiente guerra fría, los soviéticos retomaron los estudios de d'Herelle y siguieron implementando esta técnica para su beneficio.^[5] La posterior caída del muro de Berlín y la reciente necesidad de contar con alternativas para el tratamiento de bacterias resistentes a los antibióticos hizo que se retomara el estudio de los bacteriófagos con fines curativos por parte de occidente. El panorama actual es increíblemente prometedor y cada vez cobra más relevancia las futuras aplicaciones en temas de fagos, ya no solo en el ámbito clínico, sino también en el campo industrial, de alimentos y de desinfección^[6].

Características de los bacteriófagos y proceso de infección en la célula bacteriana

La clasificación taxonómica de los fagos se basa principalmente en su forma, tamaño y tipo de material genético. Los más abundantes pertenecen al orden *Caudovirales*, que se caracterizan por presentar ADN de doble cadena, se dividen en tres familias: *Myoviridae*, *Podoviridae* y *Siphoviridae*, basados en las características de la morfología de la cola^[7].

En términos generales la forma en la cual los bacteriófagos pueden infectar a sus hospederos se puede clasificar según dos ciclos de vida diferentes, lítico y lisogénico^[8]. En la mayoría de los fagos, el ciclo lítico termina con la lisis de la bacteria huésped y la liberación de su progenie (Fig. 1). Por ende, las propiedades antimicrobianas de los bacteriófagos están ligadas precisamente al ciclo lítico (fagos líticos) ya que se pretende que el huésped infectado muera. Por el contrario, en el ciclo lisogénico los bacteriófagos (fagos temperados) tienen la habilidad de establecer su genoma en el cromosoma bacteriano (profago) sin destruir su hospedero; sin embargo, pueden cambiar al ciclo lítico una vez encuentran señales ambientales desencadenantes, de forma tal que eliminan sólo a una pequeña porción de la población infectada.

La adsorción del bacteriófago y la liberación de la nueva progenie juegan un papel clave en el proceso de infección ya que en este paso algunos fagos poseen polisacáridos depolimerasa que son enzimas hidrolíticas específicas que pueden escindir polisacáridos o sus derivados como sustrato; diversos modelos bacterianos poseen cápsidas de polisacáridos o pueden formar agregados usando azúcares [9]. Se ha demostrado que la actividad de las enzimas hidrolíticas está relacionada con las proteínas de la punta de la cola del fago^[10]. La presencia de polisacáridos depolimerasa confiere al fago una ventaja evolutiva ya que potencia el proceso de adsorción y dispersión para iniciar el proceso de infección en nuevas bacterias. Adicionalmente, algunos fagos están provistos de enzimas líticas que se denominan VAPGH (hidrolasas de peptidoglicano asociadas a bacteriófagos), que desempeñan un papel importante en el primer paso del ciclo de infección. Su actividad produce un orificio en la pared celular a través del cual el material genético del fago ingresa al citoplasma, y genera una lisis

–externa– inducida por la adsorción de un elevado número de fagos a la célula^[11]. Recientemente, estas proteínas también han sido propuestas como antimicrobianos potenciales debido a su actividad lítica^[12].

Por otra parte, la mayoría de fagos de cadena doble codifican otras proteínas líticas, denominadas endolisinas, que actúan junto con proteínas llamadas holinas para romper la pared celular y lisar la bacteria huésped en el último paso del ciclo de infección lítica, denominada también lisis –interna–. Las endolisinas, que también son hidrolasas de peptidoglicano, acceden al espacio periplásmico a través de orificios formados por las holinas en la membrana citoplasmática. La hidrólisis de peptidoglicano produce la desestabilización de la estructura de la pared celular y genera una lisis generalizada por el aumento de la presión osmótica en el interior del citoplasma. En las bacterias Gram positivas, las endolisinas son capaces de degradar el peptidoglicano cuando se añaden desde el exterior de la célula, lo que les confiere una actividad antimicrobiana^[13]. En las bacterias Gram negativas, el peptidoglicano está protegido por la membrana externa, por lo que estas bacterias pueden resultar resistentes a las endolisinas.

Sin embargo, recientemente se han descrito endolisinas modificadas denominadas Artilisinas, que logran penetrar la membrana externa, al combinar la endolisina con un péptido policatiónico, permitiendo su efectividad frente a estas bacterias^[14].

El uso de proteínas con actividad lítica antimicrobiana codificadas por fagos, presenta ventajas sobre el uso de la partícula viral completa; por ejemplo, a la fecha no se ha descrito ninguna bacteria resistente a las proteínas líticas producidas por los fagos^[12]. Además, el espectro de actividad de las endolisinas suele ser más amplio que el rango de huéspedes de los bacteriófagos, así mismo, no hay riesgo de transferir genes de virulencia, convirtiéndose en candidatas perfectas para posibles tratamientos en humanos^[15].

Teniendo en cuenta las propiedades que presentan bacteriófagos y las proteínas derivadas de estos frente a bacterias, se plantean como una excelente herramienta no solo para fagoterapia, ampliamente descrito en la literatura, sino además para procesos de desinfección y control bacteriano en el área clínica, ambiental, agrícola y en la industria de medicamentos y alimentos^[16].

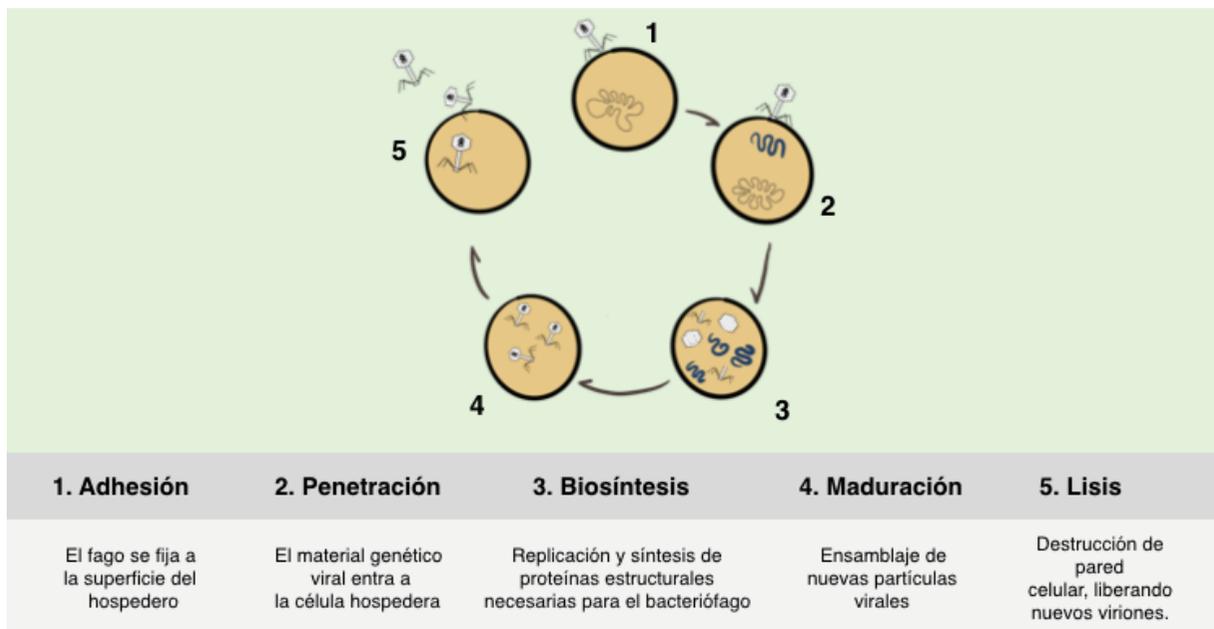


Figura 1. Ciclo Lítico

Aplicaciones de fagos: Prevención y control de biopelículas

COMPOSICIÓN Y FUNCIÓN DE LA BIOPELÍCULA BACTERIANA

Las biopelículas son agregados bacterianos que juegan un papel importante en la persistencia microbiana, fueron descritas por primera vez por Van Leeuwenhoek en las superficies de los dientes, donde el crecimiento de microorganismos formaban comunidades con capacidad de adherencia, desarrollando una placa visible^[17]. No obstante, sólo hasta 1978 la teoría de las biopelículas fue finalmente propuesta por Costerton y colaboradores^[18].

Las biopelículas están compuestas por bacterias individuales que se unen entre sí formando conglomerados, éstos secretan una matriz de polisacáridos, fibrina, lipoproteínas y otras sustancias que se incrustan en la matriz polimérica extracelular para formar el agregado o biopelícula^[19]. Dichos polímeros extracelulares son fundamentales para la estructura y la estabilidad de las mismas^[20], tanto así que en la mayoría de las biopelículas bacterianas, la proporción de microorganismos en materia seca es tan solo el 10% en comparación con la matriz extracelular, que puede representar hasta el 90 %, conformando la estructura tridimensional que soporta la adhesión superficial y la cohesión que mantiene su integridad^[21]. Esta estructura funciona como una barrera de difusión y puede unirse directamente a los agentes antibacterianos para evitar que penetren impidiendo su acción, por lo que dicha característica hace que su tratamiento sea más difícil.

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS

La formación de biopelículas es un proceso variado que se puede dividir en dos etapas. En una etapa temprana las células bacterianas se adhieren a una superficie y luego crecen generando una comunidad fija. Posteriormente, se dispersan de la comunidad formada a un nuevo entorno y comienzan un nuevo ciclo^[22].

En la primera etapa de la formación, la adhesión a la superficie se puede dar de dos formas, en unión reversible e irreversible. La adhesión reversible está mediada por fuerzas de Van der Waals no específicas, de tipo electrostático. Por el contrario, la adhesión irreversible se basa en la adhesión mecánica de las bacterias usando el *pili* o sus flagelos a la superficie de unión^[23, 24]. Cuando las células bacterianas libres se adhieren a la superficie de forma irreversible, se reproducen y van acompañadas de una síntesis de matriz polimérica extracelular. La matriz de polímero extracelular conduce a que se potencie la adsorción mutua y genere mayor unión a la superficie del objeto. El crecimiento continuo de células bacterianas en la superficie adherida va madurando gradualmente, formando una estructura compacta que consta de millones de células estrechamente espaciadas. La etapa final de la formación, es que las células se separan de la población y se difunden en el medio ambiente para formar la siguiente biopelícula. Esta es una etapa esencial y evolutiva que contribuye a la propagación biológica, la supervivencia bacteriana y la resistencia a agentes externos^[25] (Fig. 2).

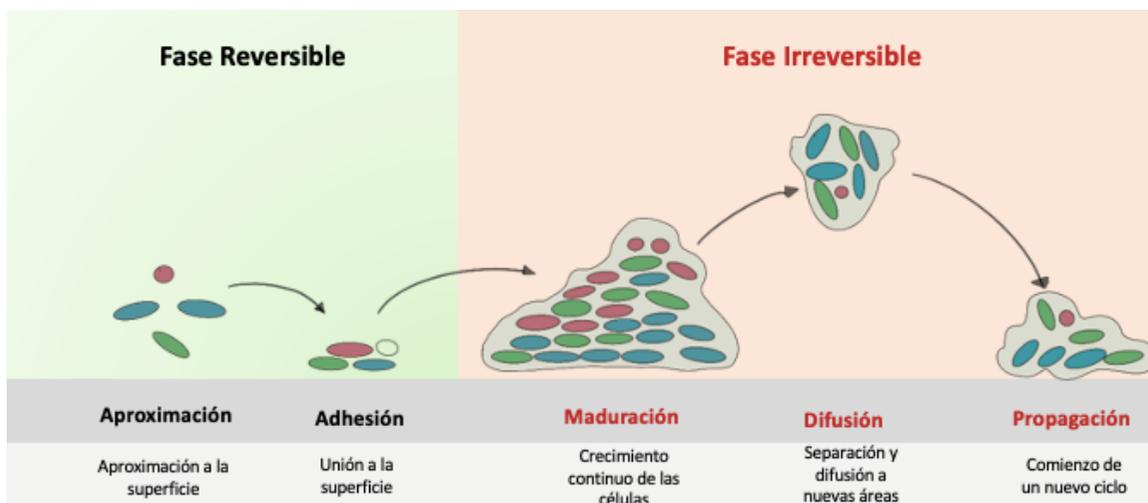


Figura 2. Ciclo de formación de biopelículas

Las biopelículas pueden desarrollarse a partir de la misma bacteria, pero también pueden formarse por diferentes bacterias^[26]. La difusión de la biopelícula también se puede dividir en tres etapas. Primero, las células bacterianas se separan de las colonias formadas. En segundo lugar, las bacterias se trasladan a una nueva ubicación. Por último, las células bacterianas se trasladan a un lugar adecuado para terminar de adherirse. Este mecanismo incluye también una difusión activa y pasiva. El primero lo llevan a cabo activamente las bacterias, y el segundo es la transferencia de partículas ya establecidas de biopelícula por acción de fuerzas externas. La difusión se puede clasificar según el patrón que sigan las bacterias que incluye: erosión, desprendimiento y siembra. La liberación continua de células individuales o pequeños grupos de células de la biopelículas, en niveles bajos, se denomina erosión. La pérdida rápida y masiva de biopelícula se conoce como desprendimiento y la liberación rápida de una cantidad de células individuales o pequeños grupos de células de una cavidad hueca formada dentro de una colonia de biopelícula se denomina siembra^[27, 28].

BIOPELÍCULAS BACTERIANAS EN SALUD Y LA INDUSTRIA

La mayoría de las bacterias pueden formar biopelículas, una vez establecidas, se afecta la respuesta inmune por parte del huésped, y la bacteria incrementa su virulencia y la resistencia antimicrobiana, lo que favorece su supervivencia y viabilidad. Las biopelículas son estructuras difíciles de eliminar, permiten que las bacterias permanezcan por mucho tiempo en el sitio anatómico o del dispositivo médico que invaden conduciendo a infecciones crónicas de difícil curación^[29, 30]; así mismo, las bacterias pueden liberarse de la biopelícula y causar nuevos focos de infección. El instituto nacional de salud de los estados unidos (NIH, del inglés National Institutes of Health) estima que las biopelículas están involucradas en el 65% de las infecciones bacterianas y en más del 80% de las infecciones crónicas^[31]. En el campo médico, también se han asociado a superficies e instrumentos hospitalarios. En la

industria de alimentos y medicamentos, la inocuidad, se ve afectada por la presencia de biopelículas en el sistema de procesamiento del producto, las cuales son resistentes a los procesos de limpieza y desinfección, implicando un riesgo para la Salud Pública^[32, 33].

Así mismo, en sistemas de tratamientos de aguas potables y residuales, las biopelículas son difíciles de manejar, principalmente en los sistemas de filtración y de circulación^[34, 35].

ELIMINACIÓN DE LAS BIOPELÍCULAS POR FAGOS

Los bacteriófagos pueden eliminar las biopelículas de tres formas principales: (i) los fagos lisogénicos pueden integrarse en el genoma bacteriano y afectar la formación de la biopelículas [36]; por ejemplo, se ha descrito como la integración del fago Bxb1 inactiva el gen *groEL1* de *Mycobacterium smegmatis*, este proceso ocasiona que las bacterias floten de forma libre y se evita la formación de la biopelícula madura^[37]; (ii) El fago limpia la biopelícula y lisa las células planctónicas codificando enzimas que catalizan la ruptura de enlaces denominadas liasas^[38], se han modificado bacteriófagos capaces de expresar la enzima DspB para degradar la β -1,6-N-acetil-D-glucosamina durante la infección, que es una adhesión crucial necesaria para la biopelícula; la DspB codificada por fagos se libera en el medio ambiente con la lisis de la célula huésped, lo que provoca una mayor degradación de la biopelícula y, por lo tanto, controla la formación de la misma. Este fenómeno demuestra la viabilidad de utilizar fagos modificados genéticamente con actividad enzimática degradante de biopelículas para reducirlas^[39]. (iii) El fago expresa enzimas que degradan los polímeros extracelulares, destruye la matriz de polisacáridos y las proteínas encapsulantes limpiando la barrera protectora bacteriana y luego ingresando a la biopelícula para destruir las bacterias. Se han descrito las estrategias en las cuales el uso de bacteriófagos disminuye o remueve la formación de biopelículas (Fig. 3).

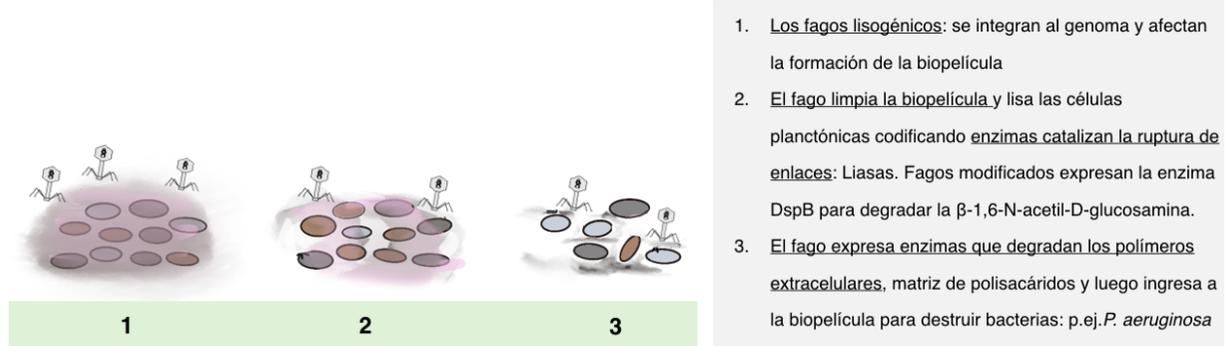


Figura 3. Modelo de figura de acción de fagos en biopelícula

Es así, como se han descrito fagos que pueden degradar los exopolisacáridos de *Pseudomonas aeruginosa*^[40]. Las depolimerasas producidas por la mayoría de los fagos solo reconocen los polisacáridos derivados del huésped y tiene ciertas limitaciones para expandir su espectro de acción^[41]. Sin embargo, se propone que de mano de la ingeniería genética, esta limitación se pueda superar en corto plazo para modificar las depolimerasas fágicas y ampliar su espectro de acción en futuros fagos.

La capacidad de eliminación de biopelículas por parte de los bacteriófagos ha hecho que se empleen en un número importante de escenarios en los que encontramos la industria de alimentos como principal jugador en la incorporación de su uso, así como también en medio acuático y de forma reciente en el área clínica (Tabla 1).

FAGOS EMPLEADOS PARA EL CONTROL DE BIOPELÍCULAS EN EL ÁREA CLÍNICA

Recientemente se han utilizado con éxito fagos para reducir biopelículas en catéteres médicos y se empiezan a desarrollar productos comerciales para controlar bacterias productoras de biopelícula^[42]. Un ejemplo de esto, es el trabajo adelantado en *Proteus mirabilis*, que forma una densa biopelícula cristalina en catéteres, dando como resultado un bloqueo en el flujo de orina. En la etapa temprana de la infección bacteriana, se han encontrado fagos que pueden eliminar *P. mirabilis* reduciendo significativamente la formación de este tipo de recubrimientos^[43]. Así mismo, infecciones protésicas recurrentes debido a la presencia de biopelículas producida por *Klebsiella pneumoniae* se han

manejado con fagos con actividad lítica frente a esta bacteria, logrando resultados satisfactorios en comparación con los antibióticos^[44].

Las biopelículas formadas por *Enterococcus faecalis* y otras bacterias patógenas en la cavidad oral están comprometiendo la salud bucal^[45, 46]. Sin embargo, se han caracterizado fagos líticos que infectan y matan de manera eficiente cultivos planctónicos y sésiles de *E. faecalis*, tanto in vitro como in vivo, en modelos experimentales de infección del conducto radicular del diente^[47]. Este tipo de resultados de erradicación en la formación de la biopelícula implica una nueva forma en la mejora del tratamiento en infecciones orales en las cuales la formación de la biopelícula es tan común. En hospitales es muy frecuente la formación de biopelículas por parte de *P. aeruginosa* además que es una bacteria que exhibe una resistencia natural importante a los antibióticos, lo que ha atraído una atención generalizada para la búsqueda de bacteriófagos con actividad frente a esta bacteria^[48]. Se ha demostrado que fagos de la familia *Podoviridae* y *Myoviridae* pueden eliminar satisfactoriamente *P. aeruginosa* en modelos murinos y en las vías respiratorias de pacientes con fibrosis quística.

FAGOS EMPLEADOS PARA EL CONTROL DE BIOPELÍCULAS EN MEDIO ACUÁTICO

Los fagos pueden resolver la corrosión agravada de la infraestructura de distribución de agua y el bioincrustamiento debido a la generación de biopelículas. También pueden suprimir selectivamente la proliferación y la formación de espumas que pueden dificultar la clarificación de lodos, así como también reducir de forma preventiva la difusión de cepas resistentes a los

antibióticos en los sistemas biológicos de tratamiento de aguas residuales^[49].

Las biopelículas de *P. aeruginosa* a menudo obstruyen los filtros en las plantas de tratamiento de agua potable y aumentan los costos de limpieza. Recientemente se han aislado fagos de aguas residuales para reducir la formación de biopelículas de *P. aeruginosa* y se ha demostrado una sinergia cuando se agregan compuestos clorados para su eliminación^[50].

Por otro lado, también se ha encontrado que los fagos pueden reducir las tasas de adhesión microbiana en los módulos de membranas de ultrafiltración entre un 40 % y un 60 % y además, usados en sinergia en modo de cóctel pueden prevenir la formación de futuras biopelículas^[51]. El uso de fagos para controlar la contaminación del agua y los posibles daños en ductos de distribución causados por la formación de biopelículas como incrustados es una nueva tecnología rentable y respetuosa con el medio ambiente.

FAGOS EMPLEADOS PARA EL CONTROL DE BIOPELÍCULAS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

En el sector alimentario, de forma reciente e importante, se han empezado a explorar las actividades

bactericidas de los fagos y sus enzimas en el tratamiento y descontaminación de bacterias patógenas, en ese sentido se han reportado un número importante de fagos, ya sea de forma individual o en forma de cóctel contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *C. jejuni*, *E. coli* O157:H7 y *S. entérica*, entre otros, con resultados prometedores^[52]. En general, estos resultados mostraron un potencial notable de fagos y proteínas derivadas de fagos, pero sin duda se necesitan estudios adicionales para transferir este conocimiento a la industria alimentaria. Por ejemplo, la aplicación de estos compuestos anti-biopelícula sería factible siempre que su aplicación pueda implementarse como parte de los procesos estándar de limpieza en las instalaciones industriales. Por lo tanto, el estudio de sinergia-antagonismo con desinfectantes y la efectividad a las temperaturas comúnmente utilizadas en la industria podría ser importante. Cabe señalar también los escasos datos disponibles sobre el uso de fagos y proteínas líticas de fagos contra biopelículas formadas por varias especies en superficies industriales de alimentos. Este vacío debe llenarse para profundizar en el control de las biopelículas bacterianas^[47].

Tabla 1. Artículos relacionados con la eliminación de biopelículas

Área	Autor, Año, [Ref]	Aplicación
Clínica	J. Nzakizwanayo <i>et al</i> , 2015 ^[43] .	Bacteriófagos previenen el bloqueo y la incrustación de <i>Proteus mirabilis</i> en catéteres urinarios
	E. J. Cano <i>et al</i> , 2021 ^[44] .	Actividad de fagos contra biopelículas de <i>klebsiella pneumoniae</i> en prósticos
	L. Khalifa <i>et al</i> , 2015 ^[45] .	Destrucción de biopelículas de <i>Enterococcus</i>
	M. Shlezinger <i>et al</i> , 2019 ^[46, 47] .	Formulación de bacteriófagos contra <i>E. faecalis</i> Tratamiento oral de patógenos mediante uso de fagos
Aguas	J. Mathieu <i>et al</i> , 2019 ^[49] .	Control bacteriano basado en fagos en diferentes componentes de los sistemas de tratamiento, distribución y reutilización del agua.
	Y. Zhan <i>et al</i> , 2023 ^[50] .	Tratamiento de biopelículas producidas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> con bacteriófagos y cloroquinas en ductos acuáticos
	G. Goldman <i>et al</i> , 2009 ^[51] .	Reducción de la formación de biopelículas en membranas de ultrafiltración para el tratamiento de aguas
Alimentos	N. Adachi <i>et al</i> , 2012 ^[85] .	Control de bacterias que causan putrefacción de semillas y plántulas de arroz mediante fagos
	T. Abuladze <i>et al</i> , 2008 ^[79] .	Reducción de contaminación experimental mediante el uso de bacteriófagos en tomate, espinaca, brócoli y derivados cárnicos
	A. Vikram <i>et al</i> , 2020 ^[88] .	Biocontrol por fagos y sus aplicaciones en producción y procesamiento de alimentos

Tratamientos para Mejorar la Efectividad de los Fagos

FAGOS Y ANTIBIÓTICOS PARA LA DESTRUCCIÓN DE BIOPELÍCULAS

La utilización de antibióticos para la remoción de biopelículas presenta limitaciones, debido a que se eliminan las bacterias metabólicamente activas que están sobre la superficie; sin embargo, las bacterias en estado sésil al interior de las biopelículas se ven poco afectadas, haciendo que el efecto del antibiótico no sea el adecuado, e influyendo a que en última instancia aparezcan subpoblaciones resistentes.

