



**Universidad Politécnica de Nicaragua**

Escuela de Ingeniería- UPOLI

Ingeniería en Biotecnología Industrial

**Importancia de la búsqueda de bacterias enteropatógenas en  
biofertilizantes líquidos producidos artesanalmente con estiércol bovino a  
través de una revisión bibliográfica.**

Monografía para optar al Título de Ingeniería en Biotecnología Industrial

Autor: **Br. Vielka Sarahí Juárez Quiroz.**

Tutor: **Lic. Lilliam Lizeth Muñoz Solano.**

Octubre, 2021

“Es siempre recomendable percibir claramente nuestra ignorancia, sabernos ignorantes es el primer paso a la sabiduría personal”.

**Charles Darwin.**

## DEDICATORIA

Dedico la presente tesis primeramente a Dios, por darme vida y la oportunidad de prepararme, Él me ha fortalecido a lo largo del proceso y de mi vida en general, durante este proceso su palabra ha sido mi guía con este versículo que ha resonado en mi corazón, en la culminación de mis estudios; Colosenses 2:23 Todo lo que hagan, háganlo de buena gana, como si estuvieran sirviendo al Señor y no a los hombres.

A mis padres Elio Juarez y Karla Quiroz por confiar en mí y saber que aun cuando muchas veces la toalla estaba por caer de mis brazos, ellos estaban ahí para afirmarme y ver lo que aun ante mis ojos no era visible, aun para corregirme cuando mi actitud no era la mejor y por sus consejos.

A mi hermana Dayana que ha sido un ejemplo para mí, porque me ha enseñado con su ejemplo ha no acobardarme más bien a ser valiente, a seguir mis sueños y luchar por lo que quiero, porque también me ha hecho ver cuando hago las cosas mal y me ha apoyado en cada área de mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Señor la fuente de toda sabiduría por llegar hasta este punto importante para mi vida.

A la Licenciada Lilliam Muñoz Tutora de Monografía, por la atención que me ha brindado durante mis dudas, el tiempo que ha dedicado para corregir cada correo que le enviaba y también por creer en mí, aun cuando decidí culminar mis estudios de forma individual.

A Erick Baltodano asesor metodológico, por estar conmigo desde el inicio de este proceso, por ayudarme a que mis ideas fuesen claras y saber cómo ejecutar cada requisito o formato de monografía y por las llamadas constantes para saber como iba durante las correcciones.

A mis Pastores de jóvenes Ana Muñoz de Torres y Alberto Torres, de iglesia Elevate porque ellos me vieron llorar y frustrarme durante los años que he estudiado, y aun mas durante estos meses de preparación para mi tesis, no solo me han dado palabras de afirmación, si no que me han aconsejado con tanto amor, han dedicado tanto tiempo en mi vida que yo se y confió en que el día de hoy ven esos frutos. Así que no solo les quiero agradecer por los consejos, si no por realmente ser parte esencial en mi vida personal y espiritual.

A mi familia en general tíos o primos cercanos, pero en especial a mi abuela o como yo le digo Mamá Nora por ser el pilar de mi familia y la persona que nos guio a servir al Señor y quien constantemente ha estado pendiente de mis estudios.

## TABLA DE CONTENIDO

Dedicatoria .....	3
Agradecimientos .....	4
Resumen .....	7
Abstract .....	7
Introducción .....	8
Antecedentes .....	10
Objetivos .....	12
Objetivo General: .....	12
Objetivos Específicos:.....	12
Justificación.....	13
Planteamiento del problema .....	15
Marco teórico .....	16
I.    Bioinsumos agrícolas .....	16
Fertilizantes orgánicos.....	16
II.   Microorganismos.....	17
III.  Bacterias.....	19
Morfología Bacteriana.....	19
Microscopia Bacteriana.....	19
Macroscópica .....	19
IV.  Microorganismo benéficos o EM.....	20
V.   Microorganismos enteropatógenos .....	21
<i>Escherichia coli</i> .....	22
Enterobacterias.....	22
Shiguella.....	23
Salmonella.....	24
VI.  Biofertilizantes en la salud pública y el medio ambiente .....	25
VII. Método y técnica para la identificación de bacterias enteropatógenos. ....	27
Galerías o Batería de pruebas Api20E .....	28
VIII. metodológiA.....	30
Enfoque: Documental interpretativo. ....	30
Métodos y técnicas de recolección de datos.....	30
IX.  Resultados .....	31
INCIDENCIA de las bacterias enteropatógenos en biofertilizante líquidos.....	32

Métodos y técnicas para la identificación de las bacterias enteropatógenas. ....	34
Métodos moleculares para la detección e identificación de patógenos. ....	36
Ventajas de las técnicas moleculares .....	38
Inferencias que pueden ocasionar la presencia de bacterias enteropatógenos en la salud y medio ambiente. ....	39
Incidencias ambientales.....	40
X. Conclusiones .....	41
XI. Recomendaciones.....	44
XII. Anexos.....	45
Fichas Bibliográficas.....	45
Bibliografía .....	49
Referencias.....	52

### **Índice de Gráficos**

Gráfico 1. Evolución del mundo vivo basado en la estructura del ARN de los ribosomas. Frioni, 2005.....	18
---	----

### **Índice de Ilustraciones**

Ilustración 1. Etapas del proceso de PCR.....	38
Ilustración 2. Ventajas y desventajas de las técnicas de PCR. González, 2014. ....	39

### **Índice de Tablas**

Tabla 1. Tiempos de sobrevivencia de los patógenos en el suelo y sobre la superficie de las plantas. Gómez, 2004. ....	26
Tabla 2. Dosis mínimas infecciosas de los patógenos presentes en el compost. Gonzalez, 2004. ....	27
Tabla 3. Presupuesto de prueba API20E en un laboratorio. Fuente Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas. Nancy, 2020. ....	36

## **RESUMEN**

En el presente trabajo monográfico se realizó una descripción sobre la importancia de bacterias enteropatógenos en los biofertilizantes que se producen artesanalmente con estiércol de animales, en el que no solo se aborda la función de ellos, sino también el tipo de ambiente en que se desarrollan, la capacidad de sobrevivencia en los diferentes medios que lo transporten ya sea en humanos o alimentos. El enfoque de este trabajo es documental interpretativo, en el cual se ejecutó el método llamado arqueología bibliográfica para extraer las teorías y flujo de investigaciones previas a esta, plasmando la fuente de dicha información. Las diferentes investigaciones realizadas anteriormente concuerdan en que los microorganismos bacterianos de carácter enteropatógenos, son los principales responsables de las ETA (enfermedades transmitidas por alimentos) constituyendo uno de los problemas sanitarios más comunes que afectan la salud de las personas en el mundo.

## **ABSTRACT**

In this monographic work, a description was made of the importance of enteropathogenic bacteria in biofertilizers that are produced by hand with animal manure, in which not only their function is addressed, but also the type of environment in which they develop, the ability to survive in the different media that transport it, whether in humans or food. The focus of this work is interpretive documentary, in which the method called bibliographic archeology was executed to extract the theories and flow of investigations prior to this, reflecting the source of said information. The different investigations carried out previously agree that the bacterial microorganisms of an enteropathogenic nature are the main responsible for the ETA (foodborne diseases) constituting one of the most common health problems that affect the health of people in the world.

## INTRODUCCIÓN

La agricultura del mañana, desafiada por la creciente demanda mundial de alimentos, la escasez de tierras cultivables y los recursos, junto con las múltiples presiones ambientales, debe gestionarse de manera inteligente mediante un enfoque moderno, sostenible y ecoeficiente y respetuosa con el medio ambiente (Mendoza, 2019).

Nicaragua enfrenta el reto y la disyuntiva de producir suficientes alimentos para una población en crecimiento, pero al mismo tiempo implementar prácticas agrícolas sostenibles. En las últimas seis décadas, la aplicación de fertilizantes químicos ha desempeñado un papel crucial a nivel mundial para aumentar el rendimiento y el mantenimiento de los cultivos, así como el suministro adecuado de alimentos (Chaudhary, 2017). Los fertilizantes químicos, han sido reportados como causantes de diversos problemas, incluidos la contaminación atmosférica y subterránea, la acidificación del suelo, la eutrofización, la disminución de la fertilidad, la pérdida de biodiversidad y el alto consumo de energía en los procesos de síntesis. En este contexto, se han realizado grandes esfuerzos para reemplazar los fertilizantes químicos por biofertilizantes amigables con el medio ambiente. (Mendoza, 2019).

El objetivo de los biofertilizantes minerales es mejorar la eficiencia ejecutando como técnica el aprovechamiento de estrategias microbianas, que permiten crear ensayos prácticos y el desarrollo de formulaciones que demuestren su eficiencia de manera constante (Bargaz, 2018). Las tecnologías basadas en microorganismos o el campo llamado “Inoculantes microbianos”, tiene un desafío que es prosperar o promover el crecimiento vegetal haciendo uso de un consorcio de microorganismos eficientes con variabilidad de cepas (Mendoza, 2019).

Por lo tanto, la disponibilidad de biofertilizantes de alta calidad debe ser una prioridad, especialmente en países donde la producción agrícola juega un papel clave en la economía y la seguridad alimentaria (Lesueur, 2016).

La presente investigación está enfocada en la importancia de la búsqueda de bacterias enteropatógenas en biofertilizantes líquidos que se producen artesanalmente con estiércol bovino a través del método llamado revisión bibliográfica, la finalidad de dicho trabajo es



dar la pauta hacia un futuro estudio científico en el cual se brinden los datos cuantitativos necesarios para determinar la calidad y seguridad de los biofertilizantes a un nivel de producto final, y poder dar respuesta a las incógnitas aun no objetadas.