Como se ha mencionado previamente, los bacteriófagos tienen la capacidad de reducir las biopelículas y en la actualidad se ha empezado a explorar la actividad sinérgica de ambos tratamientos^[53 - 55]. Un ejemplo de ello es la utilización de fagos modificados para inhibir la red SOS en *E. coli* de forma tal que su inhibición aumenta la letalidad de las quinolonas, lo que demuestra que los fagos modificados pueden mejorar el efecto de los antibióticos en las biopelículas^[56]. Otro ejemplo del uso combinado de fagos y antibióticos se ha explorado en la disolución de las biopelículas de *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*; se ha evidenciado que el fago PEV20 y ciprofloxacina tiene un efecto antibacteriano sinérgico en la eliminación de biopelículas de *P. aeruginosa* en infecciones pulmonares y quemaduras y, a su vez, se reduce la necesidad de emplear altas concentraciones de ambos^[57]. Las investigaciones adelantadas han mostrado que al utilizar combinaciones de fagos y antibióticos, la proporción de ambos tratamientos y las condiciones de administración tienen un gran impacto en el efecto terapéutico. Por lo tanto, es importante determinar adecuadamente las condiciones de la combinación y garantizar su seguridad y eficacia^[58, 59].

ESTRATEGIA DE CÓCTELES DE FAGOS EN LA ELIMINACIÓN DE BIOPELÍCULAS

El uso combinado de diferentes bacteriófagos en forma de mezcla, también denominado cóctel de fagos ha mostrado ser una estrategia potencial para tratar la formación de biopelículas y sus problemas asociados. El uso de cócteles de fagos permite controlar de forma más efectiva un número mayor de bacterias, y se puede reducir de forma sustancial poblaciones resistentes. Hallazgos recientes han mostrado casos exito-

sos en Europa y Estados Unidos, donde la utilización de un cóctel de fagos para el tratamiento de *P. aeruginosa* multirresistente mostraron un mejor efecto, sin presentar antagonismo, en comparación con la utilización de un solo fago^[60]. A su vez, otros hallazgos de la utilización de los cócteles evidencian la reducción e inhibición la dispersión de la biopelícula por *P. aeruginosa* en condiciones bióticas y abióticas^[48]. En otros modelos bacterianos, como *K. Pneumoniae* también se han reportado el uso de cócteles para controlar la formación de biopelículas^[61].

Finalmente, la modificación de fagos se plantea como uno de los campos prometedores para mejorar los tratamientos, en los cuales al emplear múltiples fagos efectivos y rápidos puedan generar mejores resultados.

PRODUCCIÓN DE LISINAS ASOCIADAS A BACTERIÓFAGOS COMO ESTRATEGIA DE ELIMINACIÓN

Las lisinas son enzimas derivadas de fagos que pueden degradar el peptidoglicano bacteriano y tienen un papel vital en el control de las biopelículas. Se han evaluado un número importante de lisinas y se ha reportado que la lisina CF-301 elimina biopelículas en una variedad de situaciones eliminando por completo las biopelículas de *S. aureus* que eran resistentes a altas concentraciones de antibióticos (daptomicina y ciprofloxacina)^[62]. La Lisina P128 es una proteína quimérica con una potente actividad anti-estafilocócica^[63] y posee un efecto destructor de la biopelícula producida por varios estafilococos^[64]. Se ha explorado también el intercambio de componentes estructurales de diferentes lisinas para construir con éxito proteínas con alta actividad bactericida y diferentes rangos de sustrato^[65]. Las combinaciones de lisinas y antibióticos tiene un efecto sinérgico en el tratamiento de las biopelículas de *Streptococcus* y se espera que se convierta en una nueva clase de fármacos anti-biopelícula^[66, 67]. Con respecto a bacterias Gram negativas también se han reportado lisinas con actividad frente a *Acinetobacter baumannii* multirresistente en modelos murinos^[68]. De igual manera, se han reportado otras proteínas diseñadas con efecto sobre la biopelícula de *Streptococcus mutans* in vitro e in vivo, el cual se espera sea un agente preventivo o terapéutico para el tratamiento de la caries dental [69]. Finalmente, esta amplia gama de investigaciones sobre las lisinas ha demostrado su capacidad potencial para tratar varias bacterias patógenas,

y se espera que se desarrolle como un fármaco alternativo para el control de biopelículas en el futuro^[70].

Otras aplicaciones en materia de bacteriófagos

USO DE BACTERIÓFAGOS EN SUPERFICIES

Con base en el uso potencial de bacteriófagos en varios contextos, también se ha explorado su papel como desinfectante en el ambiente hospitalario, ya que dicho ambiente está colonizado por bacterias que potencialmente podrían causar infecciones en los pacientes hospitalizados. De hecho, la contaminación bacteriana persistente en las superficies representa la principal causa de transmisión de las llamadas infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), que son una de las complicaciones más frecuentes e importantes para los pacientes hospitalizados en todos los centros sanitarios del mundo. Varios estudios han demostrado que las superficies de los hospitales están persistentemente contaminadas por varios patógenos, que pueden transmitirse a los pacientes por contacto y causar infecciones^[71, 72]. Dentro de las especies bacterianas más frecuentes encontradas en superficies se describen: *Pseudomonas aeruginosa*^[73, 74], *Staphylococcus aureus* (incluido *S. aureus* resistente a metilina, SARM)^[75] y *Escherichia coli*^[76], que además se encuentran entre los agentes etiológicos más frecuentes causando IAAS.

Los frecuentes procesos de contaminación, asociados con la presencia de pacientes colonizados o infectados, hacen que la eliminación de la contaminación superficial sea una tarea difícil, ya que los productos químicos presentan desventajas, como el efecto temporal, la capacidad de inducir resistencia a antibióticos o productos de limpieza a base de amonio cuaternario^[77, 78] y la eliminación los microorganismos de forma indiscriminada, incluyendo bacterias potencialmente benéficas presentes en las superficies que suelen actuar como “centinelas”.

La idea de utilizar bacteriófagos como descontaminantes de superficies abióticas ya se ha explorado, y se han adelantado estudios in vitro con varias especies bacterianas. Por ejemplo, la utilización de un cóctel de bacteriófagos líticos frente a *E. coli* E157:H7 redujo significativamente las superficies contaminadas artificialmente con esta bacteria, como cubreobjetos de vi-

drio y las placas de yeso, elegidos como prototipos de materiales sólidos y porosos, respectivamente^[79]. De manera similar, se demostró que los cócteles de bacteriófagos líticos reducen significativamente la cantidad de *Salmonella* spp. en superficies de vidrio y acero inoxidable <https://doi.org/10.3390/v11090841>^[80]. Además, la actividad de descontaminación de fagos frente a otras bacterias asociadas a ambientes intrahospitalarios, como *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos y SARM se ha evaluado en superficies de vidrio^[81] fómites y ropa^[82]. Los resultados concuerdan en el potencial que presentan los fagos como descontaminantes de superficies. No obstante, aún se tienen ciertas limitaciones, ya que las condiciones experimentales distan un poco de los entornos reales de atención médica, ya que en la mayoría de los casos, los fagos se usaron contra altas densidades bacterianas que favorecen el encuentro fago-bacteria^[83], así mismo, se diluyeron en grandes volúmenes de solución acuosa, que son útiles para un contacto prolongado fago-bacteria pero que requieren que las superficies permanezcan húmedas por mucho tiempo y no son comparables con lo que sucede a nivel hospitalario^[79].

Finalmente, también se ha venido planteando la utilización de sistemas combinados de fagos con otros productos como probióticos y desinfectantes buscando un efecto sinérgico en las superficies. Los resultados de las pruebas in vitro han mostrado que los fagos combinados con probióticos aparte de mantener la estabilidad resultaron en una actividad de descontaminación más fuerte y más rápida en comparación con los probióticos y fagos usados de forma individual^[84].

USO DE BACTERIÓFAGOS COMO ESTRATEGIA EN CONTROL BIOLÓGICO

La forma en la cual los bacteriófagos invaden de forma específica a su hospedero y las herramientas enzimáticas que utilizan, hacen de estos unos candidatos ideales dentro del control biológico, especialmente en áreas como la agricultura, la que actualmente enfrenta grandes retos en temas de manejo fitopatológico ya que se empieza a reportar un número importante de bacterias resistentes a los tratamientos convencionales.

Estudios recientes muestran que los bacteriófagos son efectivos en la disminución del daño causado por

bacterias fitopatógenas como *Burkholderia glumae* y *B. plantarii* agentes causales de la pudrición de plantas de arroz^[85]; sin embargo, uno de los desafíos recae en que los bacteriófagos son sensibles a las condiciones ambientales, como la radiación solar, la temperatura y la desecación^[86], por lo que investigaciones recientes se han encaminado a desarrollar formulaciones de protección para aumentar la actividad residual e incrementar su eficacia y fiabilidad^[87].

En este sentido, se han evaluado diferentes bacteriófagos co-inoculados con leche descremada y bactericidas a base de cobre contra *Xanthomonas axonopodis* y *V. citri* agentes causales de antracnosis en cítricos de invernadero, reportando disminuciones importantes en la tasa de enfermedad, así mismo se han evaluado asociaciones de inoculación en rizomas^[86, 87] contra las bacterias fitopatógenas como *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas perforans* y *X. euvesicatoria*.

El biocontrol mediante fagos también está siendo aceptado como una tecnología limpia, segura, efectiva y específica al dirigir su acción contra bacterias patógenas presentes en las comidas, por lo que se han empezado a desarrollar y comercializar productos a base de fagos a nivel mundial contra un número importante de bacterias como *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp. y *Staphylococcus aureus*, entre otros. El biocontrol mediado por fagos supone una alternativa frente a los tratamientos tradicionales basados en químicos o alternativas de descontaminación basadas en radiación, en ese sentido el biocontrol específico permitiría la eliminación selectiva de bacterias patógenas alimentarias sin comprometer la microbiota beneficiosa de los alimentos, manteniendo de esta forma la composición microbiana natural preservando su componente nutricional^[88].

ALTERNATIVAS CONTRA BACTERIAS RESISTENTES

Los fagos infectan a sus huéspedes bacterianos de forma muy selectiva y esta propiedad se considera una ventaja sobre el uso de antibióticos tradicionales, ya que el tratamiento con fagos puede centrarse con precisión en el patógeno sin dañar la microbiota acompañante^[89]. No obstante, aunque se ha observado que las bacterias también podrían desarrollar resistencia a los fagos, su frecuencia es mucho menor^[90, 91]; y se ha contrarrestado su emergencia cuando se utilizan có-

teles de fagos^[52, 92]. Sin embargo, es un desafío obtener un conjunto de fagos que sea efectivo contra todas las variantes de un patógeno dado^[52, 93]. Puede haber una compensación entre el rango de hospederos y la eficacia terapéutica de un cóctel para una especie específica de bacteria cuando: i) el número de fagos en un cóctel aumenta en un esfuerzo por incrementar el rango de hospederos, ii) el número de fagos contra un cepa específica de bacterias puede disminuir. Por lo tanto, la especificidad del huésped, aunque en teoría es beneficiosa, plantea un problema práctico cuando se combina con los fenotipos resistentes que puedan emerger.

Se plantea entonces una necesidad de adaptar fagos de forma personalizada de tal manera que se limite la presencia de fagos ineficaces y, por lo tanto, las prácticas de control se benefician de un uso racional y dirigido que se ajusten dependiendo contra que bacterias potenciales se esté enfrentando^[94].

La presencia de bacterias resistentes ha traspasado fronteras y su presencia no solo se ha relacionado con el entorno hospitalario^[95]. Las aguas residuales contienen una gran diversidad de microorganismos, incluyendo bacterias patógenas; así mismo, en ellas se descargan gran cantidad de antibióticos provenientes de las actividades antropogénicas que provocan la aparición continua de bacterias resistentes, lo que representa una gran amenaza para las especies y el medio ambiente^[96, 97].

En este escenario la utilización de fagos para el tratamiento de aguas residuales y como estrategia de biocontrol son dos grandes aristas en las cuales se debe ahondar.

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

La contaminación de las plantas de tratamiento de aguas de consumo y residuales, por patógenos bacterianos transmitidos por el agua, representa un problema de salud mundial, no solo como resultado de la constante morbilidad y mortalidad ambiental que provoca, sino también por el alto costo de los métodos comunes de desinfección en las plantas de tratamiento, que incluyen procedimientos tanto físicos como químicos. Hay una serie de posibles patógenos bacterianos transmitidos por el agua que incluyen a bacterias como el *Vibrio*, *Campylobacter*, *E. coli* O157, *Salmonella* y *Shigella*^[98], que se sabe causan varias enfermedades con diferentes grados de severidad, y existe

una necesidad urgente de encontrar métodos efectivos para contrarrestar su crecimiento y propagación sin impactar el medio ambiente o aumentar la resistencia a los antibióticos. En la búsqueda de enfoques ideales para disminuir los patógenos transmitidos por el agua, los bacteriófagos se han considerado como indicadores de contaminación bacteriana y como buenos candidatos para el tratamiento de aguas residuales. La justificación del uso de fagos como indicadores se basa en su especificidad, por lo que se pueden usar bacteriófagos como trazadores efectivos de patógenos para monitorear y mejorar los métodos de desinfección. Por otra parte, se ha propuesto el uso directo de bacteriófagos con fines de descontaminación para la eliminación de bacterias en sistemas de

tratamiento aeróbico ampliamente utilizados para reducir la cantidad de materia orgánica mediante el uso de microorganismos como *Aeromonas*, *Pseudomonas* y *Campylobacter*, y para el control de la espuma^{99, 100}. Sin embargo, la aplicación efectiva del biocontrol de fagos para el tratamiento de aguas residuales requiere una comprensión total y completa de la dinámica de las comunidades microbianas, ya que estas poblaciones varían entre diferentes plantas, y por esta razón es importante seleccionar y usar fagos específicos capaces de atacar patógenos bacterianos no deseados.

En la figura 4 se describen las principales aplicaciones de los bacteriófagos en las diferentes áreas de la clínica, la industria y el ambiente.

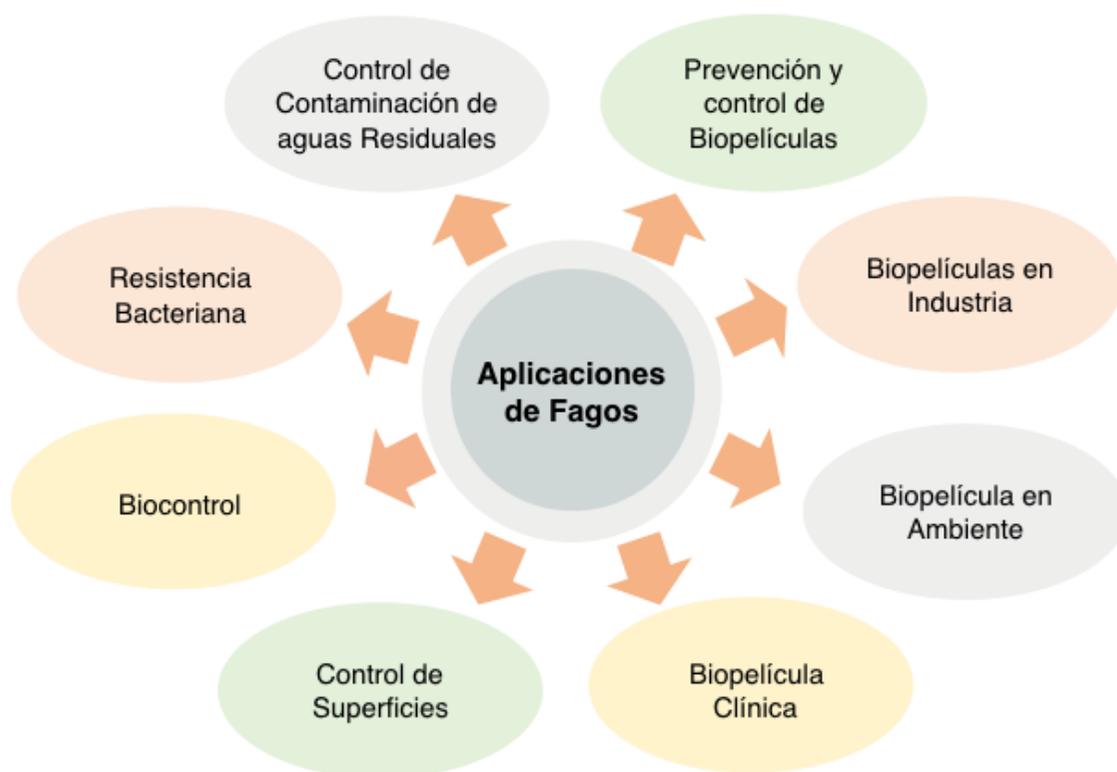


Figura 4. Aplicaciones

Conclusiones

En la literatura científica se evidencia el uso potencial de los bacteriófagos como una estrategia de control en importantes y diferentes contextos. Los resultados relacionados con el uso de bacteriófagos para la disminución o remoción de biopelículas, en sectores de la medicina, la agricultura y la industria son bastante prometedores. En la industria alimentaria el uso de fagos ya está aprobado y en vigor, no obstante en otras áreas, todavía deben resolverse algunos problemas técnicos antes de que los fagos puedan usarse ampliamente como descontaminantes. En conjunto, los resultados informados abren el camino a nuevas e interesantes perspectivas para mejorar la salud humana, procesos industriales y al mismo tiempo, obtener un medio ambiente más saludable.

Fuentes de financiación: Proyecto MinCiencias: Código 111589785393; Financiación Escuela de Microbiología Proyecto: 2021-39930

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Bibliografía

- [1] **Abedon ST, Thomas-Abedon C, Thomas A, Mazure H.** Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? *Bacteriophage*. 2011;1(3):174-178. DOI: 10.4161/BACT.1.3.16591.
- [2] **Summers WC.** Félix Hubert d'Herelle (1873-1949): History of a scientific mind. *Bacteriophage*. 2017; 6(4):e1270090. DOI: 10.1080/21597081.2016.1270090
- [3] **Beckerich A, Hauduroy P.** Le Bacteriophage de d'Herelle: Ses Applications Therapeutiques. *J Bacteriol*. 1923; 8(2):163-71. DOI: 10.1128/jb.8.2.163-171.1923.
- [4] **Ho K.** Bacteriophage therapy for bacterial infections. Rekindling a memory from the pre-antibiotics era. *Perspect Biol Med*. 2001; 44(1):1-16. DOI: 10.1353/pbm.2001.0006.
- [5] **Myelnikov D.** An Alternative Cure: The Adoption and Survival of Bacteriophage Therapy in the USSR, 1922-1955. *J Hist Med Allied Sci*. 2018; 73(4):385-411. DOI: 10.1093/jhmas/jry024.
- [6] **Gordillo Altamirano FL, Barr JJ.** Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(2):e00066-18. DOI: 10.1128/CMR.00066-18.
- [7] **Ackermann HW, Prangishvili D.** Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol*. 2012; 157(10):1843-9. DOI: 10.1007/s00705-012-1383-y
- [8] **Kutter E, Sulakvelidze A,** directeurs. *Bacteriophages*. 0 éd. CRC Press; 2004. DOI: 10.1201/9780203491751.
- [9] **Pires DP, Oliveira H, Melo LD, Sillankorva S, Azeredo J.** Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(5):2141-51. DOI: 10.1007/s00253-015-7247-0
- [10] **Barbirz S, Becker M, Freiberg A, Seckler R.** Phage tail-spike proteins with beta-solenoid fold as thermostable carbohydrate binding materials. *Macromol Biosci*. 2009; 9(2):169-73. DOI: 10.1002/mabi.200800278.
- [11] **Moak M, Molineux IJ.** Peptidoglycan hydrolytic activities associated with bacteriophage virions. *Mol Microbiol*. 2004; 51(4):1169-83. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03894.x.
- [12] **Rodríguez-Rubio L, Martínez B, Donovan DM, Rodríguez A, García P.** Bacteriophage virion-associated peptidoglycan hydrolases: potential new enzymotics. *Crit Rev Microbiol*. 2013;39(4):427-34. DOI: 10.3109/1040841X.2012.723675.
- [13] **Fischetti VA.** Bacteriophage lysins as effective antibacterials. *Curr Opin Microbiol*. 2008;11(5):393-400. DOI: 10.1016/j.mib.2008.09.012.
- [14] **Briers Y, Walmagh M, Van Puyenbroeck V, Cornelissen A, Cenens W, Aertsen A, Oliveira H, Azeredo J, Verween G, Pirnay JP, Miller S, Volckaert G, Lavigne R.** Engineered endolysin-based "Artilylins" to combat multidrug-resistant gram-negative pathogens. *mBio*. 2014;5(4):e01379-14. DOI: 10.1128/mBio.01379-14.
- [15] **Nelson DC, Schmelcher M, Rodríguez-Rubio L, Klumpp J, Pritchard DG, Dong S, Donovan DM.** Endolysins as antimicrobials. *Adv Virus Res*. 2012;83:299-365. DOI: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4.
- [16] **García P, Rodríguez L, Rodríguez A, Martínez B.** Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends Food Sci Technol*. 2010;21(8):373-382. DOI: 10.1016/J.TIFS.2010.04.010.
- [17] **Donlan RM.** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(9):881-90. DOI: 10.3201/eid0809.020063.
- [18] **Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ.** How bacteria stick. *Sci Am*. 1978 Jan;238(1):86-95. Doi: 10.1038/scientificamerican0178-86.
- [19] **Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP.** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-22. DOI: 10.1126/science.284.5418.1318.
- [20] **Halan B, Buehler K, Schmid A.** Biofilms as living catalysts in continuous chemical syntheses. *Trends Biotechnol*. 2012;30(9):453-65. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.05.003.

- [21] **Flemming H-C, Wingender J.** The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(9):623-33. DOI: 10.1038/nrmicro2415.
- [22] **Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO.** Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem.* 2015;7(4):493-512. DOI: 10.4155/fmc.15.6.
- [23] **Palmer J, Flint S, Brooks J.** Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2007;34(9):577-88. DOI: 10.1007/s10295-007-0234-4.
- [24] **Moormeier DE, Bayles KW.** Staphylococcus aureus biofilm: a complex developmental organism. *Mol Microbiol.* 2017;104(3):365-376. DOI: 10.1111/mmi.13634.
- [25] **Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yawata Y, Nomura N.** Environmental factors that shape biofilm formation. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016;80(1):7-12. DOI: 10.1080/09168451.2015.1058701.
- [26] **Tolker-Nielsen T.** Biofilm Development. *Microbiol Spectr.* 2015;3(2):MB-0001-2014. DOI: 10.1128/microbiolspec.MB-0001-2014.
- [27] **McDougald D, Rice SA, Barraud N, Steinberg PD, Kjelleberg S.** Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nat Rev Microbiol.* 2011;10(1):39-50. DOI: 10.1038/nrmicro2695.
- [28] **Purevdorj-Gage B, Costerton WJ,** Stoodley P. Phenotypic differentiation and seeding dispersal in non-mucoid and mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbiology (Reading).* 2005;151(Pt 5):1569-1576. DOI: 10.1099/mic.0.27536-0.
- [29] **Lebeaux D, Ghigo JM, Beloin C.** Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(3):510-43. DOI: 10.1128/MMBR.00013-14.
- [30] **Hughes G, Webber MA.** Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *Br J Pharmacol.* 2017;174(14):2237-2246. DOI: 10.1111/bph.13706.
- [31] **Olivares E, Badel-Berchoux S, Provot C, Prévost G, Bernardi T, Jehl F.** Clinical Impact of Antibiotics for the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Infections. *Front Microbiol.* 2020;10:2894. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02894.
- [32] **Al-Wrafy F, Brzozowska E, Górska S, Gamian A.** Pathogenic factors of *Pseudomonas aeruginosa* - the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2017;71(0):78-91. DOI: 10.5604/01.3001.0010.3792.
- [33] **Yan Z, Huang M, Melander C, Kjellerup BV.** Dispersal and inhibition of biofilms associated with infections. *J Appl Microbiol.* 2020;128(5):1279-1288. Doi: 10.1111/jam.14491.
- [34] **Muziasari WI, Pitkänen LK, Sørum H, Stedtfeld RD, Tiedje JM, Virta M.** The Resistome of Farmed Fish Feces Contributes to the Enrichment of Antibiotic Resistance Genes in Sediments below Baltic Sea Fish Farms. *Front Microbiol.* 2017;7:2137. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02137.
- [35] **Wang J, Liu Q, Wu B, Zhao F, Ma S, Hu H, Zhang X, Ren H.** Quorum sensing signaling distribution during the development of full-scale municipal wastewater treatment biofilms. *Sci Total Environ.* 2019;685:28-36. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.249.
- [36] **Fan X, Li W, Zheng F, Xie J.** Bacteriophage inspired antibiotics discovery against infection involved biofilm. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2013;23(4):317-26. DOI: 10.1615/critrevukaryotgeneexpr.2013007717.
- [37] **Ojha A, Anand M, Bhatt A, Kremer L, Jacobs WR Jr, Hatfull GF.** GroEL1: a dedicated chaperone involved in mycolic acid biosynthesis during biofilm formation in mycobacteria. *Cell.* 2005;123(5):861-73. Doi: 10.1016/j.cell.2005.09.012.
- [38] **Karatan E, Watnick P.** Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2009;73(2):310-47. DOI: 10.1128/MMBR.00041-08.
- [39] **Lu TK, Collins JJ.** Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(27):11197-202. DOI: 10.1073/pnas.0704624104.
- [40] **Hanlon GW, Denyer SP, Olliff CJ, Ibrahim LJ.** Reduction in exopolysaccharide viscosity as an aid to bacteriophage penetration through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 200;67(6):2746-53. DOI: 10.1128/AEM.67.6.2746-2753.2001.
- [41] **Pei R, Lamas-Samanamud GR.** Inhibition of biofilm formation by T7 bacteriophages producing quorum-quenching enzymes. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(17):5340-8. DOI: 10.1128/AEM.01434-14
- [42] **Brüssow H.** Bacteriophage-host interaction: from splendid isolation into a messy reality. *Curr Opin Microbiol.* 2013 Aug;16(4):500-6. DOI: 10.1016/j.mib.2013.04.007.
- [43] **Nzakizwanayo J, Hanin A, Alves DR, McCutcheon B, Dedi C, Salvage J, Knox K, Stewart B, Metcalfe A, Clark J, Gilmore BF, Gahan CG, Jenkins AT, Jones BV.** Bacteriophage Can Prevent Encrustation and Blockage of Urinary Catheters by *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(3):1530-6. DOI: 10.1128/AAC.02685-15.
- [44] **Cano EJ, Cafilisch KM, Bollyky PL, Van Belleghem JD, Patel R, Fackler J, Brownstein MJ, Horne B, Biswas B, Henry M, Malagon F, Lewallen DG, Suh GA.** Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity. *Clin Infect Dis.* 2021;73(1):e144-e151. DOI: 10.1093/cid/ciaa705

- [45] **Khalifa L, Brosh Y, Gelman D, Copenhagen-Glazer S, Beyth S, Poradosu-Cohen R, Que YA, Beyth N, Hazan R.** Targeting *Enterococcus faecalis* biofilms with phage therapy. *Appl Environ Microbiol.* 2015 Apr;81(8):2696-705. Doi: 10.1128/AEM.00096-15.
- [46] **Shlezinger M, Friedman M, Houri-Haddad Y, Hazan R, Beyth N.** Phages in a thermoreversible sustained-release formulation targeting *E. faecalis* in vitro and in vivo. *PLoS One.* 2019;14(7):e0219599. DOI: 10.1371/journal.pone.0219599.
- [47] **Shlezinger M, Khalifa L, Houri-Haddad Y, Copenhagen-Glazer S, Resch G, Que YA, Beyth S, Dorfman E, Hazan R, Beyth N.** Phage Therapy: A New Horizon in the Antibacterial Treatment of Oral Pathogens. *Curr Top Med Chem.* 2017;17(10):1199-1211. DOI: 10.2174/1568026616666160930145649.
- [48] **Alves DR, Perez-Esteban P, Kot W, Bean JE, Arnot T, Hansen LH, Enright MC, Jenkins AT.** A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses *Pseudomonas aeruginosa* biofilms under static and flow conditions. *Microb Biotechnol.* 2016;9(1):61-74. Doi: 10.1111/1751-7915.12316.
- [49] **Mathieu J, Yu P, Zuo P, Da Silva MLB, Alvarez PJJ.** Going Viral: Emerging Opportunities for Phage-Based Bacterial Control in Water Treatment and Reuse. *Acc Chem Res.* 2019;52(4):849-857. DOI: 10.1021/acs.accounts.8b00576
- [50] **Zhang Y, Hu Z.** Combined treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms with bacteriophages and chlorine. *Biotechnol Bioeng.* 2013;110(1):286-95. DOI: 10.1002/bit.24630.
- [51] **Goldman G, Starosvetsky J, Armon R.** Inhibition of biofilm formation on UF membrane by use of specific bacteriophages. *J Memb Sci.* 2009;342(1-2):145-52. DOI: 10.1016/j.memsci.2009.06.036.
- [52] **Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C.** Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiol.* 2013;8(6):769-83. DOI: 10.2217/fmb.13.47.
- [53] **Coulter LB, McLean RJ, Rohde RE, Aron GM.** Effect of bacteriophage infection in combination with tobramycin on the emergence of resistance in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Viruses.* 2014;6(10):3778-86. DOI: 10.3390/v6103778.
- [54] **Kumaran D, Taha M, Yi Q, Ramirez-Arcos S, Diallo JS, Carli A, Abdelbary H.** Does Treatment Order Matter? Investigating the Ability of Bacteriophage to Augment Antibiotic Activity against *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Front Microbiol.* 2018;9:127. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00127.
- [55] **Shlezinger M, Copenhagen-Glazer S, Gelman D, Beyth N, Hazan R.** Eradication of Vancomycin-Resistant Enterococci by Combining Phage and Vancomycin. *Viruses.* 2019;11(10):954. DOI: 10.3390/v11100954.
- [56] **Lu TK, Collins JJ.** Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(12):4629-34. DOI: 10.1073/pnas.0800442106.
- [57] **Chang RYK, Das T, Manos J, Kutter E, Morales S, Chan HK.** Bacteriophage PEV20 and Ciprofloxacin Combination Treatment Enhances Removal of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Isolated from Cystic Fibrosis and Wound Patients. *AAPS J.* 2019;21(3):49. DOI: 10.1208/s12248-019-0315-0.
- [58] **Casey E, van Sinderen D, Mahony J.** In Vitro Characteristics of Phages to Guide 'Real Life' Phage Therapy Suitability. *Viruses.* 2018;10(4):163. DOI: 10.3390/v10040163.
- [59] **Tagliaferri TL, Jansen M, Horz HP.** Fighting Pathogenic Bacteria on Two Fronts: Phages and Antibiotics as Combined Strategy. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:22. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00022.
- [60] **Latz S, Krüttgen A, Häfner H, Buhl EM, Ritter K, Horz HP.** Differential Effect of Newly Isolated Phages Belonging to PB1-Like, phiKZ-Like and LUZ24-Like Viruses against Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* under Varying Growth Conditions. *Viruses.* 2017;9(11):315. DOI: 10.3390/v9110315.
- [61] **Wu Y, Wang R, Xu M, Liu Y, Zhu X, Qiu J, Liu Q, He P, Li Q.** A Novel Polysaccharide Depolymerase Encoded by the Phage SH-KP152226 Confers Specific Activity Against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* via Biofilm Degradation. *Front Microbiol.* 2019;10:2768. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02768.
- [62] **Schuch R, Khan BK, Raz A, Rotolo JA, Wittekind M.** Bacteriophage Lysin CF-301, a Potent Antistaphylococcal Biofilm Agent. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(7):e02666-16. DOI: 10.1128/AAC.02666-16.
- [63] **Paul VD, Rajagopalan SS, Sundarrajan S, George SE, Asrani JY, Pillai R, Chikkamadaiah R, Durgaiha M, Sriram B, Padmanabhan S.** A novel bacteriophage Tail-Associated Muralytic Enzyme (TAME) from Phage K and its development into a potent antistaphylococcal protein. *BMC Microbiol.* 2011;11:226. DOI: 10.1186/1471-2180-11-226.
- [64] **Poonacha N, Nair S, Desai S, Tuppad D, Hiremath D, Mohan T, Vipra A, Sharma U.** Efficient Killing of Planktonic and Biofilm-Embedded Coagulase-Negative Staphylococci by Bactericidal Protein P128. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(8):e00457-17. DOI: 10.1128/AAC.00457-17.
- [65] **Díez-Martínez R, De Paz HD, García-Fernández E, Bustamante N, Euler CW, Fischetti VA, Menéndez M, García P.** A novel chimeric phage lysin with high in vitro and in vivo bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(6):1763-73. DOI: 10.1093/jac/dkv038.
- [66] **Meng X, Shi Y, Ji W, Meng X, Zhang J, Wang H, Lu C, Sun J, Yan Y.** Application of a bacteriophage

- lysin to disrupt biofilms formed by the animal pathogen *Streptococcus suis*. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(23):8272-9. DOI: 10.1128/AEM.05151-11.
- [67] **Rios AC, Moutinho CG, Pinto FC, Del Fiol FS, Joza-la A, Chaud MV, Vila MM, Teixeira JA, Balcão VM.** Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. *Microbiol Res*. 2016;191:51-80. DOI: 10.1016/j.micres.2016.04.008.
- [68] **Lood R, Winer BY, Pelzek AJ, Diez-Martinez R, Thandar M, Euler CW, Schuch R, Fischetti VA.** Novel phage lysin capable of killing the multidrug-resistant gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii* in a mouse bacteremia model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(4):1983-91. DOI: 10.1128/AAC.04641-14.
- [69] **ang H, Bi Y, Shang X, Wang M, Linden SB, Li Y, Li Y, Nelson DC, Wei H.** Antibiofilm Activities of a Novel Chimeolysin against *Streptococcus mutans* under Physiological and Cariogenic Conditions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 21;60(12):7436-7443. DOI: 10.1128/AAC.01872-16.
- [70] **Vázquez R, García P.** Synergy Between Two Chimeric Lysins to Kill *Streptococcus pneumoniae*. *Front Microbiol*. 2019;10:1251. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01251.
- [71] **Allegranzi B, Bagheri Nejad S, Combesure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, Pittet D.** Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2011;377(9761):228-41. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61458-4.
- [72] **Otter JA, Yezli S, Salkeld JA, French GL.** Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *Am J Infect Control*. 2013;41(5 Suppl):S6-11. DOI: 10.1016/j.ajic.2012.12.004.
- [73] **Maurice NM, Bedi B, Sadikot RT.** *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Host Response and Clinical Implications in Lung Infections. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2018;58(4):428-439. DOI: 10.1165/rcmb.2017-0321TR.
- [74] **Pachori P, Goyalwal R, Gandhi P.** Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis*. 2019;6(2):109-119. DOI: 10.1016/j.gendis.2019.04.001.
- [75] **DeLeo FR, Chambers HF.** Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2464-74. DOI: 10.1172/JCI38226.
- [76] **Larramendy S, Deglaire V, Dusollier P, Fournier JP, Caillon J, Beaudeau F, Moret L.** Risk Factors of Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Producing *Escherichia coli* Community Acquired Urinary Tract Infections: A Systematic Review. *Infect Drug Resist*. 2020;13:3945-3955. DOI: 10.2147/IDR.S269033.
- [77] **Caselli E, D'Accolti M, Vandini A, Lanzoni L, Camerada MT, Coccagna M, Branchini A, Antonioli P, Balboni PG, Di Luca D, Mazzacane S.** Impact of a Probiotic-Based Cleaning Intervention on the Microbiota Ecosystem of the Hospital Surfaces: Focus on the Resistance Remodulation. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148857. Doi: 10.1371/journal.pone.0148857.
- [78] **Wand ME, Bock LJ, Bonney LC, Sutton JM.** Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-Resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;61(1):e01162-16. DOI: 10.1128/AAC.01162-16.
- [79] **Abuladze T, Li M, Menetrez MY, Dean T, Senecal A, Sulakvelidze A.** Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(20):6230-8. DOI: 10.1128/AEM.01465-08.
- [80] **Woolston J, Parks AR, Abuladze T, Anderson B, Li M, Carter C, Hanna LF, Heyse S, Charbonneau D, Sulakvelidze A.** Bacteriophages lytic for *Salmonella* rapidly reduce *Salmonella* contamination on glass and stainless steel surfaces. *Bacteriophage*. 2013;3(3):e25697. Doi: 10.4161/bact.25697.
- [81] **Chen LK, Liu YL, Hu A, Chang KC, Lin NT, Lai MJ, Tseng CC.** Potential of bacteriophage ΦAB2 as an environmental biocontrol agent for the control of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiol*. 2013;13:154. DOI: 10.1186/1471-2180-13-154.
- [82] **K. C. Jensen et al.,** "Isolation and Host Range of Bacteriophage with Lytic Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Potential Use as a Fomite Decontaminant," *PLoS One*, vol. 10, no. 7, Jul. 2015, Doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0131714.
- [83] **Jensen KC, Hair BB, Wienclaw TM, Murdock MH, Hatch JB, Trent AT, White TD, Haskell KJ, Berges BK.** Isolation and Host Range of Bacteriophage with Lytic Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Potential Use as a Fomite Decontaminant. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131714. DOI: 10.1371/journal.pone.0131714.
- [84] **D'Accolti M, Soffritti I, Piffanelli M, Bisi M, Mazzacane S, Caselli E.** Efficient removal of hospital pathogens from hard surfaces by a combined use of bacteriophages and probiotics: potential as sanitizing agents. *Infect Drug Resist*. 2018;11:1015-1026. DOI: 10.2147/IDR.S170071.
- [85] **Adachi N, Tsukamoto S, Inoue Y, Azegami K.** Control of Bacterial Seedling Rot and Seedling Blight of Rice by Bacteriophage. *Plant Dis*. 2012 Jul;96(7):1033-1036. Doi: 10.1094/PDIS-03-11-0232-RE.
- [86] **Iriarte FB, Balogh B, Momol MT, Smith LM, Wilson M, Jones JB.** Factors affecting survival of bacteriophage

- ge on tomato leaf surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(6):1704-11. DOI: 10.1128/AEM.02118-06
- [87] **Balogh B, Jones JB, Iriarte FB, Momol MT.** Phage therapy for plant disease control. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010;11(1):48-57. DOI: 10.2174/138920110790725302.
- [88] **Vikram A, Woolston J, Sulakvelidze A.** Phage Bio-control Applications in Food Production and Processing. *Curr Issues Mol Biol.* 2021;40:267-302. DOI 10.21775/cimb.040.267.
- [89] **Loc-Carrillo C, Abedon ST.** Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage.* 2011;1(2):111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590.
- [90] **Labrie SJ, Samson JE, Moineau S.** Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(5):317-27. DOI: 10.1038/nrmicro2315.
- [91] **Hyman P, Abedon ST.** Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol.* 2010;70:217-48. DOI: 10.1016/S0065-2164(10)70007-1.
- [92] **Skurnik M, Pajunen M, Kiljunen S.** Biotechnological challenges of phage therapy. *Biotechnol Lett.* 2007;29(7):995-1003. DOI: 10.1007/s10529-007-9346-1.
- [93] **Pirnay JP, De Vos D, Verbeken G, Merabishvili M, Chanishvili N, Vanechoutte M, Zizi M, Laire G, Lavigne R, Huys I, Van den Mooter G, Buckling A, Debarbieux L, Pouillot F, Azeredo J, Kutter E, Dublanche A, Górski A, Adamia R.** The phage therapy paradigm: prêt-à-porter or sur-mesure? *Pharm Res.* 2011;28(4):934-7. DOI: 10.1007/s11095-010-0313-5.
- [94] **Keen EC.** Phage therapy: concept to cure. *Front Microbiol.* 2012;3:238. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00238.
- [95] **Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So AD, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R, Wright GD, Brown ED, Cars O.** Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(12):1057-98. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.
- [96] **Cabello FC, Godfrey HP, Tomova A, Ivanova L, Dölz H, Millanao A, Buschmann AH.** Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol.* 2013;15(7):1917-42. DOI: 10.1111/1462-2920.12134.
- [97] **Tomova A, Ivanova L, Buschmann AH, Rioseco ML, Kalsi RK, Godfrey HP, Cabello FC.** Antimicrobial resistance genes in marine bacteria and human uropathogenic *Escherichia coli* from a region of intensive aquaculture. *Environ Microbiol Rep.* 2015;7(5):803-9. DOI: 10.1111/1758-2229.12327.
- [98] **Ramírez-Castillo FY, Loera-Muro A, Jacques M, Garneau P, Avelar-González FJ, Harel J, Guerrero-Barrera AL.** Waterborne pathogens: detection methods and challenges. *Pathogens.* 2015;4(2):307-34. DOI: 10.3390/pathogens4020307.
- [99] **Jassim SA, Limoges RG, El-Cheikh H.** Bacteriophage biocontrol in wastewater treatment. *World J Microbiol Biotechnol.* 2016 Apr;32(4):70. DOI: 10.1007/s11274-016-2028-1.
- [100] **Causes and remedies for filamentous foaming in activated sludge treatment plant.** *Global NEST Journal.* 2014;16(4):762-72. DOI: 10.30955/gnj.001273.



Aplicación de pigmentos producidos por *Streptomyces coelicolor* en la síntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana

Application of pigments produced by *Streptomyces coelicolor* in the synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity

Laura N. Barrios¹, Paola Santos¹

Resumen

Streptomyces son bacterias Gram positivas que pertenecen al phylum *Actinobacteria*. Dentro de este género, la especie que más se destaca es *Streptomyces coelicolor* que codifica más de 20 grupos de genes involucrados en la biosíntesis de metabolitos secundarios bioactivos como antibióticos, los cuales han sido relevantes en medicina y biotecnología. Esta revisión tiene como objetivo identificar el potencial que tienen los pigmentos producidos por *S. coelicolor* mediante la aplicación de la nanotecnología en la síntesis de nanopartículas de plata, como una alternativa en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes. Hallazgos obtenidos en diferentes trabajos, resaltan las propiedades de esta especie para producir metabolitos secundarios como compuestos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, antitumorales y anti-hipertensivos. Además, este grupo de bacterias son ideales para la formación de nanopartículas de plata extracelular e intracelularmente, ya que les proporciona una adecuada estabilidad como también polidispersidad, demostrando una amplia actividad bactericida contra microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi*. De esta manera, surge un gran interés por estos nanomateriales con actividad antimicrobiana, como una alternativa terapéutica para el control de patógenos resistentes a los fármacos tradicionales y como nuevos biocidas seguros y beneficiosos en el control de infecciones.

Palabras clave: Resistencia bacteriana. Nanotecnología. Nanopartículas. Pigmentos. *Streptomyces coelicolor*. Actinorhodina.

Grupo de investigación Relaciones microbianas y Epidemiológicas aplicadas al Laboratorio Clínico y Molecular - REMA. Facultad Ciencias de la Salud, Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

Correo de correspondencia:
psantos@unicolmayor.edu.co

Recepción: 24/09/2021. Aceptación: 9/06/2022

Cómo citar este artículo: Barrios L. N., Santos P. Aplicación de pigmentos producidos por *Streptomyces coelicolor* en la síntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana. Hechos Microbiol. 2022;13(1):37-46. DOI: 10.17533/udea.hm.v13n1a04

Abstract

Streptomyces are Gram-positive bacteria that belong to the phylum Actinobacteria. Within this genus, the species that stands out most is *Streptomyces coelicolor* (*S. coelicolor*), which encodes more than 20 groups of genes whose products are involved in the biosynthesis of bioactive secondary metabolites as antibiotics with extensive medical and biotechnological applications. The objective of this review is to identify the potential of pigments produced by *S. coelicolor* through the application of nanotechnology in the synthesis of silver nanoparticles as an alternative treatment for infections caused by resistant microorganisms. Findings obtained from different studies revealed the capacity of this specie to produce secondary metabolites such as antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor, and antihypertensive compounds. This group of bacteria is ideal for the production of silver nanoparticles extracellularly and intracellularly since they provide adequate stability as well as polydispersity, demonstrating a broad bactericidal activity against microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella typhi*. Therefore, there is great interest in these nanomaterials with antimicrobial activity as a therapeutic alternative to control the emergence and spread of antimicrobial resistance and new safe and beneficial biocides in infection control.

Keywords: Bacterial Drug Resistance. Nanotechnology. Nanoparticle. Pigments. *Streptomyces coelicolor*. Actinorhodin.

Introducción

Desde tiempos inmemorables se ha empleado la plata en sus distintas formas como un medicamento para curar heridas y como tratamiento de distintas enfermedades. La actividad antimicrobiana de la plata, se ha explorado en diferentes formulaciones farmacéuticas como ungüentos, en ropa quirúrgica e incluso revestimientos de dispositivos médicos⁽¹⁾. En la actualidad, esta propiedad antimicrobiana ha sido comprobada con mayor efectividad como partículas pequeñas de hasta 100 nm conocidas como nanopartículas de plata, demostrando que expresan mejor sus característi-

cas con respecto a las partículas de mayor tamaño. Su uso ha sido aplicado en distintos campos como la purificación del agua, el envasado de productos alimenticios y pinturas de partículas de plata, entre otros.⁽²⁾

En varios estudios se ha demostrado que las actinobacterias tienen la facultad de producir metabolitos secundarios que pueden sintetizar este tipo de partículas de plata⁽³⁾. Las bacterias pertenecientes a este género son bacterias Gram positivas distribuidas ampliamente en diferentes ambientes, desempeñando un rol fundamental en la mineralización de materias orgánicas complejas⁽⁴⁾. Dentro de este género, una de las especies que se destaca es *Streptomyces coelicolor*, la cual codifica más de 20 grupos de genes involucrados en la biosíntesis de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, antitumorales y anti-hipertensivas, entre otras^(4,5), constituyendo un importante potencial biotecnológico como fuente de nuevas moléculas antimicrobianas, o en la optimización de la actividad de los antibióticos actualmente en uso⁽⁶⁾. Así mismo, las nanopartículas de plata sintetizadas parecen ser tóxicas para bacterias aeróbicas y anaeróbicas aisladas de plantas de tratamiento de aguas residuales⁽⁷⁾.

Por otro lado, en los últimos años se ha evidenciado un incremento, a nivel mundial, de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos de uso convencional. Esta situación ha generado en la comunidad científica, un gran interés en la búsqueda de alternativas al uso de antibióticos con el aprovechamiento de la tecnología de nanopartículas de plata, con el fin de encontrar nuevos materiales biocidas seguros y beneficiosos.

Por lo anterior, el objetivo de esta revisión es identificar el potencial que tienen los pigmentos producidos por *S. coelicolor* mediante la aplicación de la nanotecnología en la síntesis de nanopartículas de plata, como una alternativa en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes. Se recopiló información del tema ampliando el conocimiento que servirá de base para futuras investigaciones acerca de la capacidad de estos metabolitos.

Características generales del género *Streptomyces*

El género *Streptomyces* se representa por bacterias Gram positivas que pertenecen al Phylum Actinomybacteria,

clase Actinobacteria, orden Actinomycetales, familia Streptomycetaceae y género *Streptomyces*, dentro del cual, la especie más representativa es *Streptomyces coelicolor*. Estas bacterias se distribuyen ampliamente en el suelo y representan entre el 5 y 30 % del total de microorganismos y desempeñan un papel fundamental en la mineralización de materias orgánicas complejas⁽⁵⁾; son capaces de crecer y sobrevivir en ambientes adversos como suelos alcalinos o salinos, bosques, desiertos, playas y ambientes acuáticos.⁽⁸⁾

Esta especie se destaca por su capacidad para producir metabolitos secundarios, como compuestos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, antitumorales, anti-hipertensivos, antiprolifícos, antioxidantes, y varias enzimas extracelulares^(4,9,10), lo que suele ocurrir durante el cambio de la fase logarítmica a la fase estacionaria del crecimiento⁽¹¹⁾. Se ha reconocido su potencial biotecnológico, siendo responsables de la producción de dos tercios de las moléculas microbianas comercialmente disponibles⁽¹²⁾. Estudios respecto a la producción antibiótica de este género comenzaron alrededor de 1940 y continúan en la actualidad debido a la urgencia de hallar nuevos fármacos efectivos contra bacterias multi-drogo-resistentes (MDR)⁽⁶⁾.