## ANTECEDENTES

Los biofertilizantes son una de las herramientas más importantes en la agricultura moderna y la agroalimentación, así como una fuerza económica impulsora en el futuro cercano. Además, los fertilizantes biológicos también desempeñan un papel importante como métodos prometedores para aumentar el uso eficiente de los recursos hídricos y terrestres, reduciendo la contaminación ambiental.

La explotación de microorganismos como biofertilizantes se considera en cierta medida una alternativa a los fertilizantes químicos en el sector agrícola debido a su gran potencial para mejorar la producción de cultivos y la seguridad alimentaria (Mahanty, 2017). Los biofertilizantes, pueden estar formados por cepas individuales o en consorcios microbianos. Los microorganismos que lo conforman son beneficiosos tanto para la planta como para el suelo, se pueden aplicar en la semilla, la raíz o el suelo. Su principal objetivo es movilizar la disponibilidad de nutrientes con base a su actividad biológica, como: la fijación de nitrógeno y la solubilización del fósforo; también ayudan a recuperar el microbiota perdido y a su vez, mejorar la salud del suelo en general. (Afanador, 2017 como se citó (Mendoza, 2019). Por lo tanto, los enfoques biotecnológicos amigables con el medio ambiente pueden ofrecer alternativas a los productos químicos fertilizantes (Ghamry, 2018).

Las bioformulaciones para la promoción del crecimiento de las plantas continúan inspirando la investigación y el desarrollo en muchos campos (Arora, 2010). A nivel mundial se han realizado numerosas investigaciones que intentan caracterizar los bioinsumos, así como demostrar el potencial biofertilizantes de muchos microorganismos solos o en consorcios, entre estas podemos citar:

(Hermann, 2015), caracterizó el contenido microbiano de 65 biofertilizantes comerciales fabricados en los Estados Unidos, el Reino Unido, Australia, Sudáfrica, Tailandia, Kenia y Argentina. Los resultados mostraron que el 64% de los productos contenía una o varias cepas de contaminantes, mientras que solo el 36% de los productos podían considerarse puros. Los inoculantes rizobiales generalmente fueron de mejor calidad que los otros productos basados en PGPR, y el 40% de los biofertilizantes probados no contenían ninguna de las cepas declaradas, sino solo contaminantes, entre los cuales se encontraron patógenos para el humano como *Comamonas testosteroni* o *Serratia marcescens*. Estos

resultados resaltan la necesidad de sistemas de control de calidad, para garantizar que los inoculantes eficaces lleguen a usuarios finales.

El mercado de biofertilizantes se valoró en USD 946.6 millones en 2015; se proyecta que crezca a una tasa compuesta anual de 14.08% de 2016 a 2022 (Mendoza, 2019).

En el documento de estrategia nacional para el fomento de la producción orgánica en Nicaragua, 2005. Se expone que en el país, existen serias limitaciones en la oferta y desarrollo de bienes y servicios orientados a la producción orgánica, uno de los casos particulares son los bioinsumos (biofertilizantes y biocontroladores de plagas) producidos a nivel local, la mayoría de estos productos poseen un bajo nivel tecnológico, por lo que se desconoce las alternativas de biocontrol (parasitoides, presencia del tipo de microorganismos, otros), no se tiene estudios del espectro de funcionamiento de los mismos. Sumado a esto, las instituciones públicas que deberían de regular este tipo de productos, desconocen el tema, por lo que estos bioinsumos no cuentan con certificación, ni están registrados según lo indican las regulaciones para la certificación orgánica. (Mendoza, 2019).

## OBJETIVOS

### **Objetivo General:**

Explorar a través de la revisión bibliográfica la importancia de las bacterias enteropatógenas en biofertilizantes que se producen artesanalmente con estiércol de animales.

### **Objetivos Específicos:**

1. Contextualizar la incidencia de las bacterias enteropatógenos presentes en biofertilizante líquidos producidos artesanalmente con estiércol de animales.
2. Describir los métodos y técnicas que se utilizan para la identificación de las bacterias enteropatógenos en biofertilizante líquidos producidos artesanalmente con estiércol de animales.
3. Instruir las inferencias que pueden ocasionar la presencia de bacterias enteropatógenos en los biofertilizantes líquidos producidos artesanalmente con estiércol de animales en la salud y el medio ambiente.

## JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el mundo hay una tendencia a la producción y consumo de productos alimenticios, obtenidos sin el uso de insecticidas y fertilizantes sintéticos, una de las formas es con el uso de biofertilizantes líquidos. (Ribera, 2011).

Un fertilizante foliar (líquido) de origen orgánico, es producto de la descomposición anaeróbica de los desechos orgánicos y sustratos de plantas y estiércol fresco de animales (Vacuno, Porcino, Ovino, Gallinas, Cuy, etc.). Que se obtienen por medio de la filtración del bioabono y que se aplica a los cultivos para mejorar su crecimiento y desarrollo, estimulando una mayor resistencia a plagas y enfermedades. (Ribera, 2011).

Las investigaciones realizadas sobre nutrientes foliares han demostrado la factibilidad de alimentar a las plantas a través de vía foliar con elementos mayores como: Nitrato (N), Potasio (K) y Fosforo (P), estas investigaciones reconocen que la nutrición foliar es solo un complemento de nutrientes y que en ningún caso substituye la fertilización al suelo, esto se debe a que las dosis de aplicación son muy pequeñas, en relación con los niveles de fertilización utilizados para los cultivos con el objetivo de alcanzar altos niveles de productividad. (Informacion, 2019).

En Nicaragua la economía depende principalmente de la extracción o uso de recursos naturales (caficultura, ganadería, agricultura, aprovechamiento forestal, pesca, minería, etc.). La presión por incrementar la producción ha impulsado la deforestación, con el fin de disponer de más terreno para uso agropecuario. El país tiene uno de los porcentajes más elevados de suelo para uso agrícola de Centroamérica, y los productos alimenticios constituyen ochenta por ciento de las exportaciones totales de Nicaragua. La agricultura orgánica privilegia al suelo aumentando su fertilidad natural y fortaleciendo el complejo biológico. ((FOA), 2015).

El ministerio de salud de Nicaragua en la dirección de regulación de alimentos expresa que: es importante promover el cuidado del cultivo y su manipulación para brindar seguridad al mismo, la aplicación de prácticas adecuadas de higiene y sanidad, en el proceso de alimentos y materias primas, reducen significativamente el riesgo de intoxicaciones a la población consumidora y minimiza las pérdidas de productos, haciendo uso de medidas

necesarias se asegura la pureza y la calidad microbiológica de los mismos, evitando la propagación de enfermedades o contaminación al medio ambiente. (Nicaragua, 2013).

La importancia de investigaciones de esta índole bibliográfico-documental es de conveniencia, debido a que proporcionan antecedentes o datos científicos con el objetivo de brindar conocimientos sobre las bacterias enteropatógenas y las inferencias que pueden ocasionar sobre el cultivo y así mismo sobre la salud pública, con el fin de encontrar hallazgos relevantes para que en un futuro, se lleve a cabo un proceso analítico de laboratorio y campo, que aseguren la calidad nutricional de los cultivos al aplicarles biofertilizantes creados de forma artesanalmente.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los sistemas agrícolas, el uso de los biofertilizantes es una alternativa viable para lograr un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible. De esta manera, se han incrementado los esfuerzos para la introducción de organismos y componentes biorreguladores del suelo y las plantas. Hoy en día son muchos los espacios agrícolas donde se hace uso de dichos elementos para la elaboración de los biofertilizantes (estiércol, melaza, nitratos, suero, agua, etc.), la información sobre las características microbiológicas que componen cada uno de estos elementos es bastante escasa, lo que significa que la falta de conocimiento de los mismos pueden crear alteración o contaminación al fruto de cada siembra o cultivo. (Viera, 2002).

El consumo de productos agrícolas (hortalizas, vegetales y granos) es vital para la salud humana puesto que poseen innumerables propiedades alimenticias, son fuente inagotable de vitaminas, minerales, fibra y energía que pueden contribuir de alguna forma con la prevención de enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales. Sin embargo, por sus características físicas y de cultivo, estos productos están expuestos a contaminación de tipo biológica y química, constituyendo un riesgo para la adquisición de enfermedades transmitidas por alimentos. (Rodríguez Torrens, 2015).

El agricultor sin duda alguna conoce los elementos que se necesitan para crear un biofertilizante, pero la poca información al agricultor sobre las características microbiológicas de estos elementos, son las que pueden ocasionar enfermedades a la población consumidora y a los cultivos que se les aplica biofertilizantes foliares. Este tipo de biofertilizantes creados con estiércol animal sin duda alguna reducen costos, pero la problemática de los mismos radica en la falta de estudios de carácter científico, que comprueben la seguridad y calidad que estos brindaran al cultivo y por ende que den la misma seguridad al consumidor.

## MARCO TEÓRICO

### I. Bioinsumos agrícolas

En Nicaragua, la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Agricultura Ecológica NTON 11 010-03 define insumo orgánico o Bioinsumos como: Productos elaborados a partir de organismos benéficos tales como bacterias, hongos, virus, nematodos e insectos, extractos naturales obtenidos de plantas y compuestos bioactivos microbianos que pueden ser utilizados en la producción agrícola para el manejo de las plagas o promover el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Los Bioinsumos son componentes vitales de los sistemas sostenibles dado que constituyen medios económicamente activos y ecológicamente aceptables para reducir los insumos químicos y mejorar la calidad y cantidad de los productos, se clasifican como insumos de riesgo reducido, principalmente productos naturales u organismos, derivados de materiales naturales como animales, plantas, microorganismos y ciertos minerales (Barquero L C, 2007).