Las bacterias del género *Streptomyces* tienen una forma filamentosa, poseen un ciclo de vida complejo y un mecanismo de esporulación que implica tipos celulares diferenciados, cada uno con funciones definidas (Fig. 1). El ciclo comienza con una espora que germina cuando las condiciones del medio son favorables, conformándose una hifa vegetativa que se va ramificando para dar lugar a un micelio formado por un entramado de hifas. Estas hifas crecen en extensión y ramificación de la punta, generan paredes transversales en ubicaciones esporádicas, pero no se dividen; muchos cromosomas comparten cada compartimento delimitado por paredes cruzadas. Este micelio, que recibe el nombre de “micelio vegetativo o micelio sustrato”, crece de forma exponencial gracias a los nutrientes que encuentra en el sustrato en el cual penetran sus hifas⁽¹³⁾.

Un segundo tipo de células filamentosas ocurre cuando las condiciones se vuelven adversas, como por ejemplo cuando los nutrientes escasean, denominado “micelio aéreo”. A diferencia del micelio del sustrato, el micelio aéreo se somete a una septación que las divide en compartimentos, formando estructuras esporo-

génicas hidrófobas, emergiendo en el aire sobre el micelio vegetativo, del cual aprovechan los nutrientes que se generan tras la autólisis que se produce en el mismo, en un proceso de muerte celular programada⁽¹²⁾.

Cuando finaliza el crecimiento del micelio aéreo se forman septos sincrónicos, los cuales delimitan una única copia del genoma. Tras un proceso de maduración, cada compartimento da lugar a una espora viable durante largos periodos, que será dispersada por distintos medios antes de comenzar de nuevo el ciclo⁽¹⁴⁾. El proceso de germinación, cuando se considera la tasa de una sola espora o la probabilidad de germinación dentro de una población de esporas, cambia entre diferentes especies *Streptomyces*. Algunas especies como *S. viridochromogenes* y *S. granaticolor* muestran una germinación rápida, con casi todas las esporas germinando. Por el contrario, otras especies como *S. coelicolor* y *S. venezuelae* germinan más despacio con una parte de esporas que no se desarrollan o germinan⁽¹³⁾.

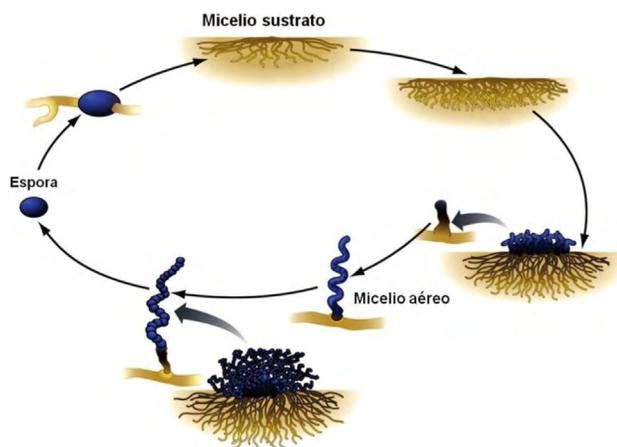


Figura 1. Ciclo de vida de *Streptomyces*. Se indican las principales fases del ciclo de vida del género *Streptomyces*. Tomado de:⁽¹⁵⁾.

Se han descrito más de 533 especies, la mayoría de las cuales tiene un estilo de vida saprofito, siendo el suelo su ambiente natural, donde sobreviven gracias a la acción de diversos tipos de enzimas hidrolíticas extracelulares, que descomponen restos de material orgánico, vegetal, fúngico y de otros organismos, liberando nutrientes al medio. Enzimas tipo celulasas, xilanasas y quitinasas son parte de esta variedad secretora, lo que le permite adaptarse a las necesidades de los hábitats que colonizan⁽¹⁶⁾.

Streptomyces coelicolor es el representante más conocido de este género, posee un genoma completamente secuenciado que lo ha posicionado como un organismo modelo de investigación⁽¹⁷⁾. Tiene un genoma de 8,7 Mb que codifica para más de 20 grupos de genes implicados en la biosíntesis de varios metabolitos secundarios especializados, los cuales son la base de gran parte de los antibióticos en uso⁽⁵⁾. Adicionalmente, la manipulación genética y química de estas vías reguladoras se han aprovechado en la búsqueda de nuevos fármacos^(18,19).

Pigmentos producidos por *S. coelicolor* y sus aplicaciones

Muchos pasos del ciclo de vida de estas bacterias están coordinados con la producción de metabolitos secundarios, representados en algunos casos por una pigmentación brillante. Los micelios del sustrato producen metabolitos especializados, los cuales han sido caracterizados y nombrados como, actinorhodina o pigmento azul (ACT), undecilprodigeosina o pigmento rojo (RED), antibiótico dependiente del calcio (CDA) y Coelimidina A o pigmento amarillo (CPK A, precursor de las coelimidinas amarillas P1 y P2) (Fig. 2). La finalización de la maduración de las esporas está marcada por la deposición de un pigmento gris en las paredes de las esporas⁽¹²⁾. Estos pigmentos han demostrado una importante actividad antimicrobiana.

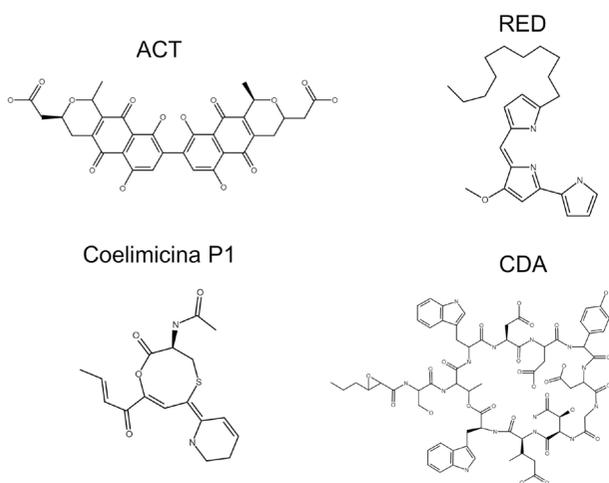


Figura 2. Pigmentos producidos por *S. coelicolor*. Estructuras 2D obtenidas desde ChemSpider (<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure>).

Su producción es inducida por señales ambientales, fisiológicas o de limitación de nutrientes junto con la autólisis del micelio vegetativo y el posterior rescate de sus constituyentes para formar micelio aéreo que permita la esporulación^(14,20). Cada grupo de genes biosintéticos codifica su propia vía específica de proteínas reguladoras de antibióticos de *Streptomyces* (SARPS): CpkO (anteriormente KasO) y CpkN (grupo cpk), CdaR (grupo cda), RedZ y RedD (grupo rojo) y ActII-orf4 (grupo act)^(18,21).

La biosíntesis de estos metabolitos está bajo una regulación compleja que involucra reguladores situados en grupos (CSR) y reguladores globales (pleiotrópicos). Estos dos tipos de reguladores funcionan normalmente en cascada, los efectos de los reguladores globales sobre la biosíntesis de metabolitos secundarios suelen estar mediados directamente a través de CSR⁽²²⁾.

El pigmento azul o actinorhodina (ACT), es un compuesto que ha servido como un modelo excepcional para la investigación genética y bioquímica del metabolismo secundario. El grupo de genes biosintéticos de ACT de *S. coelicolor* abarca más de 25 kb y contiene siete regiones de genes que codifican proteínas relevantes para su biosíntesis⁽²³⁾. Tiene tres características químicas destacadas. Primero, su pigmentación es sensible al pH (es roja a pH ácido y azul a pH básico); en segundo lugar, es redox activa y puede actuar en reacciones de ciclo redox; y en tercer lugar, se ha demostrado que actúa como órgano catalizador de reacciones oxidativas *in vitro*⁽²⁴⁾.

ACT es el primer antibiótico de *S. coelicolor* cuyo grupo de genes biosintéticos fue clonado y ha sido empleado como sistema para estudiar la biosíntesis y regulación de antibióticos. La razón primordial para seleccionar este pigmento es su capacidad antimicrobiana y que además, si se utiliza como un agente reductor, la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata sintetizadas puede potenciarse⁽²⁵⁾. Aunque se ha considerado un antibiótico de baja actividad frente a bacterias Gram positivas, nuevos estudios revelan que es un contundente bacteriostático a pH apropiado, que actúa sobre la pared celular y el ADN, y puede inactivar enzimas como la ADN girasa o la topoisomerasa IV⁽²⁴⁾.

El pigmento rojo o undecilprodigeosina (RED), es un compuesto con estructura de tripirrol hidrofóbico que puede ser producido como metabolito secundario por diferentes organismos⁽²⁶⁾. Su esqueleto

se forma partiendo de una prolina, una glicina, una serina y varias unidades de acetato⁽²⁷⁾. Tiene actividades antimicrobianas, propiedades inmunosupresoras, antipalúdicas y anticancerígenas^(5,28). No obstante, su función en la bacteria no está definida; sin embargo, se ha referido que tiene efectos protectores contra luz ultravioleta, radiación y daño oxidativo o que puede desempeñar un papel importante en los procesos de muerte programada del ciclo celular⁽²⁹⁾.

El antibiótico dependiente del calcio (CDA), es un lipopéptido no ribosómico. Consta de una cadena lateral de ácido graso N-terminal trans-2,3-epoxyhexanoil y varios residuos de aminoácidos no proteínogénicos. Elimina bacterias Gram positivas solo en presencia de iones de calcio; por esta razón se le llamó «dependiente del calcio». Se desconoce su modo de acción, pero se cree que es similar al de otros antibióticos lipopéptidos ácidos, como daptomicina, friulimicinas y anfomicinas⁽³⁰⁾. La actividad antibiótica de la daptomicina ocurre por la alteración de múltiples aspectos de la función de la membrana. Este mecanismo de acción hace que los compuestos relacionados con la daptomicina, incluido el CDA, inhiban bacterias resistentes a los antibióticos de uso común, como las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) y los enterococos resistentes a la vancomicina (VRE)⁽³⁰⁾.

La Coelimidina A o pigmento amarillo (CPK A), es el metabolito especializado que se sintetiza más temprano en el ciclo de vida del microorganismo (31). Está formado por 19 genes de los cuales se han caracterizado tres. El primero abCPK, es incoloro, es el único con actividad antibiótica, y se cree que sería un intermediario de la ruta biosintética de la coelimidina P1; el segundo coelimidina P1 está identificada como un alcaloide; y el tercero coelimidina P2, es un pigmento amarillo que se ha intentado asignar a un aducto de glutamato o a un intermediario de la ruta de la coelimidina P1, las dos últimas no tienen actividad antibiótica⁽³²⁾.

Nanopartículas de plata, síntesis y usos potenciales

La nanotecnología es una ciencia que se ocupa de la síntesis de materiales a nanoescala (tamaño entre 1 a 100 nm) y sus aplicaciones⁽³³⁾. Las nanopartículas poseen características innovadoras con respecto

a las partículas de mayor dimensión del material que las componen⁽³⁴⁾. Pueden ser producidas a partir de diferentes metales incluyendo oro, plata, zinc y otros. Dentro de los cuales se destacan las nanopartículas de plata, gracias a sus propiedades fisicoquímicas, lo que ha permitido que este metal sea empleado en una amplia gama de aplicaciones derivadas del control de la forma y el tamaño^(33,34).

De manera específica, las nanopartículas de plata han demostrado tener una importante aplicación en áreas como la producción de biomateriales, purificación del agua, envasado de productos alimenticios, formulaciones farmacéuticas como ungüentos para quemaduras^(2,36), antimicrobianos en sus distintas formas^(33,34), y más recientemente, en el recubrimiento estéril para dispositivos biomédicos y telas de uso clínico, favoreciendo el control de infecciones en pacientes a nivel intrahospitalario, donde actúan como agentes antimicrobianos, inhibiendo el crecimiento de varios patógenos⁽⁷⁾.

Las nanopartículas de plata pueden ser sintetizadas por métodos físicos y químicos; sin embargo, la síntesis química conlleva peligrosos efectos secundarios por el uso de productos tóxicos⁽³⁸⁾. En contraste, los métodos biológicos se proyectan como una alternativa segura, rentable y ecológica^(3,39).

Se han propuesto dos enfoques básicos, “de abajo hacia arriba” y el “enfoque de arriba hacia abajo”, para la síntesis de nanopartículas. El «enfoque de arriba hacia abajo» se ocupa de la fabricación de nanopartículas utilizando material a granel (los más grandes) para dirigir su ensamblaje; y el «enfoque de abajo hacia arriba» es responsable de la construcción de sistemas más grandes y complejos comenzando en el nivel molecular y manteniendo un control preciso de la estructura molecular⁽⁴⁰⁾.

Existen diferentes organismos unicelulares y multicelulares de los cuales se puede obtener materiales inorgánicos intra o extracelularmente. Algunos de estos son capaces de absorber y acumular metales favoreciendo la reducción y el control de la topografía nanoestructural de iones metálicos, siendo útiles en la síntesis de nanopartículas de plata⁽⁴¹⁾. Microorganismos como *Aspergillus flavus*⁽⁴²⁾, *Rhizopus stolonifer*⁽⁴³⁾ y *Neurospora crassa*⁽⁴³⁾, entre otros, han demostrado ser efectivos y de baja toxicidad, tanto así que es reconocido como un medio potencial de nanosíntesis⁽⁴⁴⁾.

Actividad de nanopartículas de plata contra bacterias resistentes

La plata iónica es altamente tóxica para la mayoría de las células bacterianas; sin embargo, se ha demostrado que varias cepas bacterianas resistentes a la plata, la acumulan en nanopartículas en su espacio periplásmico⁽⁴⁵⁾. Los efectos de las nanopartículas de plata sobre los microorganismos han atraído una atención considerable; no obstante, hay pocos reportes sobre si éstas pueden afectar el metabolismo secundario de los microorganismos. De otro modo, estudios realizados en diferentes especies bacterianas indican que, podrían ser tóxicas al inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y causar daño a la membrana celular⁽⁵⁾, así como afectar la formación de biopelículas⁽⁴⁶⁾.

En estudios previos se ha planteado que estas se unen a la superficie de la membrana celular, afectando la permeabilidad celular y las funciones respiratorias de la célula, pero también pueden introducirse en el interior de las bacterias e inactivar la replicación del ADN provocando la muerte celular, siendo las partículas más pequeñas la que representan una mayor superficie disponible para la interacción e impacto bactericida con respecto a las más grandes⁽³⁷⁾.

El potencial antimicrobiano de las nanopartículas de plata se ha evaluado frente a una amplia gama de patógenos, incluidos bacterias MDR y hongos. Las inusuales propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas de plata las han destacado como agente antimicrobiano para aplicaciones médicas^(39,47), se atribuyen a su tamaño (<10 nm), estructura superficial, grupos reactivos y recubrimientos.

Se ha demostrado que estas nanopartículas, exhiben una amplia actividad bactericida contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como cepas multi-drogo-resistentes, pero además de esto, tienen actividad antibacteriana reactiva contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi*. Adicionalmente, se ha observado que al ser

combinadas con antibióticos mejoran los efectos antimicrobianos al optimizar la potencia, lo que mejoraría las propiedades antimicrobianas de los antibióticos y disminuiría la dosis de antibiótico contra patógenos MDR⁽⁴⁸⁾, lo que podría, a largo plazo, evitar la generación de resistencia bacteriana.

Una de las problemáticas más importantes que afronta la humanidad es el incremento de la resistencia que están presentando los microorganismos a fármacos, pues limitan su acción terapéutica. Esto causa gran preocupación dado que en un futuro pueden quedar pocos o ningún antibiótico para tratar este tipo de agentes infecciosos. Por consiguiente, avanzar en la producción de nuevos medicamentos o con mejoras, sin duda alguna generará un impacto positivo⁽⁴⁷⁾.

El desarrollo e implementación de estrategias contra la propagación de superbacterias es una prioridad para la salud pública. Además de aumentar la conciencia social sobre el uso indiscriminado de antibióticos, enfoques como el descubrimiento de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana y el esclarecimiento de los mecanismos de resistencia son medidas comunes que se deben fortalecer⁽⁴⁹⁾.

Síntesis de nanopartículas de plata con actividad antimicrobiana a partir de pigmentos producidos por *S. coelicolor*

Aun cuando es bien conocida la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata, se ha demostrado que la síntesis verde de estas, a partir de la combinación del pigmento azul (Actinorhodina) producido por *S. coelicolor* y el nitrato de plata (AgNO_3) en solución, generó nanopartículas de plata mediante fotorradiación durante aproximadamente 20 minutos, con actividad mejorada frente a *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) (Fig. 3). Estas nanopartículas demostraron, además de producir un cambio de color, tener un tamaño bastante pequeño y forma irregular⁽³⁷⁾.

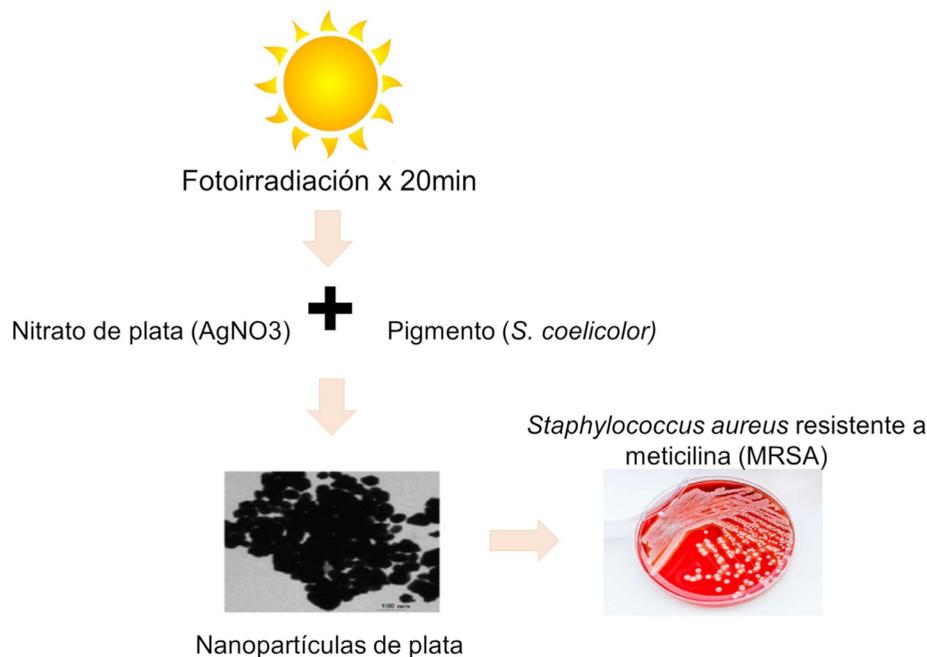


Figura 3. Síntesis de nanopartículas de plata a partir de los pigmentos de *S. coelicolor* generadas por fotoirradiación y su actividad antimicrobiana. Tomada y modificada de: ⁽³⁷⁾.

Las adecuadas condiciones de crecimiento como componentes del medio, el pH, la temperatura, la concentración del sustrato y el tamaño del inóculo, favorecen no solo el crecimiento, sino que además contribuyen a la productividad y control de la actividad enzimática que interviene en la síntesis de estas nanopartículas⁽⁵⁰⁾.

Se ha comprobado que los pigmentos por sí solos no revelan ninguna actividad antimicrobiana, pero por el contrario, si estos son utilizados para sintetizar nanopartículas de plata, manifiestan una notable capacidad para inhibir o eliminar el crecimiento de bacterias como *E. coli* productor de beta-lactamasa de espectro extendido (ESBL), entre otras⁽⁵³⁾. Estudios en los que se ha evaluado la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata con pigmentos de *S. coelicolor*, destacan que es un proceso amigable con el medio ambiente, ya que solo se utiliza el pigmento microbiano para la síntesis en lugar de productos químicos tóxicos; no hay posibilidad de contaminación y el proceso es fácil de reproducir mediante una síntesis corta, por lo que se puede utilizar a escala industrial⁽³⁷⁾.

De otro modo, se ha identificado actividad inhibitoria de las nanopartículas de plata sobre la formación de biopelículas al reducir la densidad de las células bacterianas, y evitando la agregación⁽⁴⁶⁾. La formación de biopelículas es uno de los mecanismos más utilizados por los microorganismos patógenos para la persistencia y colonización de diferentes superficies, lo que les confiere una mayor resistencia a los antibióticos, por lo tanto, el efecto anti-biopelícula de estas nanopartículas es una propiedad importante, que debe ser considerada.

Esta evidencia demuestra que las nanopartículas de plata generadas a partir de pigmentos de *S. coelicolor*, son una interesante alternativa terapéutica contra las infecciones causadas por las bacterias resistentes más relevantes en salud pública⁽⁵¹⁾. Nuevos estudios son necesarios para evaluar su actividad frente a otras bacterias de vigilancia epidemiológica, conocer el mecanismo de acción o el blanco de estas partículas y evaluar su actividad combinada o sinergia con los antibióticos en uso.

Conclusiones

La nanotecnología es la aplicación de materiales de escala de tamaño nano (1-100 nm) para el desarrollo de la ciencia. En el campo de la medicina y la biotecnología, las nano partículas de plata han tenido diferentes aplicaciones, especialmente como antimicrobianos. Sin embargo, existe una crucial necesidad de desarrollar protocolos ecológicos para la síntesis de nanopartículas, ya que los métodos químicos causan contaminación debido al uso de solventes tóxicos.

Los métodos biológicos para la biosíntesis de nanopartículas de plata, que utilizan microorganismos, ha generado un gran interés como alternativas sencillas y amigables con el medio ambiente. La biosíntesis de nanopartículas usando actinomicetos como *S. coelicolor* ha sido reportada. Estas bacterias son conocidas por la producción de antibióticos y otros metabolitos de importancia biotecnológica.

La biosíntesis de nanopartículas de plata a partir de la combinación de los metabolitos secundarios o pigmentos antibacterianos producidos por el *S. coelicolor*, mediante métodos como la fotoirradiación, resultan ser una alternativa innovadora para producir estos nanomateriales en corto tiempo, de manera amigable con el ambiente y pudiendo proyectarse a escala industrial.

La actividad antibacteriana de estas nanopartículas ha demostrado efectividad frente a bacterias de importancia clínica como MRSA y ESBL, entre otras. De manera interesante, estas nanopartículas presentan una actividad sinérgica cuando se usan en combinación con los antibióticos de uso común, potenciando la actividad frente a bacterias MDR y en concentraciones menores del antibiótico. Algunos estudios sugieren que las nanopartículas tienen efecto inhibitorio en la formación de biopelículas bacterianas, alterando este importante factor de virulencia y persistencia microbiana.

Por consiguiente, el uso de nanopartículas de plata a partir de pigmentos antibacterianos producidos por el *S. coelicolor*, podrían ser una potencial alternativa farmacéutica que logre hacer frente a la problemática mundial de resistencia bacteriana, considerando su efectividad y producción sustentable.