Otro aspecto importante de los insumos agrícolas son las características específicas que aportan: al suelo (textura y estructura), química (N, P, K, Ca, Mg, etc.) y biológica (microorganismo), la calidad depende de los insumos que se han utilizado (tipo de estiércol y residuos vegetales). La incorporación de materia orgánica al suelo eleva el nivel de humus debido al suministro de nutrientes principales (N; P; K) que los cultivos necesitan y por su forma de liberación (mineralización) están disponibles por más tiempo. (Rostran, 2016).

#### **Fertilizantes orgánicos**

En la actualidad el mercado de productos agrícolas ha venido cambiando y hay más exigencias en la calidad e inocuidad de los productos agrícolas, así como una mayor preocupación por la protección del medio ambiente, derivándose de la necesidad de crear conciencia entre los productores agrícolas del uso de insumos para la producción más amigables con el medio ambiente.



En general, los abonos o fertilizantes orgánicos son todo material de origen animal o vegetal utilizado principalmente para mejorar las características del suelo, como fuente de vida y nutrientes al suelo. (Rostran, 2016).

Existen diferentes tipos de fertilizantes orgánicos:

**Biofertilizante:** es una preparación que contiene células vivas o latentes provenientes de cepas eficientes de microorganismos que aceleran los procesos microbianos del suelo mejorando la asimilación de nutrientes por parte de las plantas. (Mojica, P et al, 2014).

Tamayo, A (2014) explica que: existen distintos tipos de biofertilizantes, como los abonos y el compost, así como aquellos que incluyen inoculantes microbianos y otros derivados de subproductos agrícolas y animales.

**Fertilizantes orgánicos:** son fertilizantes a base de ingredientes de origen animal o vegetal y que el productor puede elaborar por sí mismo, aprovechando insumos de la finca (Reyes M, S, f).

Riguelet, A.y Gil, I. (2005), define que los fertilizantes inorgánicos: son aquellos producidos o concentrados industrialmente, utilizados para aumentar el material orgánico disponible en el suelo y añadir nutrientes.

**Fertilizantes Quelatados:** Los quelatos son compuestos de mayor estabilidad y, por lo tanto, están ampliamente utilizados en la agricultura como fertilizantes de micronutrientes para suministrar las plantas con hierro, manganeso, zinc y cobre. (Smart, 2020).

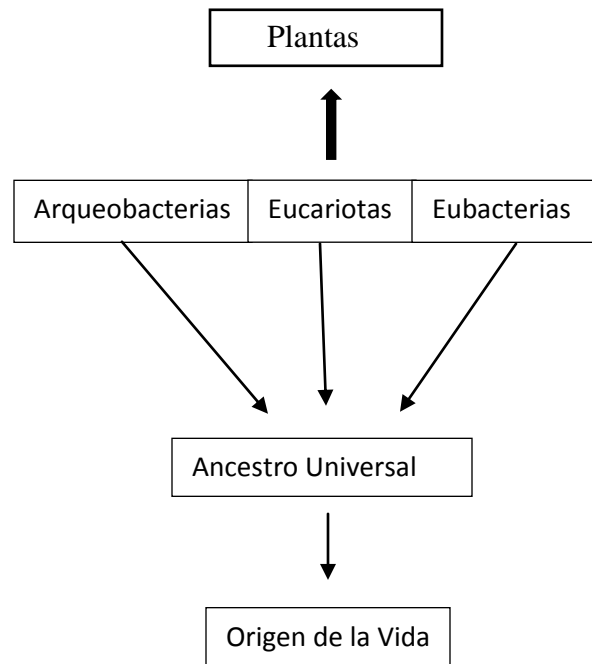
Estos abonos pueden variar en ingredientes, preparación, nutrientes que aportan al suelo y su función, sin embargo, en todos ocurre el mismo proceso de transformación presentando una etapa de fermentación. (Pedraza, et al, 2011).

## II. MICROORGANISMOS

Los microorganismos son los seres más primitivos y numerosos que existen en la Tierra, colonizan todo ambiente, son clave para el funcionamiento de los sistemas biológicos y el mantenimiento de la vida, estos participan en procesos metabólicos, ecológicos y

biotecnológicos de los cuales dependemos para sobrevivir y enfrentar los retos del futuro. Estos retos son gigantescos para la continuidad de la vida, en particular, para satisfacer la demanda de alimentos y medicamentos y resolver problemas de contaminación ambiental, etc. En otras palabras, parte de la actividad biológica esencial que permite la vida depende de los microorganismos. (Montaño, A et al, 2010).

Gracias a las diversas técnicas innovadoras en las investigaciones microbiológicas, como el uso de las técnicas de secuenciación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el estudio del ARN de los ribosomas, los microorganismos se han agrupado desde el punto de vista evolutivo en tres grupos principales: Archeobacterias, eubacterias y eucariotas.