Financiación

La presente revisión fue financiada por la Convocatoria Interna de Investigaciones de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, acuerdo 081 de 2020. La presente revisión fue financiada por la Convocatoria Interna de Investigaciones de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Acuerdo 081 de 2020.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias

1. **Medici S, Peana M, Nurchi VM, Zoroddu MA.** Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. *J Med Chem.* 62(13):5923-5943. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01439
2. **Ghosh S, Kaushik R, Nagalakshmi K, Hoti SL, Menezes GA, Harish BN, Vasan HN.** Antimicrobial activity of highly stable silver nanoparticles embedded in agar-agar matrix as a thin film. *Carbohydr Res.* 2010; 345(15):2220-7. DOI: 10.1016/j.carres.2010.08.001.
3. **Karthik L, Kumar G, Kirthi AV, Rahuman AA, Bhas-kara Rao K V.** Streptomyces sp. LK3 mediated synthesis of silver nanoparticles and its biomedical application. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37(2):261-7. DOI: 10.1007/s00449-013-0994-3
4. **Hernández-Saldaña OF, Barboza-Corona JE, Bideshi DK, Casados-Vázquez LE.** New bacteriocin-like substances produced by Streptomyces species with activity against pathogens. *Folia Microbiol (Praha).* 2020;65(4):669-78. DOI: 10.1007/s12223-020-00770-z.
5. **Liu X, Tang J, Wang L, Giesy JP.** Al2O3 nanoparticles promote secretion of antibiotics in Streptomyces coelicolor by regulating gene expression through the nano effect. *Chemosphere.* 2019; 226: 687-695. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.156.
6. **Ubillus JA, Quispe JL, Durán RR, Trujillo SM, Salazar LL.** Actividad antimicrobiana y sinérgica de metabolitos producidos por Streptomyces erythrogriseus M10-77 de origen marino. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2015;(35):13-9. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-780209>
7. **Hebeish A, El-Rafie MH, EL-Sheikh MA, Seleem AA, El-Naggar ME.** Antimicrobial wound dressing and anti-inflammatory efficacy of silver nanoparticles. *Int J Biol Macromol.* 2014;65:509-15. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.01.071

8. **Tanasupawat S, Phongsopitanun W, Suwanborirux K, Ohkuma M, Kudo T.** *Streptomyces actinomycinicus* sp. Nov., isolated from soil of a peat swamp forest. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016; 66(1): 290–5. DOI: 10.1099/ijsem.0.000716
9. **Tenconi E, Traxler MF, Hoebreck C, van Wezel GP, Rigali S.** Production of prodiginines is part of a programmed cell death process in *Streptomyces coelicolor*. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1742. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01742
10. **Sivasankar P, Seedeivi P, Poongodi S, Sivakumar M, Murugan T, Sivakumar L, et al.** Characterization, antimicrobial and antioxidant property of exopolysaccharide mediated silver nanoparticles synthesized by *Streptomyces violaceus* MM72. *Carbohydr Polym.* 2018;181():752–9. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.082
11. **Zhu Y, Lu T, Zhang J, Zhang P, Tao M, Pang X.** A novel XRE family regulator that controls antibiotic production and development in *Streptomyces coelicolor*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(23):10075–89. DOI: 10.1007/s00253-020-10950-z
12. **Nodwell JR.** Microbe Profile: *Streptomyces coelicolor*: a burlesque of pigments and phenotypes. *Microbiology.* 2019;165:953–5. DOI: 10.1099/mic.0.000821
13. **Bobek J, Šmídová K, Čihák M.** A waking review: Old and novel insights into the spore germination in *Streptomyces*. *Front Microbiol.* 2017;8:1–12. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02205
14. **Yagüe P, Willemsse J, Koning RI, Rioseras B, López-García MT, Gonzalez-Quiñonez N, et al.** Subcompartmentalization by cross-membranes during early growth of *Streptomyces hyphae*. *Nat Commun.* 2016; 12;7: 12467. DOI: 10.1038/ncomms12467
15. **Antoraz S.** Mejora genética de cepas de *Streptomyces coelicolor* para la producción de metabolitos secundarios mediante el estudio de su regulación por sistema de dos componentes [tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Salamanca CSIC-USAL - Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG); 2018.
16. **Chater KF, Biró S, Lee KJ, Palmer T, Schrempf H. T** The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiol Rev.* 2010; 34(2): 171-98. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00206.x
17. **Mavituna F, Luti KJ, Gu L.** In Search of the *E. coli* Compounds that Change the Antibiotic Production Pattern of *Streptomyces coelicolor* During Inter-species Interaction. *Enzyme Microb Technol.* 2016; 90: 45-52. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2016.03.009
18. **Bednarz B, Kotowska M, Pawlik KJ.** Multi-level regulation of coelimycin synthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Appl Microbiol Biotechnol.* 2019; 103(16): 6423-6434. DOI: 10.1007/s00253-019-09975-w
19. **Daniel-Ivad M, Hameed N, Tan S, Dhanjal R, Socco D, Pak P, Gverzdys T, Elliot MA, Nodwell JR.** An Engineered Allele of *afsQ1* Facilitates the Discovery and Investigation of Cryptic Natural Products. *ACS Chem Biol.* 2017; 12(3): 628-634. DOI: 10.1021/acscchembio.6b01002.
20. **Robertsen HL, Weber T, Kim HU, Lee SY.** Toward Systems Metabolic Engineering of Streptomycetes for Secondary Metabolites Production. Vol. 13, *Biotechnology Journal.* 2018.
21. **Robertsen HL, Weber T, Kim HU, Lee SY.** Toward Systems Metabolic Engineering of Streptomycetes for Secondary Metabolites Production. *Biotechnol J.* 2018; 13(1). DOI: 10.1002/biot.201700465
22. **Chen S, Zheng G, Zhu H, He H, Chen L, Zhang W, Jiang W, Lu Y.** Roles of two-component system *AfsQ1/Q2* in regulating biosynthesis of the yellow-pigmented coelimycin P2 in *Streptomyces coelicolor*. *FEMS Microbiol Lett.* 2016; 363(15):fnw160. DOI: 10.1093/femsle/fnw160
23. **Fu J, Zong G, Zhang P, Zhao Z, Ma J, Pang X, Cao G.** *XdhR* negatively regulates actinorhodin biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* M145. *FEMS Microbiol Lett.* 2017; 364(22).DOI: 10.1093/femsle/fnx226
24. **Mak S, Nodwell JR.** Actinorhodin is a redox-active antibiotic with a complex mode of action against Gram-positive cells. *Mol Microbiol.* 2017; 106(4): 597-613. DOI: 10.1111/mmi.13837
25. **Manikprabhu D, Lingappa K.** Antibacterial activity of silver nanoparticles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* synthesized using model *Streptomyces* sp. pigment by photo-irradiation method. *J Pharm Res.* 2013;6(2):255–60. DOI: 10.1016/j.jopr.2013.01.022
26. **Fürstner A.** Chemistry and biology of roseophilin and the prodiginosin alkaloids: A survey of the last 2500 years. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2003; 42(31): 3582-603. DOI: 10.1002/anie.200300582
27. **Mo S, Sydor PK, Corre C, Alhamadsheh MM, Stanley AE, Haynes SW, Song L, Reynolds KA, Challis GL.** Elucidation of the *Streptomyces coelicolor* pathway to 2-undecylpyrrole, a key intermediate in undecylprodiginine and streptorubin B biosynthesis. *Chem Biol.* 2008; 15(2): 137-48. DOI: 10.1016/j.chembiol.2007.11.015.
28. **Liu P, Zhu H, Zheng G, Jiang W, Lu Y.** Metabolic engineering of *Streptomyces coelicolor* for enhanced prodiginosins (RED) production. *Sci China Life Sci.* 2017; 60(9): 948-957. DOI: 10.1007/s11427-017-9117-x.
29. **Meschke H, Walter S, Schrempf H.** Characterization and localization of prodiginines from *Streptomyces lividans* suppressing *Verticillium dahliae* in the absence or presence of *Arabidopsis thaliana*. *Environ Microbiol.* 2012; 14(4):940-52. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02665.x
30. **Bum Kim H, Smith CP, Micklefield J, Mavituna F.** Metabolic flux analysis for calcium dependent antibiotic (CDA) production in *Streptomyces coelicolor*.

- Metab Eng. 2004; 6(4): 313–25. DOI: 10.1016/j.ymben.2004.04.001
31. **Bednarz B, Millan-Oropeza A, Kotowska M, Świat M, Quispe Haro JJ, Henry C, et al.** Coelimitycin Synthesis Activatory Proteins Are Key Regulators of Specialized Metabolism and Precursor Flux in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Front Microbiol.* 2021; 12: 1–17. DOI: 10.3389/fmicb.2021.616050
 32. **Gomez-Escribano JP, Song L, Fox DJ, Yeo V, Bibb MJ, Challis GL.** Structure and biosynthesis of the unusual polyketide alkaloid coelimitycin P1, a metabolic product of the cpk gene cluster of *Streptomyces coelicolor* M145. *Chem Sci.* 2012; 3(9): 2716–20. DOI: 10.1039/C2SC20410J
 33. **Zarina, Nanda A.** Combined efficacy of antibiotics and biosynthesised silver nanoparticles from streptomycetes *albaduncus*. *Int J PharmTech Res.* 2014;6(6):1862–9.
 34. **Chauhan R, Kumar A, Abraham J.** A biological approach to the synthesis of silver nanoparticles with *Streptomyces* sp JAR1 and its antimicrobial activity. *Sci Pharm.* 2013;81(2):607–21. DOI: 10.3797/scipharm.1302-02
 35. **Restrepo CV, Villa CC.** Synthesis of silver nanoparticles, influence of capping agents, and dependence on size and shape: A review. *Environ Nanotechnology, Monit Manag.* 2021; 15: 100428. DOI: 10.1016/j.enmm.2021.100428
 36. **Sanjivkumar M, Vaishnavi R, Neelakannan M, Kannan D, Silambarasan T, Immanuel G.** Investigation on characterization and biomedical properties of silver nanoparticles synthesized by an actinobacterium *Streptomyces olivaceus* (MSU3). *Biocatal Agric Biotechnol.* 2019;17: 151–9. DOI: 10.1016/j.bcab.2018.11.014
 37. **Manikprabhu D, Lingappa K.** Synthesis of silver nanoparticles using the *Streptomyces coelicolor* klmp33 pigment: An antimicrobial agent against extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*. *Mater Sci Eng C.* 2014; 45: 434–7. DOI: 10.1016/j.msec.2014.09.034
 38. **Dubey SP, Lahtinen M, Särkkä H, Sillanpää M.** Bio-prospective of *Sorbus aucuparia* leaf extract in development of silver and gold nanocolloids. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2010;80(1). DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.05.024
 39. **Abdelrahim K, Younis S, Mohamed A, Salmeen K, Mustafa AEMA, Moussa S.** Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. *Saudi J Biol Sci.* 2017; 24(1): 208–16. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.02.025
 40. **Golinska P, Wypij M, Ingle AP, Gupta I, Dahm H, Rai M.** Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014; 98(19): 8083–97. DOI: 10.1007/s00253-014-5953-7
 41. **Singh T, Jyoti K, Patnaik A, Singh A, Chauhan R, Chandel SS.** Biosynthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles using an endophytic fungal supernatant of *Raphanus sativus*. *J Genet Eng Biotechnol.* 2017;15(1):31–9. DOI: 10.1016/j.jgeb.2017.04.005
 42. **Soltani-Horand P, Vaghari H, Soltani-Horand J, Adibpour M, Jafarizadeh-Malmiri H.** Extracellular Mycosynthesis of Antibacterial Silver Nanoparticles Using *Aspergillus flavus* and Evaluation of their Characteristics. *Int J Nanosci.* 2020;19(2). DOI: 10.1142/S0219581X19500091
 43. **Binupriya AR, Sathishkumar M, Yun SI.** Biocrystallization of silver and gold ions by inactive cell filtrate of *Rhizopus stolonifer*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2010;79(2):531–4. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.05.021
 44. **Mohanta YK, Behera SK.** Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles by *Streptomyces* sp. SS2. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37(11):2263–9. DOI: 10.1007/s00449-014-1205-6
 45. **Abdeen S, Geo S, Sukanya, P.K. P, Dhanya.** Biosynthesis of silver nanoparticles from Actinomycetes for therapeutic applications. *Int J Nano Dimens.* 2014;5(2):155–62. DOI: 10.7508/IJND.2014.02.008
 46. **Shanmugasundaram T, Radhakrishnan M, Gopikrishnan V, Pazhanimurugan R, Balagurunathan R.** A study of the bactericidal, anti-biofouling, cytotoxic and antioxidant properties of actinobacterially synthesised silver nanoparticles. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2013;111:680–7. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.06.045
 47. **Składanowski M, Wypij M, Laskowski D, Golińska P, Dahm H, Rai M.** Silver and gold nanoparticles synthesized from *Streptomyces* sp. isolated from acid forest soil with special reference to its antibacterial activity against pathogens. *J Clust Sci.* 2017; 28(1): 59–79. DOI: 10.1007/s10876-016-1043-6
 48. **Abd-Elnaby HM, Abo-Elala GM, Abdel-Raouf UM, Hamed MM.** Antibacterial and anticancer activity of extracellular synthesized silver nanoparticles from marine *Streptomyces rochei* MHM13. *Egypt J Aquat Res.* 2016;42(3):301–12. DOI: 10.1016/j.ejar.2016.05.004
 49. **Sánchez de la Nieta R, Antoraz S, Alzate JF, Santamaría RI, Díaz M.** Antibiotic Production and Antibiotic Resistance: The Two Sides of AbrB1/B2, a Two-Component System of *Streptomyces coelicolor*. *Front Microbiol.* 2020;11(October):1–16. DOI: 10.3389/fmicb.2020.587750
 50. **El-Naggar NEA, Abdelwahed NAM.** Application of statistical experimental design for optimization of silver nanoparticles biosynthesis by a nanofactory *Streptomyces viridochromogenes*. *J Microbiol.* 2014;52(1):53–63. DOI: 10.1007/s12275-014-3410-z
 51. **Bhosale RS, Hajare KY, Mulay B.** Biosynthesis, Characterization and Study of Antimicrobial Effect of Silver Nanoparticles by Actinomycetes spp. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2015;2(2):144–51.



Panorama general de los protozoos intestinales en México 2000-2020

Overview of intestinal protozoa in México 2000-2020

José Trinidad Sánchez Vega^{id}, Alondra Navez Valle^{id}, Ana Citlali Tapia Castor^{id}, Eunice Galilea Morales Reyes^{id},
Diego Iván Sánchez Aguilar^{id}, Ricardo Hernández López^{id}, Arnulfo Eduardo Morales Galicia^{id},
Brenda Coquis Téllez^{id}, Adriana Alejandra Animas Fernández^{*id}

Resumen

Introducción: las parasitosis intestinales siguen siendo un problema de salud pública que afectan a países en vías de desarrollo como México, ya que se encuentran entre las 20 principales causas de enfermedad, produciendo una pérdida económica importante, y afecta a individuos de todas las edades y sexo, en especial la población pediátrica.

Objetivo: conocer el panorama general de los protozoos intestinales en México en un periodo de 20 años, con la finalidad de reforzar acciones tendientes a disminuir su incidencia y prevalencia.

Métodos: a partir de la búsqueda bibliográfica en PUBMED, ScienceDirect, SpringerLink, Scielo, Google Académico y ClinicalKey se realizó un análisis retrospectivo de los protozoos intestinales en México del año 2000 al 2020; se obtuvo información epidemiológica y reportes clínicos con la finalidad de realizar análisis comparativo. La República Mexicana se dividió en 8 zonas geográficas.

Resultados y conclusiones: se evidenció un comportamiento y enfoque epidemiológico influenciado por las características diversas de cada zona, además de afirmar que las infecciones por protozoos intestinales siguen persistiendo considerablemente, entre ellas destacan las producidas por *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis hominis*. Sin embargo, existen zonas en las que no es posible interpretar los datos debido a que cuentan con información limitada. Así mismo, para el control de las parasitosis, es necesario intensificar la investigación, difusión de la información, aplicar medidas de prevención y el correcto diagnóstico dentro de la población mexicana.

Palabras clave: Protozoos, Enfermedades Intestinales, México, Epidemiología, Prevalencia

Todos los autores pertenecen al Laboratorio de Parasitología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX. Programa de tutorías, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX. Programa de Apoyo y Fomento a la Investigación Estudiantil (AFINES), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX.

Correo de correspondencia: navez.alon@gmail.com

Recepción: 27/03/2022. Aceptación: 25/05/2022

Cómo citar este artículo: Sánchez, J.T., Navez, A., Tapia, A.C., Morales, E.G., Sánchez Aguilar, D.I., Hernández, R., Morales, A.E., Coquis, B., Animas F, A.A. Panorama general de los protozoos intestinales en México 2000-2020. Hechos Microbiol. 2022;13(1)47-57. DOI: 10.17533/udea.hm.v13n1a05

Abstract

Introduction: Intestinal parasites continue to be a public health problem, affecting underdeveloped countries such as Mexico, as they are among the 20 main causes of disease. They produce a significant loss of millions of years of potential life, affecting people of all ages and genders, particularly children.

Objective: To obtain a general overview of intestinal protozoa in Mexico over a period of 20 years to reinforce actions aimed at reducing their incidence and prevalence.

Methods: From a bibliographical search in PUBMED; ScienceDirect; SpringerLink; Scielo; Google Scholar, and ClinicalKey, a retrospective analysis of intestinal protozoa in Mexico, from 2000 to 2020 was carried out, obtaining information on epidemiological content and clinical reports to perform a comparative analysis. The Mexican Republic was divided into eight geographical zones.

Results and conclusions: An epidemiological behavior and approach influenced by several characteristics of each area were evidenced, in addition to this, affirming that intestinal protozoan infections such as *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and *Blastocystis hominis* stubbornly persist. However, due to limited information, data from some areas have been impossible to interpret. Likewise, for the control of parasites, it is necessary to intensify research, disseminate information, and apply preventive measures and the correct diagnosis within the Mexican population.

Keywords: Protozoos, Intestinal Diseases, Mexico, Epidemiology, Prevalence

Introducción

El tracto digestivo del hombre es capaz de albergar una gran variedad de parásitos tanto patógenos como comensales;^[1] estos al ser agentes causales de las infecciones parasitarias, se consideran un problema de salud pública en todo el mundo aunado a su alta tasa de morbi-mortalidad, ya que producen la pérdida de millones de años de vida potencial, y afecta a países en vías de desarrollo, como lo es México, en donde se encuentran entre las 20 principales causas de enfer-

medad, con aproximadamente el 53 % de la población general diagnosticada con enteroparásitos. Gran parte de su prevalencia se debe a que los hábitos y costumbres humanas se interrelacionan con los ciclos de vida de los protozoarios.^[2-4]

Si bien las poblaciones de parásitos intestinales han disminuido, nunca se han eliminado del todo, pues en las poblaciones donde prevalecen si bien se encuentran disminuidas en cantidad, aun conservan su potencial reproductivo que les permite mantenerse de forma endémica según lo reportado por Tapia et al.^[5] Razón por la cual el presente trabajo cobra gran relevancia, ya que se hace una revisión de la literatura disponible que nos permitirá comprender de mejor manera como se comportan los protozoos intestinales en México, como resultado de la interacción de factores sociales, geográficos, económicos, culturales, históricos y políticos.^[6]

Metodología

La literatura revisada se obtuvo de manera electrónica en PUBMED, ScienceDirect, SpringerLink, Scielo, Google Académico y ClinicalKey, usando las siguientes palabras clave; “Parasitosis México”, “Parasitosis Intestinales” e “Infecciones por Protozoos”, aplicando los siguientes filtros; “humanos» y “artículos”, publicados entre el 2000-2020. Se recopilieron 334 trabajos sobre protozoos intestinales en México, los cuales, debido a que el país cuenta con un gran territorio geográfico, con características muy diversas, no es posible extrapolar los datos de frecuencia general a cualquiera de las regiones de la República Mexicana, por lo tanto, se clasificaron en 8 zonas geográficas: Norponiente, Norte, Nororiente, Poniente, Centro, Sur, Oriente y la Península de Yucatán. (Fig. 1) Esta información fue organizada para evidenciar la actividad en investigación de cada zona (Tabla 1); de estos trabajos originales, se revisó y analizó la información a fin de conocer la situación epidemiológica en cuanto a factores bióticos, abióticos, factores de riesgo, grupos etarios afectados, metodología utilizada en cada caso y datos clínicos reportados.



Figura 1. Mapa de la república mexicana que muestra la división en 8 zonas geográficas y los estados correspondientes a cada una de ellas.

PROTOZOOS INTESTINALES EN MÉXICO

Este grupo de agentes ha sido tema de importancia en materia de salud pública, lo cual se ve reflejado en el creciente número de publicaciones en la mayoría de los estados de la República Mexicana a lo largo de los años (Tabla 1); sin embargo, las parasitosis intestinales continúan existiendo y provocando una seria repercusión económica y social en la población en general.

ZONA NORPONIENTE

Esta zona se caracteriza por contar con diferentes ecosistemas a lo largo de su territorio, desde matorrales y pastizales hasta áreas selváticas. Las montañas son los elementos más característicos aunque también cuenta con un gran número de ríos, lagunas y amplios desiertos. Económicamente es una región de gran relevancia donde destacan actividades como industria, turismo, minería, comercio y actividades agropecuarias.^[7,8]

En dicha región en general, *Giardia lamblia* se encuentra por encima de otros protozoos con reportes del 49 %.^[9] Por otra parte, en el estado de Nayarit, las publicaciones son escasas; sin embargo, únicamente en este estado se reporta una alta frecuencia para *Entamoeba histolytica* con prevalencia de hasta el 59 %.^[10] Existen estados que carecen de investigaciones sobre protozoos intestinales, como Baja California Sur (Tabla 1).

Las protozoosis reportadas en esta zona, debido a su localización geográfica, se asocian de manera relevante con la exposición al agua contaminada la cual es utilizada como forma recreativa en playas, ríos y lagunas hasta su uso en la agricultura,^[11,12] en donde el estado de Sinaloa cobra mayor relevancia por ser reconocido como un importante productor agrícola nacional,^[8] este aspecto se ha vinculado con infecciones tanto a nivel nacional como internacional, en especial debido a la asociación en la exportación de alimentos contaminados y el aumento en los brotes de enfermedades transmitidas por estos, reportados principalmente en Estados Unidos.^[13]

Sumado a esto, al ser una zona turística, el patrimonio gastronómico también representa un factor de riesgo en la presencia de protozoos intestinales, destacando el reporte de turistas con co-infección por *Blastocystis spp.* y *Endolimax nana* debido al consumo de ceviche, moluscos y mariscos crudos.^[14]

Igualmente las zoonosis juegan papel importante, destacándose el papel de *G. lamblia* en infecciones de animales domésticos, demostrada a partir de estudios en heces de perros y humanos que evidenciaron los ensamblajes AI y AII,^[15] también sobresalen el factor socioeconómico y el educativo; en donde, pese a que el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) reporta que en esta zona, es alto el promedio de escolaridad a nivel nacional, se detectan trabajos que exhiben el menor nivel educativo en los hogares como un factor de riesgo significativo para las infecciones parasitarias intestinales.^[6,8]

Es necesario reducir estos factores de riesgo a la brevedad debido a que se han reportado una variedad de afecciones a la salud, principalmente en la población pediátrica, tales como la deficiencia de Zinc, Vitamina A y desnutrición.^[16-19]

ZONA NORTE

El clima seco y desértico se presenta en la mayor parte del territorio; sin embargo, a medida que se acerca a la zona centro el clima es subhúmedo. Entre las principales actividades económicas destacan el comercio y la minería; no obstante, Coahuila se caracteriza por su participación en el agrupamiento industrial que permite el desarrollo tecnológico.^[7,8]

Los estados con mayor número de publicaciones posicionan a *G. lamblia* en primer lugar en cuanto

Tabla 1. Clasificación de artículos en relación a los protozoos mencionados y total de artículos recopilados.

Zona	Estado	Agente parasitario mencionado										Total de artículos recopilados		
		Gl	Cp	Cc	Cb	E. spp	En	Bh	Bc	Ib	Ch	Estado	Zona	
Norponiente	Baja California Sur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36
	Baja California Norte	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
	Sonora	17	8	1	-	5	3	3	-	2	-	24	-	
	Sinaloa	10	2	-	-	1	-	1	-	-	-	10	-	
	Nayarit	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	
Norte	Chihuahua	5	5	-	-	4	-	-	-	-	-	8	-	19
	Coahuila	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Durango	1	1	-	-	2	-	-	-	-	-	4	-	
	Zacatecas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	San Luis Potosí	5	-	-	-	4	2	-	-	-	1	7	-	
Nororiental	Nuevo León	-	-	1	-	6	-	-	-	-	-	8	-	10
	Tamaulipas	1	-	-	-	2	1	-	-	1	-	2	-	
Poniente	Aguascalientes	-	-	1	-	5	-	-	-	-	-	6	-	31
	Jalisco	6	3	2	-	5	2	4	-	2	1	9	-	
	Colima	3	-	-	-	2	1	-	-	-	-	2	-	
	Michoacán	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	2	-	
	Guanajuato	3	1	-	-	8	-	-	-	-	-	13	-	
Centro	Querétaro	3	-	1	-	2	-	-	1	-	-	5	-	207
	Estado de México	2	1	1	-	2	-	2	-	-	-	4	-	
	CDMX	75	9	3	-	105	2	17	-	3	2	184	-	
	Morelos	4	1	1	-	5	1	2	-	1	1	9	-	
	Hidalgo	1	-	-	-	1	-	0	-	1	-	2	-	
	Tlaxcala	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Puebla	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3	-	
Oriente	Veracruz	3	1	1	-	5	-	3	-	2	1	8	-	10
	Tabasco	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	
Sur	Guerrero	2	-	1	-	1	1	1	-	-	-	3	-	11
	Oaxaca	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-	
	Chiapas	3	1	-	-	4	-	2	-	-	-	6	-	
Península de Yucatán	Campeche	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	10
	Yucatán	6	-	-	-	3	1	1	-	-	-	8	-	
	Quintana Roo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	
*TOTAL		155	33	15	1	179	14	36	1	13	7	334 ^(b)	334 ^(b)	

Gl; *Giardia lamblia*, Cp; *Cryptosporidium* spp., Cc; *Cyclospora cayatanensis*, Cb; *Cystoisospora belli*, E. spp; *Entamoeba* especies., En; *Endolimax nana*, Bh; *Blastocystis hominis*, Bc; *Balantidium coli*, Ib; *Iodamoeba butschilii*, Ch; *Chilomastix mesnili*.