**Gráfico 1. Evolución del mundo vivo basado en la estructura del ARN de los ribosomas. Frioni, 2005.**

### III. BACTERIAS

Las bacterias son organismos unicelulares que se reproducen generalmente por fisión binaria (una célula se parte y se convierte en dos células idénticas) y generalmente necesitan de un medio de crecimiento rico en proteínas y con ambiente de alta humedad relativa para su reproducción y diseminación. Bajo condiciones ambientales favorables de temperatura, humedad y nutrientes, las bacterias pueden dividirse cada 20 minutos. (Lastres y Soza, 2009).

#### Morfología Bacteriana

##### Microscopia Bacteriana

La forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral) estas pueden mantenerse unidas unas con otras después de la división celular, pero conservando siempre la independencia celular. Sus extremos pueden ser redondeados o rectos; pueden estar aislados, en cadenas o en filamentos. (Pírez y Mota 2006).

##### Macroscópica

La mayoría de las bacterias se multiplican rápidamente y son visibles como colonias cuando se hace una siembra en medios de cultivo sólidos adecuados. Requieren una incubación de aproximadamente 24 horas en una atmósfera que favorezca su desarrollo, a temperatura óptima.

Las colonias pueden caracterizarse según su:

Forma: circular (*Staphylococcus*), irregular o filamentosa (*Bacillus*).

Borde: ondulado (característico de los bacilos largos como *Bacillus anthracis*), en sierra o dentados (*Yersinia pestis*) o lisos (por ejemplo, *Escherichia coli*).

Superficie: plana, convexa, mamelonada, umbilicada.

Comportamiento frente a la luz: brillante (*Streptococcus*) u opaca (*Staphylococcus*). (Méndez J, 2018).

#### IV. MICROORGANISMO BENÉFICOS O EM.

Los microorganismos benéficos son aquellos que tiene la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, descomponer los residuos orgánicos, degradar pesticidas y otros elementos contaminantes, suprimir enfermedades (patógenos) de las plantas generados en el suelo y fortalecer el ciclo de los nutrientes produciendo bioactivos como vitaminas, hormonas y enzimas que estimulan el crecimiento de las plantas. (Pedraza, R et al, 2010). Según (Rostran, 2016): Los EM contiene especies seleccionadas de microorganismos incluyendo poblaciones predominantes de bacterias ácido lácticas, levaduras, bacterias fotosintéticas (en menor número), actinomicetos y otros tipos de organismos. Todos ellos mutuamente compatibles unos con otros, pero con diferentes funciones:

- Bacterias fotosintéticas o fototróficas: Estas bacterias sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces, materia orgánica y gases dañinos, usando la luz solar y el calor como fuentes de energía. (Fernandez Ortuño, 2010).
- Actinomicetos: son hongos benéficos que produce sustancias antimicrobianas a partir de los aminoácidos y azúcares procedentes de las bacterias fotosintéticas y por la materia orgánica. Esas sustancias antimicrobianas suprimen hongos dañinos y bacterias patógenas. (Bonilla, 2010).
- Bacterias Acido lácticas (*Lactobacillus spp.*): estas bacterias producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos. El ácido láctico es un compuesto altamente esterilizador que suprime microorganismos patógenos como el hongo *Fusarium* que incrementa la descomposición de la materia orgánica, mineralizando los nutrimentos para las plantas. (Baca, 2010).
- Levaduras (*Saccharomyces spp.*): las levaduras sintetizan y utilizan las sustancias antimicrobianas que intervienen en el crecimiento de las plantas, a partir de los aminoácidos y azúcares. Sus secreciones son sustratos útiles para ciertos microorganismos efectivos, tales como las bacterias ácido lácticas y los Actinomicetos (Fernandez Ortuño, 2010).
- Hongos de Fermentación: los hongos de fermentación como el *Aspergillus* y la Penicilina actúan descomponiendo rápidamente la materia orgánica para producir

alcohol, éteres y sustancias antimicrobianas produciendo desodorización y previniendo aparición de insectos perjudiciales y gusanos. (Barcenas, 2016).

## V. MICROORGANISMOS ENTEROPATÓGENOS

Los microorganismos están en todas partes de la naturaleza cumpliendo roles importantes para el equilibrio ecológico (Mayer, 2010). Un grupo de estos microorganismos son denominados microorganismos patógenos capaces de producir enfermedades en plantas, animales, y contaminación en el entorno. El otro grupo de microorganismos que ejercen funciones muy amigables son denominados microorganismos benéficos o eficientes (composting, 2002).

La cantidad y variedad de bacterias patógenas y potencialmente patógenas, difiere de acuerdo al área geográfica, estado de salud de la comunidad, naturaleza y grado de tratamiento de los desechos, características físicas y químicas. (Sandoval, 2015).

La familia Enterobacteriaceae, constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas aerobios o anaerobios facultativos con diversas características ecológicas y patogénicas. (Rodríguez, 2010).

Las Enterobacterias, son bacterias Gram negativas que contienen más de 30 géneros y más de 100 especies y pueden tener morfología de bacilos o cocos. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de microorganismos ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. (Mateo, 2005).

La presencia de enterobacterias dentro del organismo es normal, pero puede determinar la aparición de infecciones, cuya gravedad depende principalmente de la capacidad patológica o de la virulencia de la especie en cuestión y de las características del hospedador. (Escobar, 2015).

Estos son algunos de los microorganismos enteropatógenos que en la agricultura es preferible que no estén presentes, debido a sus prejuicios en la salud y seguridad alimentaria:

### ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu *Escherichia*. (Rodríguez, 2010).

### **Enterobacterias.**

Categoría taxonómica de *Escherichia Coli* (Perez, 2019):

- Dominio: Bacteria.
- Reino: Bacteria.
- Filo: Proteobacteria.
- Clase: Gamma proteobacteria
- Orden: Enterobacteriales.
- Familia: Enterobacteriaceae.
- Género: *Escherichia*.
- Especie: *Escherichia coli*

Se han documentado brotes relacionados con el consumo de productos en fresco, como es el caso de la espinaca, la lechuga, el tomate, los germinados y los rábanos, contaminados con *E. coli*, *Salmonella Typhimurium* y *Salmonella* Newport. La contaminación se puede dar a lo largo de la cadena de producción; se reportan como principales fuentes el uso de agua de riego contaminada, los abonos a base de estiércol no tratado adecuadamente, el empleo de semillas contaminadas y los diferentes vectores, como animales, insectos y seres humanos. (Ocaña, 2016).

Eslava, C explica que: uno de los principales microorganismos reportados causantes de enfermedades transmitidas por alimentos es *Escherichia coli*, que forma parte del microbiota intestinal de seres humanos, animales de sangre caliente y aves. Se distinguen dos grupos según el tipo de infección que provocan:

- I. Está constituido por cepas responsables de infecciones extra intestinales (tracto urinario, sepsis y meningitis).

- II. Está compuesto por cepas patógenas intestinales, responsables de un elevado número de infecciones gastrointestinales. Dichas infecciones pueden manifestarse con distinto nivel de gravedad, desde una diarrea leve hasta una sintomatología similar a la del cólera, que puede desencadenar complicaciones como el síndrome urémico hemolítico.

El consumo de tomate, al igual que el de otras hortalizas, ha presentado diferentes alertas por la presencia de *E. coli*. Esta cepa ha mostrado capacidad de mantenerse por tiempo prolongado fuera de su hábitat natural, adaptándose a condiciones adversas. Algunas investigaciones demuestran que estos microorganismos tienen la capacidad de internalizarse en el producto, protegiéndose de los sanitizantes. Existe un limitado conocimiento sobre el mecanismo por el cual las bacterias patógenas de humanos colonizan y sobreviven en estos productos. (Laura, 2016).

### **Shiguella**

Según la Novena Edición del Manual de Bacteriología Sistemática, el género *Shiguella* está compuesto de 4 serogrupos y 43 serotipos, y se ubica taxonómicamente en (Garrity, 2003):

- Reino: Procarionte.
- División I: Gracilicutes.
- Clase I: Bacterias.
- Familia: Enterobacteriaceae.
- Tribu: *Escherichiae*.
- Género: *Shigella*.
- Especies: *S. dysenteriae* (A) (13 serotipos). *S. flexneri* (B) (6 serotipos) *S. boydii* (C) (19 serotipos) *S. sonnei* (D) (1 serotipo).

*Shigella spp*, alcanza la submucosa del colon y es capaz de ulcerar esos tejidos, pero sólo produce bacteremia en casos excepcionales, se encuentra habitualmente como saprófito en el tubo digestivo, pero también se pueden encontrar de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación. (Romero, 2015).

Las especies de *Shigella spp*, son muy sensibles a fluctuaciones de temperatura y a condiciones ambientales desfavorables. Sin embargo, son tolerantes a pH bajos, por lo que unas *Shigella spp* 16 puede soportar la acidez del estómago y luego colonizar el tracto

digestivo. Esta facultad, sumada a que son infectivas a bajas dosis, contribuye a su patogenicidad. (Forbes, 2015).

### **Salmonella**

El género *Salmonella* se ubica dentro del orden Enterobacteriales y la familia Enterobacteriaceae, están son bacilos gram negativos, generalmente por flagelos periticos, anaerobios facultativos no encapsulados y no esporulados. Las *Salmonellas* se desarrollan entre 8 y 45°C y a un pH de 4 a 8, no sobreviven a temperaturas mayores de 70°C. (Flores, sf).

*Salmonella* está ampliamente distribuido en la naturaleza, y se encuentra como comensal y patógenos en el tracto gastrointestinal de humanos, mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves, insectos y roedores, causando un amplio espectro de enfermedades en el hombre y los animales. Epidemiológicamente hablando se pueden clasificar en tres grupos: las que no tienen preferencias por algún huésped (infectan tanto al hombre como a los animales), los que infectan solo al hombre: *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* y *S. Paratyphi C* y las que están adaptadas a un hospedero es especies animales como *S. Abortusovis* (bovinos), *S. Abortusequi* (equinos) y *S. Gallinarum* (aves). (Escolásticas, S.f).