* La suma por cada agente mencionado (a) no corresponde al total de artículos (b) debido a que en la mayoría de los casos se mencionaba a más de un protozoo por artículo.

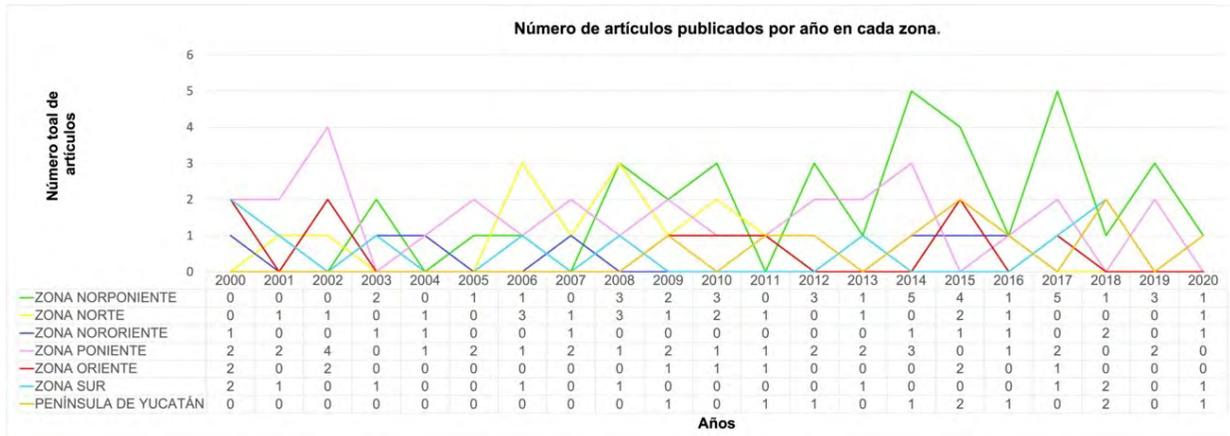


Figura 2. Cronología del número de artículos publicados por año en cada zona.

*La zona centro se muestra en una figura diferente para una mejor interpretación.

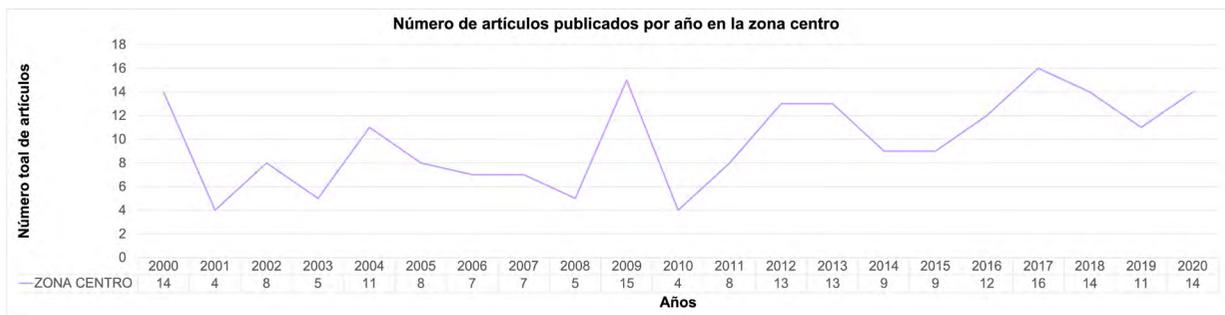


Figura 3. Cronología del número de artículos publicados por año en la zona centro.

a prevalencia con un 82 %, [20] en San Luis Potosí también se destaca *B. hominis*, reportando una prevalencia del 44 % en las zonas rurales. [21] Específicamente en Chihuahua, *Cryptosporidium* spp. se presenta con el 70 %. [20] En Durango el parásito que predominó fue *Entamoeba* spp., en donde se ha reportado una seroprevalencia del 28 % en pacientes pediátricos y el 41 % en adultos jóvenes. [22] Por otro lado, en Zacatecas y Coahuila, pese a la búsqueda exhaustiva, no se encontraron publicaciones (Tabla 1), por lo que se exhorta a la comunidad científica a realizar investigaciones en dichos estados.

Entre los grupos de riesgo de importancia está la población pediátrica y en específico las personas en contacto con el agua de río como los trabajadores de campo, [23] debido a que una parte importante de la superficie de la zona está dedicada a la actividad agrícola de riego, esta situación está asociada a los reportes

sobre contaminación de aguas residuales y de otras fuentes como el Río Bravo. [20, 24]

ZONA NORORIENTE

Esta zona se caracteriza por ser predominantemente semiárida con la presencia de matorrales, bosques de coníferas, encinos, selvas secas y en las regiones más cercanas al mar existen manglares. En cuanto a las actividades que se realizan, predomina el comercio, y en Tamaulipas, debido a que presenta un clima cálido subhúmedo se practica principalmente la agricultura [8].

Las publicaciones en esta zona principalmente se enfocan al estudio de *Entamoeba* spp. (Tabla 1), con un predominio en estudios moleculares, de tratamiento y diagnóstico. En los pocos estudios encontrados de otros protozoos, se observan reportes epidemiológicos donde se destaca *Cyclospora cayatanensis* con un 78 %

del total de 70 muestras de heces estudiadas, resultados que, aunque representan un estudio pequeño, son compatibles con los existentes en México, donde este agente se identifica rutinariamente en niños menores de 14 años, con prevalencia de un 3 %, lo que sugiere que es un parásito endémico poco reportado; sin embargo, debido a la escasez de datos epidemiológicos se invita a la comunidad científica a la investigación de protozoos intestinales en esta zona.^[25]

ZONA PONIENTE

Esta zona se caracteriza por la presencia de mesetas, llanuras, altiplanicies y valles, por lo que su clima suele ser, en su mayoría, cálido subhúmedo y seco en algunos estados. La principal actividad económica es el comercio con un acelerado crecimiento debido a la presencia de corporativos nacionales e internacionales, ganaderos, porcinos y ranchos agrícolas con extensas plantaciones de cereales, tubérculos, frutas y vegetales.^[7,8]

Entamoeba histolytica es el parásito con mayor prevalencia en esta zona la cual ha ido en aumento, con reportes de un 32 % en el 2000 y del 37 % en el 2019.^[2,26] En el ámbito clínico, existen múltiples reportes de casos que van desde pancolitis amebiana, absceso hepático y abscesos cerebrales amebianos.^[27, 28]

Por otro lado, *G. lamblia* representa el protozoo con mayor número de publicaciones en Colima y Jalisco (Tabla 1); sin embargo, la mayor prevalencia se reporta para *B. hominis* con un 49 % seguido de *Cryptosporidium* spp. con un 7 %, en este último estado.^[2] En particular en Michoacán y Aguascalientes se destacan los trabajos sobre *C. cayetanensis* como causante de la diarrea del viajero asociada principalmente al consumo de vegetales, considerando que más de la mitad de la superficie en estos estados se dedica a la agricultura, es importante desarrollar estrategias para la prevención de esta parasitosis.^[8,29,30]

ZONA CENTRO

En cuanto a extensión territorial, es una región pequeña. Las principales actividades económicas y productivas de la región son el comercio, servicios turísticos, industria tanto agropecuaria como manufacturera y, especialmente en Tlaxcala, se destacan los servicios de compra y alquiler inmobiliario.^[7,8]

En el ámbito laboral es importante recalcar la reutilización de aguas residuales en la agricultura, ya que la Ciudad de México (CDMX) es uno de los mayores productores de la misma en todo el mundo, además de proveerla a estados vecinos.^[31,32] Cobra relevancia debido a la presencia de protozoos en las mismas, ya que se han aislado con frecuencia *G. lamblia*, *E. histolytica* y *Cryptosporidium* spp., situación que no debe pasar desapercibida debido a que en áreas rurales de México, se ha reportado esporádicamente una alta prevalencia de infecciones por este último parásito.^[33] Otros factores de riesgo son los parásitos gastrointestinales zoonóticos principalmente en perros, los cuales se convierten en una fuente potencial de infección para otros mamíferos, entre ellos, el humano;^[34-36] también el ganado es de importancia puesto que su estiércol es usado como fertilizante sin tratar, y posteriormente es desechado en los canales de Xochimilco.^[37]

Epidemiológicamente en el estado de Tlaxcala, pese a búsquedas exhaustivas en las diferentes bases de datos, hasta el momento no se han encontrado trabajos reportados. En Querétaro, predominaron las publicaciones sobre *G. lamblia* (Tabla 1), al igual que en el Estado de México, en donde además se agrega *Entamoeba* spp. y se destaca el reporte de caso en el 2015 sobre absceso hepático amebiano en un paciente masculino de 1 año de edad, dado que en la literatura esta complicación no se reporta con frecuencia en lactantes.^[38] En Puebla, el protozoo con mayor prevalencia es *Entamoeba* spp. con un 14 %, además, en este estado se reporta la seroprevalencia más alta de todo México.^[39] También se destaca en el 2011, en este mismo estado, un caso reportado de amibiasis cutánea perianal en un hombre de 58 años de edad.^[40] En Morelos, este protozoo también ocupa el primer lugar con 65 %, seguido de *Blastocystis* spp. con 25 %, aunque también reporta de manera importante a *G. lamblia* con 19 %.^[41,42]

Por otro lado, la CDMX es un caso muy particular ya que, pese a que es el estado con mayor número de publicaciones en México, los reportes epidemiológicos son escasos y predominan publicaciones sobre generalidades de estos agentes, tratamientos alternativos y aspectos moleculares. Entre los reportes epidemiológicos, existe mayor información acerca de *Entamoeba* spp. (Tabla 1), y se destaca su asociación con *G. lamblia*. Así mismo, como hoy en día

se considera a *Blastocystis* spp. como un agente emergente y considerando la importancia epidemiológica, los trabajos acerca de este agente han predominado últimamente y se reporta una prevalencia del 21 %.^[5]

Así mismo, en esta Zona Centro se destacan trabajos de gran impacto clínico como es el caso del Estado de México y CDMX donde se reportan casos sobre absceso amebiano cerebral y giardiasis intraepitelial, entamoebiasis vulvar y un caso de infección por *C. cayetanensis*.^[43-46]

ZONA ORIENTE

En esta zona predominan los bosques de coníferas, encinos, bosques húmedos de montaña, así como selvas, pastizales, vegetación acuática y en una pequeña parte, la sabana. Entre las actividades que se realizan, se destacan las portuarias, la industria automotriz, la siderúrgica y la pesca, así mismo se realiza ganadería y agricultura, donde los cultivos más importantes son de café, cacao, caña de azúcar, plátano, siembra de pastizales para el alimento del ganado, y específicamente, el estado de Tabasco se considera una de las principales zonas petroleras del país.^[7,8]

A pesar de que la mayoría de las publicaciones mencionan con mayor frecuencia a *G. lamblia* y *Entamoeba* spp., los reportes epidemiológicos ubican a *B. hominis* en el primer lugar con una prevalencia de hasta el 80 %^[47], seguido de *G. lamblia* con el 65 %.^[48] Sin embargo, *Entamoeba* spp. no deja de representar un protozoo de gran importancia epidemiológica ya que se ha reportado una prevalencia del 47 %.^[49] Otros protozoos mayormente referidos, sobretodo en pacientes inmunosuprimidos, son *Cryptosporidium* spp. y *C. cayetanensis* ambas con una prevalencia de 46 % en este grupo poblacional.^[50] En cuanto a las zoonosis, figuran *G. lamblia* y *Cystoisospora belli*, este último es la única especie en el grupo apicomplexa capaz de infectar a humanos.^[51]

Cabe recalcar que a pesar de los reportes epidemiológicos mencionados anteriormente sobre esta zona, hace falta estudiar muestras poblacionales más grandes con la finalidad de conocer datos epidemiológicos más certeros.

ZONA SUR

Esta zona cuenta con la mayor biodiversidad del país, se encuentran desde bosques de coníferas, encinos,

selvas húmedas, manglares, matorrales hasta pastizales y posee la mayor cantidad de agua dulce. Tiene la concentración más grande de poblaciones indígenas, de donde se infiere la gran diversidad y la riqueza de su patrimonio cultural.^[7,8] Con respecto a la actividad económica se destacan actividades como el comercio, los servicios de renta y alquiler de inmuebles; sin embargo, es la zona que presenta el menor grado de desarrollo relativo, por lo que esta población suele vivir en condiciones de marginación, incluso Chiapas se ha ostentado como el primer lugar de pobreza extrema en México,^[52] situación que predispone a una mayor exposición a factores de riesgo como lo son el desabasto y la deficiente calidad del agua para consumo humano.^[53]

Las publicaciones realizadas en la Zona Sur mencionan con mayor frecuencia a *G. lamblia*; sin embargo, a pesar de que su tasa de prevalencia es alta^[36], el único estado que lo posiciona en primer lugar es Oaxaca, con el 35 %^[54], mientras que Chiapas y Guerrero, recientemente han reportado a *B. hominis* como el protozoo de mayor prevalencia, con el 17 % y 23 %, respectivamente.^[55,56] Aunque Chiapas también se destaca por su número de publicaciones reportando a *E. histolytica* (Tabla 1).

De esta zona se reportan casos especiales en el estado de Guerrero, sobre absceso hepático amebiano, casos de Giardiasis asociados con artralgias y *C. cayetanensis* por ingesta de cócteles de mariscos.^[54, 57, 58]

PENÍNSULA DE YUCATÁN

Se caracteriza por tener clima en su mayoría subhúmedo y seco en algunas regiones, esto propicia la presencia de selvas, mientras que en zonas costeras se encuentran manglares y tulares principalmente. Las actividades económicas que se destacan son minería petrolera, comercio, servicios de alojamiento temporal y de preparación tanto de bebidas como de alimentos^[8], situación que cobra relevancia puesto que se han reportado malas prácticas en el manejo de los alimentos postcosecha en los mercados de esta zona, potenciando así la presencia de infecciones por protozoos intestinales.^[59]

En la Península de Yucatán sucede una situación similar a la de las Zonas Sur y Oriente, ya que los artículos publicados, en su mayoría, mencionan a *G. lamblia* y *Entamoeba* spp.; sin embargo, a pesar de que

los reportes epidemiológicos son escasos, estos colocan a *B. hominis* como el de mayor prevalencia con un 53 %, seguido de *G. lamblia* con un 39 %.^[60] Por otro lado, pese a que la ciclosporiasis no es una enfermedad endémica de esta zona, harían falta estudios en cuanto a su prevalencia, dado que existen reportes que describen un brote en viajeros británicos y canadienses posterior a su estadía en esta zona.^[61]

Así mismo, en el ámbito clínico se reporta un caso de colitis amebiana necrosante, la cual representa una forma rara de amebiasis asociada a una alta morbimortalidad.^[62] Es necesario recalcar que pese a la búsqueda exhaustiva, en Campeche sólo se encontró un artículo que aborda aspectos moleculares, y en Quintana Roo no se encontraron publicaciones.

DISCUSIÓN

En este trabajo se reafirma que las enfermedades infecciosas y parasitarias, en particular las generadas por los protozoos intestinales, continúan siendo un grave problema de salud pública en México a pesar de que existen diversas medidas de prevención las cuales van desde campañas de desparasitación masiva, programas de promoción y difusión de medidas de higiene, educación sobre las zoonosis y hasta la evaluación de la calidad del agua potable. Pese a ello, se observa que existen pocos trabajos encaminados a conocer la incidencia y prevalencia de estos agentes, por ende, esto repercute en la poca realización de acciones tendientes a disminuir estas afecciones. Adicionalmente, las diferencias observadas en las zonas geográficas estudiadas de la República Mexicana, obedece a la diversidad biótica y abiótica existente, con una gran variedad de agentes patógenos y múltiples factores de riesgo a los que la población en general se encuentra expuesta.

Cabe destacar entre los datos epidemiológicos reportados, la transición que se observó en regiones como la Zona Centro, Sur, Oriente y la Península de Yucatán, en donde *B. hominis* se posiciona en los primeros lugares en cuanto a prevalencia con reportes que van desde el 17 % hasta el 80 %, por lo cual se debe potenciar la búsqueda intencionada de esta protozosis, dado que el aumento progresivo de los casos está aunado, en gran medida, a la escasez e inespecificidad de las manifestaciones clínicas, lo que dificulta su diagnóstico; y por lo cual pasa de representar un problema individual de salud a uno de gran impacto en la salud pública.

Por lo anterior y lo expuesto en este reporte, se exhorta a los investigadores de estos temas a poner en marcha estudios epidemiológicos y reforzar trabajos encaminados al análisis y ejecución de programas de control y prevención que permitan controlar y mejorar esta problemática existente no solo en México si no también en otros países, situación que no solo genera importante repercusión social y económica en la población en general, afectando la salud, primordialmente de la población pediátrica y con mayor frecuencia del entorno rural, lo que se ve reflejado en déficit cognitivo y retraso en el crecimiento, aunado a la deficiencia de Zinc, Vitamina A y desnutrición.^[16-19]

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses para la publicación del manuscrito.

FINANCIACIÓN

Programa de tutorías, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX. Programa de Apoyo y Fomento a la Investigación Estudiantil (AFINES), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX.

Referencias

1. **Suárez CI, Becerril PSR, Gutiérrez GVM.** Enteroparásitos reportados en estudios coproparasitológicos realizados en pacientes pediátricos. Arch Inv Mat Inf. 2011;3(3):111-116.
2. **De la Luz Galván Ramírez M, Madriz Elisondo AL, Ramírez Temores CG, Romero Rameño JJ, De la O Carrasco DA, Cardona López MAC.** Enteroparasitism and Risk Factors Associated with Clinical Manifestations in Children and Adults of Jalisco State in Western Mexico. Osong Public Health Res Perspect. 2019; 10(1): 39-48. DOI: 10.24171/j.phrp.2019.10.1.08
3. **Ávila Rodríguez A, Ávila Rodríguez EH, Ávila Pérez M, Araujo Contreras JM.** Parasitosis intestinal y factores asociados, en niños menores de 5 años en cuatro asentamientos humanos irregulares de la ciudad de Durango, Méx. Enlaces Acad. 2010; 3(1): 15-27. <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=78859>
4. **Sanchez Vega JT, Tay Zavala J, Roberto Guerrero L, Romero-Cabello R, Ruíz Sánchez D, Rivas García C.** Frecuencia de parasitosis intestinales en asentamientos humanos irregulares. Rev Fac Med UNAM. 2000;

- 43(3): 80-83. <https://www.medigraphic.com/pdfs/fac-med/un-2000/un003c.pdf>
5. **Tapia Romero R, Martínez Méndez LG, Dávila Solís BL, López Martínez B, Parra Ortega I.** Parasitological transition: Experience in a third-level pediatric hospital (1990-2010). *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 2015; 72(3): 174–180. DOI: 10.1016/j.bmhmx.2015.06.002
 6. **Quihui L, Valencia ME, Crompton DW, Phillips S, Hagan P, et al.** Role of the employment status and education of mothers in the prevalence of intestinal parasitic infections in Mexican rural schoolchildren. *BMC Public Health.* 2006; 6(225). DOI: 10.1186/1471-2458-6-225
 7. **Pérez Torres E.** Atlas Universal y de México. 4a ed. México: Esfinge; 2010.
 8. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).** [Internet]. Cuéntame de México, información por entidad. México: INEGI; 2020 [citado el 17 de enero de 2022]. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/default.aspx?tema=me>
 9. **Quihui L, Morales GG, Méndez RO, Leyva GJ, Esparza J, Valencia MI.** Could giardiasis be a risk factor for low zinc status in schoolchildren from northwestern Mexico? A cross-sectional study with longitudinal follow-up. *BMC Public Health.* 2010; 10(1). DOI: 10.1186/1471-2458-10-85
 10. **Guevara Y, De Haro I, Cabrera M, De la Torre García MC, Salazar Schettino PM.** Enteroparasitosis en poblaciones indígenas y mestizas de la Sierra de Nayarit, México. *Parasitología Latinoamericana.* 2003; 58(1-2): 30-34. DOI: 10.4067/s0717-77122003000100005
 11. **Magana-Ordorica D, Mena K, Valdez-Torres JB, Soto-Beltran M, Leon-Felix J, Chaidez C.** Relationships between the occurrence of Giardia and Cryptosporidium and physicochemical properties of marine waters of the Pacific Coast of Mexico. *J Water Health.* 2010; 8(4), 797–802. DOI: 10.2166/wh.2010.130
 12. **Balderrama-Carmona AP, Gortáres-Moroyoqui P, Álvarez-Valencia LH, Castro-Espinoza L, Balderas-Cortés Jde J, Mondaca-Fernández I, Chaidez-Quiroz C, Meza-Montenegro MM.** Quantitative microbial risk assessment of Cryptosporidium and Giardia in well water from a native community of Mexico. *Int J Environ Health Res.* 2014; 25(5): 570–582. DOI: 10.1080/09603123.2014.989492
 13. **Mota A, Mena KD, Soto-Beltran M, Tarwater PM, Cháidez C.** Risk assessment of cryptosporidium and giardia in water irrigating fresh produce in Mexico. *J Food Prot.* 2009; 72 (10): 2184–2188. DOI: 10.4315/0362-028X-72.10.2184
 14. **Grano Maldonado MI.** Blastocystis hominis and endolimax nana an emerging infection during touristic gastronomic activities in Sinaloa, México: case reports. *Neot. Helmin.* 2019; 13 (2): 253-264. <https://www.neotropicalhelminthology.com/articulo-12-2019-2>
 15. **Elegio García L, Cortes Campos A, Cota Guajardo S, Gaxiola S, Jiménez Cardoso E.** Frequency of Giardia intestinalis assemblages isolated from dogs and humans in a community from Culiacan, Sinaloa, Mexico using beta-giardian restriction gene. *Vet Parasitol.* 2008; 156(3-4), 205-209. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.04.029
 16. **Quihui Cota L, Morales Figueroa GG.** Parasitosis intestinales en escolares tratados con albendazol en el noroeste de México: Estudio piloto. *Biotecnia.* 2012; 14(2): 32-39 DOI: 10.18633/bt.v14i2.121
 17. **Astiazara García H, Lopez Teros V, Valencia ME, Vazquez Ortiz F, Sotelo Cruz N, Quihui Cota L.** Giardia lamblia Infection and Its Implications for Vitamin A Liver Stores in School Children. *Ann Nutr Metab.* 2010; 57(3-4), 228–233. DOI: 10.1159/000321682
 18. **Felipe-Ortega Fonseca X, Ruiz López L, Icedo García R, Balderrama Carmona AP, Vázquez Curriel RA.** Prevalencia de parasitosis y estimación del estado nutricional en niños preescolares de la comunidad rural de Bacame Nuevo, Sonora. *SINFRONTERA.* 2019;(31):19. DOI: 10.46589/rdiasf.v0i31.287.
 19. **Eligio García L, Cortés Campos A, Cota Guajardo S, Gaxiola S, Jiménez Cardoso E.** Frequency of Giardia intestinalis assemblages isolated from dogs and humans in a community from Culiacan, Sinaloa, Mexico using β -giardin restriction gene. *Vet. Parasitol.* 2008; 156(3-4), 205–209. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.04.029
 20. **Redlinger T, Corella Barud V, Graham J, Galindo A., Avitia R, Cardenas V.** Hyperendemic Cryptosporidium and Giardia in households lacking municipal sewer and water on the United States-Mexico border. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 66(6), 794–798. DOI: 10.4269/ajtmh.2002.66.794
 21. **Velarde del Río LT, Mendoza Romo MA.** Prevalencia de Blastocystis hominis en menores de 12 años de una población mexicana urbana. *Rev Cubana Pediatr.* 2006; 78(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312006000400006&lng=es&lng=es
 22. **Alvarado-Esquivel C, Hernández Tinoco J, Sánchez Anguiano LF., Ramos Nevárez A., Cerrillo Soto, S. M, Guido Arreola CA.** Serosurvey of Entamoeba Histolytica Exposure among Tepehuanos Population in Durango, Mexico. *Int J Biomed Sci.* 2015; 11 (2), 61–66. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4502734/>
 23. **Garza Almazan V, Fernández Salas I, Badii M, Flores Suárez A, Hauad Marroquín L, Villarreal Rivera L.** Evaluación de riesgo a la salud en la comunidad de Loma Blanca (distrito de riego 009) Valle de Juárez (México), por exposición a aguas residuales no tratadas. *RESPYN.* 2001; 2(3). <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/67>
 24. **Olivas Enriquez E, Flores Margez JP, Serrano Alamillo M, Soto Mejía E, Iglesias Olivas J, Salazar Sosa E, et al.**

- Fecal Indicators and Pathogens in Water Discharged into the Rio Grande. *Terra Latinoam.* 2011; 29(4), 449-457.
25. **Ayala Gaytán JJ, Díaz Olachea C, Riojas Montalvo P, Palacios Martínez C.** Ciclosporidiosis: Características clínicas y diagnósticas de un brote epidémico. *Rev Gastroenterol Mex.* 2004; 69, 226-229. <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/en-pdf-X0375090604241582>
 26. **Padilla N, Díaz R, Muñoz M.** Efficacy and Safety of Quinifamide versus Secnidazole in the Management of Amoebic Non-Dysenteric Colitis in Children. *Clin Drug Investig.* 2000; 20, 89-93. DOI: 10.2165/00044011-200020020-00003
 27. **Maldonado Barrera CA, Campos Esparza MR, Muñoz Fernández L, Victoria Hernández JA, Campos Rodríguez R, Talamás Rohana P, et al.** Clinical case of cerebral amebiasis caused by *E. histolytica*. *Parasitol Res.* 2012; 110, 1291-1296 DOI: 10.1007/s00436-011-2617-8
 28. **Victoria-Hernández JA, Ventura-Saucedo A, López-Morones A, Martínez-Hernández SL, Medina-Rosales MN, Muñoz-Ortega M, Ávila-Blanco ME, Cervantes-García D, Barba-Gallardo LF, Ventura-Juárez J.** Case report: multiple and atypical amoebic cerebral abscesses resistant to treatment. *BMC Infect Dis.* 2020; 20(1), 669. DOI:10.1186/s12879-020-05391-y
 29. **Orozco-Mosqueda GE, Martínez-Loya OA, Ortega YR.** *Cyclospora cayetanensis* in a pediatric hospital in Morelia, México. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 91(3): 537-540. DOI:10.4269/ajtmh.13-0535
 30. **Gómez Torres JR, Montañez Díaz ME, Delgado Guerrero G.** Primer registro de *Cyclospora cayetanensis* en Aguascalientes (México) Confirmación de dos casos. *LUXMED.* 2010; 5(14), 11-15. DOI: 10.33064/14lm20101669
 31. **Contreras JD, Meza R, Siebe C, Rodríguez-Dozal S, López-Vidal YA, Castillo-Rojas G, Amieva RI, Solano-Gálvez SG, Mazari-Hiriart M, Silva-Magaña MA, Vázquez-Salvador N, Rosas Pérez I, Martínez Romero L, Salinas Cortez E, Riojas-Rodríguez H, Eisenberg JNS.** Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A 25-year update. *Water Res.* 2017; 123: 834-850. DOI: 10.1016/j.watres.2017.06.058
 32. **Landa-Cansigno O, Durán-Álvarez JC, Jiménez-Cisneros B.** Retention of *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* cysts and *Ascaris lumbricoides* eggs in agricultural soils irrigated by untreated wastewater. *J Environ Manage.* 2013; 128: 22-29. DOI: 10.1016/j.jenvman.2013.04.049
 33. **Sánchez-Vega JT, Tay-Zavala J, Aguilar-Chiu A, Ruiz-Sánchez D, Malagón F, Rodríguez-Covarrubias JA, Ordóñez-Martínez J, Calderón-Romero L.** Cryptosporidiosis and other intestinal protozoan infections in children less than one year of age in Mexico City. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75 (6):1095-1098. DOI: 10.4269/ajtmh.2006.75.1095
 34. **Lara Reyes E, Figueroa Ochoa JM, Quijano Hernández IA, Del Ángel Caraza J, Barbosa Mireles MA, Victoria Mora JM, et al.** Frecuencia de parásitos gastrointestinales de perros en parques públicos de dos municipios vecinos del Estado de México. *Nova.* 2019; 17(32): 75-81. DOI: 10.25058/24629448.3634
 35. **Godínez-Galaz EM, Veyna-Salazar NP, Olvera-Ramírez AM, Milián-Suazo F, Perea-Razo CA, Bernal-Reynaga R, Cantó-Alarcón GJ.** Prevalence and Zoonotic Potential of *Giardia intestinalis* in Dogs of the Central Region of Mexico. *Animals (Basel).* 2019; 9(6). DOI: 10.3390/ani9060325
 36. **Ibáñez-Cervantes G, León-Ávila G, Bello-López JM, Pérez-Rangel A, León-García G, Noguera-Torres B, Hernández JM.** Changes in the incidence of intestinal giardiasis in Mexican population during five years (2011-2015). *Acta Parasitol.* 2018; 63(1): 40-47. DOI: 10.1515/ap-2018-0005
 37. **Juárez-Figueroa LA, Silva-Sánchez J, Uribe-Salas FJ, Cifuentes-García E.** Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco canals, Mexico City. *Salud Publica Mex.* 2003; 45(5): 389-95. DOI: 10.1590/s0036-36342003000500009
 38. **Sierra-García R, Gómez-Martínez DN, Sánchez-Reyes NM.** Absceso hepático amibiano en un lactante. *Rev Mex Pediatr.* 2015;82(2):62-66. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=60798>
 39. **Sánchez-Guillén MdelC., Velázquez-Rojas M, Salgado-Rosas H, Torres-Rasgado E, Pérez-Fuentes R, Martínez-Munguía J, Talamás-Rohana P.** Seroprevalence of anti-entamoeba *histolytica* antibodies by IHA and ELISA assays in blood donors from Puebla, Mexico. *Arch Med Res.* 2000; 31(4): 53-54. DOI: 10.1016/s0188-4409(00)00178-8
 40. **Medina-Murillo GR, Rodríguez-Wong U.** Amibiasis cutánea perianal. Informe de dos casos [Perianal cutaneous amebiasis. Report of two cases]. *Rev Gastroenterol Mex.* 2011; 76(1): 60-63. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21592908/>
 41. **Rojas L, Morán P, Valadez A, Gómez A, González E, Hernández E, et al.** Entamoeba *histolytica* and Entamoeba *dispar* infection in Mexican school children: genotyping and phylogenetic relationship. *BMC Infect Dis.* 2016; 16(1). DOI: 10.1186/s12879-016-1812-8
 42. **Ramos F, Valdez E, Morán P, González E, Padilla G, Gómez A, Ramiro M, Melendro EI, Muñoz O, Clark CG, Ximénez C.** Prevalence of Entamoeba *histolytica* and Entamoeba *dispar* in a highly endemic rural population. *Arch Med Res.* 2000; 31(4): 34-35. DOI: 10.1016/S0188-4409(00)00106-5
 43. **Castillo de la Cruz M, Barredo Gallegos JL, Guerra IF R, Félix I, Rivas A, et al.** Absceso cerebral multicéntrico causado por Entamoeba *histolytica*. *Arch Neurocién.* 2004; 9(1): 59-62. <http://www.>

- scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-47052004000100012.
44. **Martínez Gordillo MN, González Maciel A, Reynoso Robles R, Montijo Barrios E, Ponce Macotela M, et al.** Intraepithelial giardia intestinalis: a case report and literature review. *Medicine*. 2014; 93(29). DOI: 10.1097/MD.0000000000000277
 45. **Cornejo-Juárez P, Avilés-Salas A.** Amebiasis vulgar. Reporte de un caso y revisión de la literatura. *Enf Infec Microbiol*. 2003; 23(1): 23-26. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11063>
 46. **Sánchez Vega JT, Cabrera Fuentes HA, Romero Olmedo AJ, Ortiz Frías JL, Sokolina F, Barreto G, et al.** *Cyclospora cayetanensis*: This Emerging Protozoan Pathogen in Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 2014; 90 (2): 351-353. DOI: 10.4269/ajtmh.12-0782
 47. **Martínez Barbabosa I, Gutiérrez Quiroz M, Ruiz González L, Ruiz Hernández AL, Gutiérrez Cárdenas EM, Gaona E.** Blastocystis hominis y su relación con el estado nutricional de escolares en una comunidad de la sierra de Huayacocotla, Veracruz, México. *Rev Biomed*. 2010; 21(2), 77-84.
 48. **Rodríguez García R, Rodríguez Guzmán LM, Sánchez Maldonado MI, Gómez Delgado A, Rivera Cedillo R.** Prevalence and risk factors associated with intestinal parasitoses in pregnant women and their relation to the infant's birth weight. *Ginecol Obstet Mex*. 2002; 70, 338-343.
 49. **Rodríguez Guzmán LM, Hernández Jerónimo EJ, Rodríguez García R.** Parasitosis intestinal en niños seleccionados en una consulta ambulatoria de un hospital. *Rev Mex Pediatr*. 2000; 67(3), 117-122. <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediatr/sp-2000/sp003e.pdf>
 50. **Hurtado Capetillo JM, Lagunes Holte V A, Ortigoza Gutiérrez S, Cortes García CA., Torres Flores B, Rodríguez Román E.** *Cyclospora cayetanensis* Y *Cryptosporidium* spp, Principales parásitos en pacientes con SIDA. *Bioquímica*. 2009; 34(1),106.1 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57613001097>
 51. **Torres-Chablé OM, García-Herrera RA, Hernández-Hernández M, Peralta-Torres JA, Ojeda-Robertos NF, Blitvich BJ, Baak-Baak CM, García-Rejón JE, Machain-Williams CI.** Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic dogs in Tabasco, southeastern Mexico. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2015; 24(4), 432-437. DOI: 10.1590/s1984-29612015077
 52. **Gutiérrez Jiménez J, Luna Cázares LM, Martínez de la Cruz L, Aquino López JA, Sandoval Gómez D, León Ortiz AT, et al.** Children from a rural region in The Chiapas Highlands, Mexico, show an increased risk of stunting and intestinal parasitoses when compared with urban children. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2019; 76:18-26 DOI: 10.24875/bmhim.18000069
 53. **Galdos Balzategui A, Carmona de la Torre J, Sánchez Pérez H, Morales López JJ, Torres Dosal A, Gómez Urbina S.** Evaluación cuantitativa del riesgo microbiológico por consumo de agua en San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. *Tecnol. Cienc. Agua*. 2017; 8(1): 133-153.DOI: 10.24850/j-tyca-2017-01-10
 54. **Meza Ortiz F.** Giardiasis-associated arthralgia in children. *Arch Med Res*. 2001; 32(3): 248-250. DOI: 10.1016/s0188-4409(01)00275-2
 55. **Ochoa Tapia E, Ávila Sánchez A, Montero Farrera J, Pulido Villarreal M, López López D, Trujillo Vizuet MG, et al.** Evaluación de la recuperación nutricional en niños menores de cinco años con un suplemento alimenticio a base de soya, ajonjolí, amaranto y avena, en zonas rurales de Chiapas. *Rev Endocrinol Nutr*. 2013; 21(3), 107-113 <https://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2013/er133b.pdf>
 56. **Rodríguez E, Mateos B, González JC, Aguilar YM, Alarcon E, Mendoza AA, et al.** Transición parasitaria a Blastocystis hominis en niños de la zona centro del estado de Guerrero, México. *Parasitol. latinoam*. 2008; 63: 20-28. DOI: 10.4067/S0717-77122008000100004
 57. **Cardoso Hernández G, Hernández Porras M, Zepeda Orozco G, González Saldaña N.** Presentación infrecuente de absceso hepático amebiano en pediatría. *Rev Enfer Infec Pediatr*. 2006; 20 (77): 3-7. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2006/eip063b.pdf>
 58. **Castañón González JA, Zavala González V.** Consideraciones clínicas sobre la ciclosporiasis. *Gac Med Mex*. 2019; 155(3): 328-329. <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2019/gm193r.pdf>
 59. **Alpuche Navarrete LC, Rodríguez Rivera R, Herrera Rodríguez FJ.** Manejo poscosecha de los productos alimenticios de origen vegetal en los mercados públicos de Mérida, Yucatán, México. *Rev. Iber. de Tec. Postcosecha*. 2011; 12(1):1-7 <https://www.redalyc.org/pdf/813/81318808002.pdf>
 60. **Torres-Romero JC, Euan-Canto Ade J, Benito-González N, Padilla-Montaño N, Huchin-Chan C, Lara-Riegos J, Cedillo-Rivera R.** Intestinal parasites and genotyping of *Giardia duodenalis* in children: first report of genotype B in isolates from human clinical samples in Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014; 109(3): 388-90. DOI: 10.1590/0074-0276140507.
 61. **Gordon LN, Freedman J, Kevin GP, Rumble C, Chalmers RM, Chiodini P, et al.** *Cyclospora* infection linked to travel to Mexico, June to September 2015. *Euro Surveill*. 2015; 20(43). DOI:10.2807/1560-7917.es.2015.20.43.30048
 62. **Briceño-Santana M, Grijalva NMB, Vargas-Guzmán AL, Manterola C, García Méndez N.** Colitis amebiana necrosante, presentación de un caso [Necrotizing amebian colitis, case report]. *Rev Chilena Infectol*. 2020; 37(5), 599-603. DOI:10.4067/S0716-10182020000500599

Instrucciones para los autores

Comité Editorial

POLÍTICAS EDITORIALES

MISIÓN

Difundir los conocimientos científicos relacionados con la práctica y los procesos de la Microbiología, el Bioanálisis y otras disciplinas afines con las áreas de la salud, la industria, el ambiente y la educación. Mantener una vía de intercambio de conocimientos y experiencias con disciplinas que tengan su centro de acción en la investigación básica y aplicada en Colombia y en otros países.

VISIÓN

La revista científica Hechos Microbiológicos estará clasificada por Colciencias y será indizada en la categoría A1 de Publindex en el mediano plazo; además, será reconocida como una publicación periódica de alta calidad por su contenido y su amplia visibilidad en el medio. Aportará grandes avances a la difusión de la investigación científica que se produce en Colombia y en el exterior.

PÚBLICO OBJETIVO

Esta publicación está dirigida a todos los profesionales quienes tengan interés en la Microbiología Clínica, Ambiental e Industrial, y sus aplicaciones básicas y aplicadas, así como por el Bioanálisis y otras disciplinas del laboratorio. Adicionalmente, esta publicación sirve a los estudiantes de pre y posgrado cuya formación involucre, directa o indirectamente, conceptos de la Microbiología y el Laboratorio en todos sus ámbitos.

FRECUENCIA DE PUBLICACIÓN

Los elementos de la revista serán publicados colectivamente, en versión digital e impresa, como parte de un número con su propia tabla de contenidos, cada seis meses.

POLÍTICA DE ACCESO ABIERTO A LA VERSIÓN DIGITAL

De acuerdo con los criterios de *Budapest Open Access Initiative*, la revista Hechos Microbiológicos permite la lectura, impresión, descarga, enlace y reproducción gratuita de sus contenidos, en su versión digital, siempre que se cite la fuente de manera apropiada.

DECLARACIÓN DEL TRATAMIENTO ÉTICO DE ANIMALES

El cuidado y el uso de animales de experimentación deben cumplir con todas las leyes, directrices y políticas nacionales e internacionales pertinentes de bienestar animal, así como una declaración de dicho cumplimiento, emitida por un Comité de Ética Institucional, con los siguientes criterios:

- a. Los ensayos que incluyan animales como modelo experimental deberán ser aplicables para la salud humana o animal, el beneficio general de la sociedad o el avance de conocimiento fundamental. Si una parte de esa investigación es o no aceptable depende del resultado de un análisis costo-beneficio, la conclusión de dicho análisis debería ser enviada al editor.
- b. Mientras sea posible, se emplearán procesos alternativos que reemplazan el uso de animales, ya sea parcial o completamente, por ejemplo usando modelos matemáticos, simulaciones computacionales y sistemas biológicos *in vitro*. Donde esto no sea posible, se usará el número mínimo de animales (y se reducirá su sufrimiento) compatible con la posibilidad de lograr los objetivos científicos del estudio.
- c. Los animales que se usen para cualquier procedimiento deberían estar cuidadosamente seleccionados para que sean especies apropiadas.
- d. Se tomarán todas las medidas razonables para asegurar el trato humano de animales, para minimizar su incomodidad, sufrimiento o dolor. Los investigadores deberán asumir que los procedimientos que causan sufrimiento y dolor en humanos tienen efectos similares en los animales. Cualquier procedimiento quirúrgico que pudiera causar cualquier leve dolor o molestia deberá realizarse con anestesia apropiada, técnicas asépticas y con buen cuidado postoperatorio. Los procedimientos no deberán realizarse en animales no anestesiados o paralizados por agentes químicos como relajantes musculares.
- e. Los animales que sufran dolor severo o crónico o molestias que no puedan ser aliviadas, deberán sacrificarse sin dolor, según las reglas internacionales de eutanasia, similares a las directivas de la Oficina

- Central en el Reino Unido, o las líneas directivas del *American Veterinary Association Panel* sobre eutanasia. Los procedimientos dolorosos o la eutanasia no deberán efectuarse en presencia de otros animales.
- f. Las condiciones de vida de animales serán seguras y confortables, estén o no los animales, en ese momento, usándose para un experimento.
 - g. Los cuidados veterinarios para los animales deben estar disponibles en todo momento para que puedan aplicarse oportunamente durante el curso de un experimento.
 - h. Los investigadores y todos los empleados que manipulen y usen animales deben estar apropiadamente capacitados y cualificados, y deben poseer los conocimientos especializados pertinentes para llevar a cabo los procedimientos. La formación debería ser regularmente actualizada.
 - i. Los protocolos implicados en el uso de animales deberían ser objeto de una revisión ética, tanto por parte de instituciones para el uso y cuidado animal, u otras similares, como por científicos apropiadamente capacitados. El método de revisión del protocolo y su resultado debe comunicarse al director de la revista.
 - j. El sexo, especie, raza, procedimientos, analgesia, anestesia, eutanasia, el nivel de dolor y el sufrimiento experimentado, y el número de animales que se utilizaron en cada experimento, debe declararse en el documento o, cuando esto no sea posible, debe proporcionarse a la revista y estar disponible, previa solicitud.
 - k. Se deben utilizar los mismos criterios de valoración para minimizar el sufrimiento que se utilizan en humanos. Estos deben comunicarse por escrito.
1. Las excepciones para cualquiera de los principios anteriormente citados que sean necesarias y la naturaleza de los cambios, debe estar sujeta a la revisión ética.

NORMAS DE PRESENTACIÓN

ASPECTOS TÉCNICOS

El texto debe escribirse en fuente Arial, tamaño 12 puntos, interlineado 1,5 en formato carta. Las páginas deben numerarse consecutivamente en la esquina inferior derecha.

INSTRUCCIONES PARA LA PRESENTACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

Las siguientes características de formato y presentación deben aplicarse al manuscrito antes de enviarlo. El no cumplimiento de éstas puede significar el rechazo del artículo:

1. Los trabajos deben ser inéditos y no estar, al momento del envío, en proceso de evaluación en otra revista, ni estar aceptados para su publicación.
2. La extensión y número de figuras y tablas máximo permitidos se detallan en la Tabla 1.
3. Para la redacción de los trabajos, los autores pueden utilizar como guía los *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*, elaborados por el *International Committee of Medical Journal Editors -ICMJE-*, mejor conocido como el Grupo de Vancouver. Disponible, su última versión, en: http://www.icmje.org/urm_main.html
4. Los trabajos que se envíen a la revista *Hechos Microbiológicos* para su publicación, podrán remitirse en español, portugués o inglés.

Tabla 1. Extensión y número de figuras, tablas y referencias bibliográficas máximos, según el tipo de artículo.

Tipo	Extensión (pág. en MS Word®)	Figuras (máximo)	Tablas (máximo)	Referencias (máximo)
Artículo de investigación original	20	6	3	60
Artículo de revisión	20	6	3	100
Reporte de casos	15	3	2	50
Artículo de reflexión	15	3	2	50
Comunicación breve	10	3	2	30
Artículo de historia	20	3	2	50
Imágenes en Microbiología	5	6	0	10
Cartas al editor	5	0	0	10

5. Los autores pueden sugerir la sección que consideren más apropiada para valorar su artículo, aunque el Comité Editorial no asume el compromiso de atender dicha sugerencia.
6. El artículo debe constar, básicamente, de tres partes: La primera parte empezará con el título del trabajo, nombres y apellidos de cada autor, nombre(s) del(las) institución(s) donde realizó el trabajo, agradecimientos, ayudas o fuentes de financiación total o parcial, conflicto de intereses (o su inexistencia), resumen estructurado y palabras claves. La segunda parte contendrá el cuerpo del artículo, que se dividirá en apartados, de acuerdo con la siguiente estructura:

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Documento que presenta, en detalle, los resultados de una investigación. La estructura debe contener:

- a. Introducción
- b. Objetivos
- c. Materiales y métodos
- d. Resultados
- e. Discusión
- f. Conclusiones

ARTÍCULOS DE REVISIÓN Y REVISIONES SISTEMÁTICAS

Corresponde a una publicación, producto de una investigación bibliográfica extensa y suficiente, acerca de un tema específico de interés para el público objetivo de la revista. Si la revisión se desarrolló con metodología sistemática, podrá seguirse la metodología IMRYD (introducción, metodología, resultados y discusión).

COMUNICACIÓN BREVE

Tienen como objetivo publicar datos de interés sobre un estudio limitado o de un informe de progreso de una investigación científica o tecnológica en desarrollo. Pueden contener los resultados preliminares de una investigación sobre un tema de impacto o actualidad.

- a. Introducción
- b. Objetivos
- c. Materiales y métodos
- d. Resultados
- e. Discusión
- f. Conclusiones

PRESENTACIÓN DE CASOS

Un caso o serie de casos de especial interés, por su baja ocurrencia o por las particularidades del mismo. Ideal-

mente, debe incluir una revisión sistemática comentada de la literatura sobre casos análogos.

- a. Introducción
- b. Objetivos
- c. Descripción del caso o serie de casos
- d. Discusión
- e. Conclusiones

ARTÍCULOS DE REFLEXIÓN

Documento que presenta resultados de investigación desde una perspectiva analítica, interpretativa o crítica del autor, sobre un tema específico, recurriendo a fuentes originales. Esta sección, además de los datos generales (nombre del artículo, nombre del autor, formación académica y filiación institucional), no tiene una estructura rígida, los subtítulos serán escritos a criterio del autor.

ARTÍCULOS DE HISTORIA

En esta sección se publica un breve escrito, por número, donde se destaca algún acontecimiento importante en alguna de las áreas de influencia de la revista. No tiene una estructura rígida de presentación; sin embargo, el director de la revista se reserva el derecho a editar su contenido en acuerdo con el autor.

CARTAS AL EDITOR

En esta sección se aceptan escritos con posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los documentos publicados en la revista, que, a juicio del Comité Editorial, constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia. No debe seguir una estructura rígida, pero debe incluir los datos exactos al cual se refiere quien redacta la carta. Además de sus datos personales, con la formación académica y su filiación institucional.

IMÁGENES EN MICROBIOLOGÍA

Se publicará, en esta sección, imágenes con características de especial interés para el lector. Las imágenes se obtendrán por encargo del Comité Editorial o por selección entre las que se envíen a la revista.

En la tercera parte del artículo se incluirán las tablas, cada una de ellas en una hoja aparte o separada por un salto de página. Cada tabla irá encabezada por su título y finalizará con su pie correspondiente (si existe). Las figuras siempre se presentarán aparte, cada una en un archivo. Las leyendas de las figuras deberán ir al final del texto, después de las referencias.

ESTRUCTURA DEL TEXTO

RESUMEN

Debe tener una extensión de no más de 250 palabras, y estructurarse de acuerdo con el esquema propuesto para cada sección de la revista (introducción, objetivo, materiales y métodos, resultados y conclusiones).

Nota: debe adjuntarse, además del resumen en el idioma original, un resumen en inglés. Cuando el idioma original sea el inglés o el portugués, entonces el resumen alternativo será, necesariamente, en español.

PALABRAS CLAVES

Se incluirán por lo menos seis palabras claves que deben permitir la clasificación e identificación de los contenidos del manuscrito. Se utilizarán preferentemente los términos incluidos en la lista del *Medical Subject Headline de Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) o en los descriptores de las ciencias de la salud (<http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>).

DESARROLLO DEL ARTÍCULO

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Debe exponer los antecedentes y el objetivo del trabajo, así como resumir las razones que han motivado su realización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Debe describir claramente los criterios de selección del material del estudio, pacientes y diseño del mismo. Deben señalarse claramente los métodos de análisis estadístico, así como el poder y los grados de significación.

DESCRIPCIÓN DE UN CASO O SERIE DE CASOS (CUANDO APLIQUE)

Deberán describirse detalladamente los aspectos clínicos y paraclínicos de cada caso. Las referencias a fármacos deben realizarse con los nombres genéricos. Las unidades de parámetros paraclínicos y de laboratorio deben ajustarse a las normas del Sistema Internacional de Unidades.

RESULTADOS

Deben describirse, únicamente, los datos más relevantes y no repetirlos en el texto si ya se han mostrado mediante tablas o figuras.

DISCUSIÓN

No deben aparecer datos que no se hayan descrito en los resultados. Se considera de especial interés la discusión con estudios comparables publicados.

CONCLUSIONES

Se refiere, básicamente, a una serie de anotaciones de los autores, acerca del aporte que hace el artículo al conocimiento científico.

BIBLIOGRAFÍA

Se recomienda la citación de trabajos publicados en los últimos seis años. Artículos anteriores pueden citarse en caso de que no existan artículos más actualizados o que el artículo en cuestión tenga una gran importancia histórica o académica para el desarrollo del escrito.

Las referencias se identificarán en el texto mediante números arábigos en superíndice, alineados con la escritura; por ejemplo, X^{1,3-5}. Se enumerarán correlativamente por orden de aparición en el texto y se describirán en la hoja correspondiente según el formato de referencia adoptado por el *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (<http://www.icmje.org>).

El año de publicación se situará inmediatamente después del título abreviado de la revista. Si una referencia se halla pendiente de publicación deberá describirse como *in press* o *próximo a publicarse*; es responsabilidad de los autores la veracidad de ésta. Los títulos de las revistas se abreviarán según las recomendaciones de la *List of Journals Indexed in Index Medicus* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>).

Ejemplos de referencias bibliográficas se ofrecen al final de esta sección. El número máximo de citas bibliográficas por tipo de artículo, se indica en la Tabla 1.

TABLAS

Se presentarán en formato de texto, nunca como una figura incrustada en el documento. Cada tabla o conjunto de tablas se presentará(n) separadamente en un archivo independiente en formato Word o Excel, indicando claramente su numeración (en números arábigos), correlativa según la aparición en el texto. El pie de tabla detallará el significado de las abreviaturas que aparezcan en ella, así como las llamadas, señaladas correlativamente con una letra en superíndice (p. ej., ^a, ^b). Si el autor propone una tabla obtenida de otra publicación debe citar la fuente de la misma en el lugar que corresponde al final del artículo, y al pie de la tabla, escribir: “tomado de: ⁴” o “tomado y modificado de: ⁴”, según sea el caso.

FIGURAS

Para las fotografías (digitalizadas) los mejores formatos son TIFF o JPEG, el autor debe garantizar una buena resolución para el proceso de impresión. Independientemente del programa con que se hayan elaborado, las figuras (especialmente gráficos) deben permitir su posterior tratamiento y manipulación informática por parte de la editorial, por lo que nunca deberán incrustarse en un documento sin el vínculo con el programa que las ha creado. Cada figura se presentará separadamente en un archivo independiente.

Todas las figuras deben estar, en lo posible, en color, su publicación con este atributo es a criterio del comité editorial. Las letras, números y símbolos que aparezcan en las figuras deben ser claros y uniformes, y de tamaño suficiente para que la reducción de la figura no conlleve su ilegibilidad. Las figuras se enumerarán correlativamente en cifras arábigas según la aparición en el texto. La(s) leyenda(s) de la(s) figura(s) se incluirán en el texto del manuscrito al final de las referencias, nunca formando parte de la misma figura.

ABREVIATURAS

Deben usarse solamente abreviaturas estándares, ya que el uso de abreviaturas que no cumplan este requisito puede resultar confuso para el lector. Debe evitarse el uso de abreviaturas en el título del trabajo y minimizar al máximo su aparición en el resumen.

Las abreviaturas utilizadas por el autor deben definirse y describirse en el texto la primera vez que se mencionen.

EJEMPLOS DE REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ejemplos de referencias bibliográficas, según *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*.

ARTÍCULO DE REVISTA

Autor(es). Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año mes día; volumen(número): página inicial-final del artículo.

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002 Jul 25; 347(4): 284-7.

Si los autores son más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la abreviatura *et al.*

ORGANIZACIÓN O EQUIPO COMO AUTOR

Nombre de la organización o equipo. Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año; volumen(número): página inicial-final del artículo.

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension*. 2002; 40(5): 679-86.

LIBRO

Autor(es). Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año.

Ríos L, Mesa A. Introducción al pensamiento científico en Microbiología. 1ª ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2009.

CAPÍTULO DE LIBRO

Autor(es) del capítulo. Título del capítulo. En: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Página inicial-final del capítulo.

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

PÁGINA EN LA INTERNET

Autor(es). Título [Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [fecha de actualización; fecha de acceso]. Disponible en: dirección electrónica.

Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2008 May 16; cited 2008 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org>

CÓMO ENVIAR UN ARTÍCULO A LA REVISTA HECHOS MICROBIOLÓGICOS

Para el envío de los artículos a La revista Hechos Microbiológicos, puede enviar los archivos al correo electrónico: revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co

PROCESO DE EVALUACIÓN POR PARES ACADÉMICOS

La revista Hechos Microbiológicos acepta artículos científicos en español, inglés o portugués, relacionados con

la práctica y los procesos de la Microbiología, el Bioanálisis y otras disciplinas afines con las áreas de la salud, la industria, el ambiente y la educación.

Los artículos enviados a la revista se someten a un proceso de evaluación, como sigue:

EVALUACIÓN EDITORIAL

Se realiza, inicialmente, un proceso de evaluación interna (o editorial). El Editor podrá rechazar un artículo sin someterlo a revisión por pares en los siguientes casos:

- a. Otro artículo similar se publicó recientemente en la revista *Hechos Microbiológicos*.
- b. La temática está fuera del alcance de las políticas editoriales de la revista.
- c. El artículo no aporta información sustancial al público objetivo de la revista.
- d. Hay carencias notables en la validez científica.
- e. El equipo de autores no adaptó su trabajo a las normas de presentación.

ELECCIÓN DE LOS PARES ACADÉMICOS

Si el artículo supera la evaluación editorial, el Editor identificará a potenciales pares académicos (idealmente dos, al menos uno) para evaluar el artículo.

Aunque los miembros del Equipo Editorial pueden participar como evaluadores, idealmente asignarán pares académicos por recomendación de los miembros de los comités o mediante búsquedas bibliográficas, que pueden hacerse, incluso, desde la propia bibliografía del artículo enviado para evaluación.

RECOMENDACIÓN DEL PAR ACADÉMICO

El par académico dispondrá de un formato estándar para evaluar el artículo, el cual tiene tres partes: *la primera*, que investiga sobre las características del artículo y la congruencia del mismo; *la segunda*, que permite redactar observaciones abiertas; y *la tercera*, donde el par académico señala su recomendación en alguno de los siguientes términos:

- a. Aceptar sin modificaciones.
- b. Aceptar con modificaciones menores que puede realizar el Editor de la revista; por ejemplo, errores

de ortografía o tipografía, y errores mínimos de redacción.

- c. Devolver el artículo a los autores para correcciones mayores, con la posibilidad de someterlo nuevamente a evaluación. En este caso, se le envía al autor un listado de recomendaciones de los pares.
- d. Rechazar definitivamente el artículo, sin la posibilidad de reconsiderar la decisión. En este caso, no se envían recomendaciones al autor, ya que los artículos calificados así, corresponden, generalmente, a escritos con problemas mayores de validez científica.

DECISIÓN DEL EQUIPO EDITORIAL

Cuando por la especificidad del tema sólo se logró convocar un par académico, la recomendación de éste será determinante para la aceptación o el rechazo del artículo. En caso de que existan dos pares académicos para un artículo, se realizará el proceso en que ambos estén de acuerdo. No obstante, si existe alguna diferencia entre los conceptos de los pares, se buscará un tercer evaluador que dirima el asunto.

La revista *Hechos Microbiológicos* intentará que los pares académicos no se conozcan entre sí. Además, vigilará que el documento que se envíe para evaluación no tenga los datos personales de los autores.

Esto favorece la objetividad en la recomendación del evaluador.

Una vez el Editor tiene los elementos necesarios para tomar la decisión, establece un juicio resolutorio apoyado en el Comité Editorial, cuando así se requiera, y les comunica a los autores la decisión editorial.

TIEMPO PARA LA DECISIÓN

A partir del momento en el cual el artículo se somete para evaluación, la respuesta sobre su aceptación o rechazo nunca será superior a tres (3) meses, a menos que la especificidad del tema del artículo dificulte la consecución de un par académico pertinente. En este último caso, el autor será informado por escrito.

ORDEN DE PUBLICACIÓN

Los artículos aceptados se incluyen en una lista de espera y se publican en orden estricto, en cada número.

Instructions for Authors

Editorial Board

EDITORIAL POLICY

MISSION

Disseminate scientific knowledge about practices and processes in Microbiology, Bioanalysis and other disciplines related with health, industry, environmental and education areas. Support knowledge and experience exchange between disciplines whose scope covers basic and applied research in Colombia and other countries.

VISION

The scientific journal *Hechos Microbiológicos* will be classified by Colciencias and indexed under Publindex category A1 in the medium term. In addition, it will be acknowledged as a highly reliable periodic publication due to its contents and relevance in the field. This journal will assist in the dissemination of advances in scientific research carried out in Colombia and abroad.

TARGET AUDIENCE

This publication is aimed at all professionals interested in Clinical, Environmental and Industrial Microbiology, together with their applications, as well as Bioanalysis and other laboratory disciplines. In addition, this publication is also a tool for undergraduate and postgraduate students whose studies involve, directly or indirectly, concepts related with Microbiology and Laboratory in all their fields of competence.

PUBLICATION FREQUENCY

Journal sections will be published collectively in their print and digital version, as part of an issue with its own Table of Contents, every six months.

OPEN ACCESS POLICY TO DIGITAL VERSION

In accordance with *Budapest Open Access Initiative criteria*, *Hechos Microbiológicos* authorizes reading, printing, downloading, sharing and reproduction of the contents included in its digital version, as long as the source is adequately referenced.

STATEMENT OF ETHICAL ANIMAL TREATMENT GUIDELINES

Care and management of experimental animals should comply with all regulations, guidelines and national and international policies related with animal welfare, as well

as with a statement emitted by an Institutional Ethics Committee, containing the following criteria:

- a. Animal trials in the experimental model must be aimed at improving human or animal health, common benefit of society and advance of fundamental knowledge. Approval to perform certain part of a research depends of the results of a cost-benefit analysis, whose conclusion should be sent to the Editor.
- b. As far as possible, alternative processes to the use of animals, such as mathematical models, computer simulations or biological systems *in vitro* will be employed, whether in part or completely. In cases where these are not practicable, the minimum number of animals necessary to reach the objectives of the study will be employed, while all efforts to reduce their suffering will also be made.
- c. Animals employed for any procedure must be carefully selected to ensure their belonging to the appropriate species.
- d. All possible measures to ensure animal welfare and reduction of suffering, pain or discomfort will be implemented. Researchers must be aware that any kind of procedure that inflicts pain and suffering on humans will also do so in animals. Any procedure that could cause even mild discomfort should be performed under anesthesia, aseptic measures and adequate postoperative care. Procedures must not be carried out in animals without anesthesia or paralyzed by chemical agents such as muscle relaxants.
- e. Animals in severe or chronic pain that cannot be relieved must be put to sleep painlessly, according to international provision regarding euthanasia, such as the United Kingdom Central Office or the American Veterinary Association Panel on Euthanasia guidelines. Other animals must not be present while painful procedures or euthanasia is being performed.
- f. Animal life conditions will be safe and comfortable at all times, whether or not animals are being used for an experiment at a certain moment.
- g. Veterinary care must be available at all times in

such a way it can be provided in the course of the experiment.

- h. Only properly qualified and trained staff, who possess relevant specialized knowledge to carry out the different procedures, must be in charge of use and manipulation of animals. Qualifications should be regularly updated.
- i. Protocols for the use of animals should be subject to ethical revision, both by animal use and care institutions -or likewise- and by properly trained scientists. Both protocol revision methods and its result must be communicated to the director of the journal.
- j. Gender, species, breed, procedures, analgesia, anesthesia, euthanasia, pain and suffering level and the number of animals used in each experiment must be submitted and available to the manuscript upon request.
- k. Same evaluation criteria employed to minimize human suffering must be employed and communicated by written means.
- l. Any necessary exception to the criteria above, as well as the justification for it must be subject to ethical revision.

Lack of any of these characteristics may mean article rejection:

1. All articles should be unpublished and should not be under process of evaluation or accepted for publication in other journal.
2. Extension and maximum number of figures and tables allowed are detailed in Table 1.
3. For article writing, authors may use the *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*, established by the *International Committee of Medical Journal Editors -ICMJE-*, also known as the Vancouver Group, available in its latest version at http://www.icmje.org/urm_main.html
4. Articles submitted may be written in Spanish, English or Portuguese.
5. Authors may suggest the section they consider adequate to their article. However, the Editorial Board does not commit itself to attend such recommendation.
6. The article should basically comprise three parts: The first part should contain the title of the article, name and last name of each one of the authors, name(s) of the institution(s) where research or investigation was carried out, acknowledgements, support or sources involved in the total or partial financing of the research, conflict of interest - or its absence -, abstract and keywords. The second part should contain the body of the article, which will be distributed in the following sections:

SUBMISSION GUIDELINES

FORMAT ASPECTS

Articles should be written using Arial Font size 12 pt, 1.5 line spacing, and letter size pages. Page numbers should be located in the bottom right corner.

ARTICLE SUBMISSION INSTRUCTIONS

The manuscript should include the following presentation and format requirements before its submission.

ORIGINAL RESEARCH ARTICLES

Document containing detailed research results. It should be arranged as follows:

- a. Introduction
- b. Objectives

Table 1. Maximum extension and number of figures, tables and bibliographic references, according to article type.

Type	Extension (MS Word® pages)	Figures (maximum)	Tables (maximum)	References (maximum)
Original Research Article	20	6	3	60
Review Article	20	6	3	100
Case Report	15	3	2	50
Reflection Article	15	3	2	50
Short Communication	10	3	2	30
History Article	20	3	2	50
Images in Microbiology	5	6	0	10
Letters to the Editor	5	0	0	10

- c. Materials and Methods
- d. Results
- e. Discussion
- f. Conclusions

REVIEW ARTICLES AND SYSTEMATIC REVIEWS

These are publications originated in an extensive and significant bibliographic revision about a specific topic of interest for the target audience. If the review is carried out using a systematic methodology, the IMRD (introduction, methodology, results and discussion) methodology may be employed.

SHORT COMMUNICATIONS

Their aim is to publish relevant data about a limited study or a report on scientific or technical research under progress. It may contain preliminary research results about a topic of current importance and relevance.

- a. Introduction
- b. Objectives
- c. Materials and Methods
- d. Results
- e. Discussion
- f. Conclusions

CASE REPORTS

These include a case or case series of particular interest due to its scarce occurrence or singularities. Ideally, include a commented systematic review of the literature on similar cases.

- a. Introduction
- b. Objectives
- c. Description of the case or case series
- d. Discussion
- e. Conclusions

REFLECTION ARTICLES

Documents presenting research results from the author's analytical, interpretative or critical perspective on a specific topic, based on original sources. These need not be prepared in accordance to any standard presentation guidelines and the subtitles are left to author's criteria. However, general data (name of the article, name of the author, academic background and institutional affiliation) must be included in all cases.

HISTORY ARTICLES

This section contains a brief written piece, per issue, where some major event in any of the interest areas of

the journal is highlighted. Articles need not be prepared following any standard presentation guidelines. However, the director reserves the right to edit the content as agreed with the author.

LETTERS TO THE EDITOR

This section contains critical, analytic or interpretative articles on the documents published in the magazine, which from the perspective of the Editorial Board, are considered of relevance to the discussion of the topic by the referenced scientific community. There are not standard presentation guidelines, but should include exact reference to the article or topic appointed. In addition, the letter should also include personal details, including academic background and institutional affiliation.

IMAGES IN MICROBIOLOGY

This section contains images with features of special interest for the reader. Images will be obtained upon request by the Editorial Board or by selection among the ones sent to the journal.

The third part of the article will include tables, each located on a separate sheet or after a page break. Corresponding headers and footers -if any- should be included. The figure caption should be located at the end of the document, after the references.

TEXT ARRANGEMENT

ABSTRACT

It may not exceed 250 words and should be structured in accordance to the organization proposed for each section of the journal (introduction, objective, materials and methods, results and conclusions).

Note: An English version should be forwarded together with the abstract in its original language. When the original language is English or Portuguese, the additional version must be written in Spanish.

KEYWORDS

At least six keywords to enable manuscripts content classification and identification should be included. Terms included in the *Medical Subject Headings of Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) or in the *Health Sciences Descriptors* (<http://decs.bvs.br/E/homepage.htm>) should be used in preference.

ARTICLE PREPARATION

INTRODUCTION AND MAIN OBJECTIVE

Presents previous research on the topic and the objective of the work referred in the article, as well as a summary of the motivation that originated its achievement.

MATERIALS AND METHODS

All criteria related to selection of material, patients and design of study should be clearly described. All statistical analysis methods, as well as power and significance levels should also be referred.

CASE OR CASE SERIES DESCRIPTION (AS APPLICABLE)

Clinical and paraclinical aspects of each case should be described in detail. Drugs should be referenced using their generic names. Units of paraclinical and laboratory parameters should be stated in accordance to the International Unit System.

RESULTS

Only the most relevant data should be described and repetition should be avoided if information has already been shown in tables or figures.

DISCUSSION

All data must have been described in the results. Discussion regarding comparable published studies is considered of special interest.

CONCLUSIONS

Basically, consist of a series of remarks, by the author, about the contribution the article makes to scientific knowledge.

REFERENCES

Citation of works published within a period of six years before current date is recommended. Articles published previously to such time period may be referred in on the grounds of historic and academic importance for the elaboration of the manuscript or lack of more recent articles. References will be numbered in correspondence with their order of appearance in the text, as a superscript, in Arabic numbers, aligned with writing (e.g. X^{1, 3-5}). These will be described in the corresponding page in accordance to the format for references adopted by the *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (<http://www.icmje.org>).

The year of publication should appear next to the journal short title. If publication of a reference is still pending should be described as *in press* or *forthcoming publi-*

cation; verification of authenticity lies with the author. Journal titles will be abbreviated in accordance to the recommendation of the *List of Journals Indexed in Index Medicus* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>).

Examples of bibliographic references can be found at the end of this section. The maximum number of citations allowed for each type of article is indicated in Table 1.

TABLES

These should be presented in text format, never inserted in the document. Each table or group of tables(n) should be submitted in a separate Word or Excel file, numbered in correspondence with their order of appearance in the text. The meaning of the abbreviations in the table, as well as their marks, presented as a superscript, in alphabetical characters, also correlative to their order of appearance in the text (e.g. ^a, ^b), should be located in the table footer. In cases where the author uses a table from another publication, such source must be referred at the end of the article in the corresponding section, and *taken from*: " or *taken and modified from*: " should be written in the footer, accordingly.

FIGURES

For photographs (digitized), TIFF or JPEG are the best format choices. The author should also ensure adequate image resolution for printing process. Regardless of the program used for its elaboration, all figures -particularly graphs- should allow the editors its later computer processing and manipulation, which is why these should never be inserted in a document without the link to the program employed for its creation. Each figure should be submitted in a separate file.

As possible, all figures should be in color, although the publication of such feature is left to the criteria of the Editorial Board. Letters, numbers and symbols in the figures should be clear and uniform, sufficiently large to avoid illegibility caused by image reduction. Figures should be numbered in correspondence with their order of appearance in the text, with Arabic numbers. The figure(s) caption(s) should never be inserted as part of the image and should be included in the manuscript at the end of the references.

ABBREVIATIONS

Only standard abbreviations should be used, since the use of expressions that do not comply with such requirement could lead to confusion in the reader. Abbrevia-

tions should be avoided in the title of the article and minimized as much as possible in the abstract.

Abbreviations employed by the author should be defined and described in the text after its first mention.

REFERENCE EXAMPLE

Sample bibliographic references, in accordance with *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*:

JOURNAL ARTICLE

Author(s). Title of the Article. International journal short title. Year Month Day; volume (issue): first page-final page of the article.

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002 Jul 25; 347(4): 284-7.

If authors are more than six, only the first six are mentioned followed by the abbreviation *et al*.

TEAM OR ORGANIZATION AS AUTHOR

Name of the team or organization. Title of the Article. International journal short title. Year; volumen (issue): first page-final page of the article.

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension*. 2002; 40(5): 679-86.

BOOK

Author(s). Title of the book. Issue. Publishing place: Publishing house; year.

Ríos L, Mesa A. *Introducción al pensamiento científico en Microbiología*. 1ª ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2009.

CHAPTER IN A BOOK

Author (s) of the chapter. Title of the chapter. In: Book Director/Coordinator/Editor. Title of the book. Issue. Publishing place: Publishing house; year. first page-final page of the chapter.

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

ARTICLE ON WEB

Author(s). Title [Internet]. Publishing place: Publisher; Publishing date [update date; access date]. Available in: web link [Cancer-Pain.org](http://www.cancer-pain.org) [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2008

May 16; cited 2008 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org>

SENDING THE MANUSCRIPT TO THE JOURNAL

You may send your articles to *Hechos Microbiológicos* journal by e-mail to: revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co

PEER REVIEW PROCESS

Hechos Microbiológicos journal accepts scientific articles in Spanish, English or Portuguese which are related with practices and processes in Microbiology, Bioanalysis and other disciplines related with health, industry, environmental and education areas.

Articles submitted are evaluated as follows:

EDITORIAL EVALUATION

Initially, an internal process of evaluation (or editorial) is carried out. The Editor may reject an article without forwarding it to peer reviewers in one of the following cases:

- A similar article was recently published in *Hechos Microbiológicos* journal.
- The topic is not included in the editorial policy of the journal.
- The article does not represent a significant contribution to the target audience.
- There is remarkable lack of scientific validity.
- The work does not comply with submission guidelines.

SELECTION OF PEER REVIEWERS

After successful editorial evaluation, the Editor will identify potential academic peers (ideally two, at least one) to provide feedback on the article.

Even though the members of the Editorial Team may participate as reviewers, ideally, academic or professional researchers working in the field will be appointed by recommendation of the board members or through bibliographic search that could even originate in the references included in the article itself.

RECOMMENDATIONS BY PEER REVIEWERS

The reviewer will be provided with a format containing three parts: 1) about the characteristics of the article and its coherence; 2) for the reviewers to make open remarks

3) where the peer reviewer will make recommendations in the following terms:

- a. Accept the article without modifications.
- b. Accept the article with minor modifications to be done by the Editor of the journal; for example, spelling mistakes or typographical errors.
- c. Return the article to the authors for major corrections to be made, with an open possibility to resubmit it for evaluation. In such case, a list with reviewers' comments is sent to the authors.
- d. Definitive rejection of the article, without opportunity to reconsider. In such case, recommendations will not be sent to the author, since articles thus classified generally display scientific validity issues.

EDITORIAL BOARD DECISION

When only one reviewer is appointed due to topic specificity, their recommendation will be considered essential for article acceptance or rejection.

In the cases where there are two peer reviewers per article, opinions by consensus will be taken into account.

However, if there is any difference among their concepts, a third reviewer will be appointed to settle the issue.

Hechos Microbiológicos will make all effort to prevent reviewers from meeting each other. In addition, will ensure the documents sent to evaluation do not contain authors' personal details. Such measures aim at securing objective recommendations.

When necessary, once the Editor is in possession of all elements necessary to arrive at a conclusion, puts them forward for consideration of the Editorial Board to make a final decision, which is then communicated to the authors.

DECISION TIME

From article submission for evaluation, response about its acceptance or rejection will never take longer than three (3) months, unless selection of peer reviewers is hindered by topic specificity. In such case, the author will be informed in writing.

PUBLICATION ORDER

Accepted articles are included in a waiting list and are published in strict order, by issue.

Revista **HECHOS**
Microbiológicos