Cuando estos microorganismos causan enfermedades se consideran patógenos; los de mayor incidencia en productos hortofrutícolas son virus (hepatitis A y norovirus), parásitos (*Cyclospora*, *cayetanensis* y *Cryptosporidium pavu*) y bacterias (*Clostridium spp.*, *Escherichia coli*, 157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter spp.* y *Yersinia enterocolitica*), principalmente (Berger, 2010). De estos microorganismos *Salmonella* y *E. coli* O157: H7 son los que se han señalado con mayor frecuencia como agentes que causan enfermedades gastrointestinales (Fernandez, 2000).

Dentro de los contaminantes biológicos se mencionan a bacterias, virus, parásitos y hongos productores de toxinas, microorganismos capaces de colonizar y sobrevivir en o sobre frutas y verduras (Berger, 2010).



## VI. BIOFERTILIZANTES EN LA SALUD PÚBLICA Y EL MEDIO AMBIENTE

Los biofertilizantes no tratados de manera adecuada, que se utilizan como nutrientes del suelo, ya sea en la agricultura orgánica o inorgánica, puede dar lugar a la contaminación de los productos y/o de las fuentes de aguas, por lo que su aplicación descontrolada constituye un peligro para la salud pública y una amenaza para el medio ambiente por la exposición a microorganismos patógenos que esto representa. Una gran parte de los estudios realizados sobre la preparación de los biofertilizantes y la aplicación del estiércol a los cultivos sobre el terreno se han centrado en los efectos de la fertilidad de los suelos y la calidad de los cultivos; sin embargo, es necesario aumentar las investigaciones acerca de la sobrevivencia de los patógenos y de los tratamientos para reducir los niveles de estos microorganismos.

Uno de los métodos propuestos para el control de estos biofertilizantes es el empleo de elevadas temperaturas. Cuando es calentado a temperaturas de 55 °C durante 15 días tiene lugar una disminución considerable del número de microorganismos patógenos, a la vez que está ocurriendo la digestión mesófila de los compuestos orgánicos obteniéndose como producto CO<sub>2</sub>, metano y amonio. Esta etapa mesófila destruye el 99.9 % de los patógenos. En la fase termófila (55°C) se logra eliminar el 99.999% de los mismos y de esta forma se pasteuriza el material. (Report, 2000).

En experimentos de biofertilización en China, se demostró que los coliformes y otros organismos fecales son destruidos en el propio proceso, si las temperaturas en el rango termofílico se mantienen por un tiempo suficiente y todo el material es sujeto a dichas temperaturas. Las bacterias patógenas se destruyen rápidamente cuando todas las partes de la pila de compost están sujetas a temperaturas de 60°C durante 30 a 60 minutos (Cantanhede, 2002).

Sin embargo, no podemos confiar ciegamente en que el propio proceso elimina la totalidad de los patógenos, puesto que investigaciones realizadas recientemente indican que algunos patógenos tienen un umbral térmico más alto que otros como por ejemplo el virus de la Hepatitis A. Además, el tiempo y la temperatura necesaria para eliminar o reducir los peligros microbianos en el compost u otras materias orgánicas pueden variar según el clima de la región y las prácticas concretas de gestión ambiental aplicadas en cada caso, planteó

que los organismos patógenos pueden sobrevivir hasta 60 días en el biofertilizante. (FAO, 2000).

Teniendo en cuenta estos aspectos, los análisis microbiológicos constituyen un elemento importante para determinar la calidad sanitaria de estos productos. La densidad de coliformes fecales es utilizada como un indicador de la presencia potencial de bacterias patógenas (Cantanhede, 2002). Las muestras que contengan menos de 1000 coliformes fecales por gramo de peso seco de compost indica que todos los microorganismos patógenos han sido destruidos (Gonzalez, 2004)(Yanko, 1988 como se citó González, I 2004).

Los análisis realizados al suelo no tratado demostraron la ausencia de coliformes fecales en las dos profundidades estudiadas (50 y 200 cm). A las 24 horas de aplicado el compost los coliformes fecales fueron encontrados hasta los 200 cm de profundidad y su concentración fue decreciendo a razón de 2 log 10 por semana. Transcurridas 7 semanas fueron detectados entre los 0 y 100 cm de profundidad. La tabla 2 muestra los tiempos de sobrevivencia de los patógenos en el suelo y sobre la superficie de las plantas a partir del momento que ha sido aplicado el compost no tratado o tratado inadecuadamente (Report, 2000).

Patógenos	Suelo		Superficie de las plantas	
	Tiempo máximo	Tiempo mínimo	Tiempo máximo	Tiempo mínimo
<b>Bacterias</b>	1 año	2 meses	6 meses	1 mes
<b>Virus</b>	1 año	3 meses	2 meses	1 mes
<b>Quistes de protozoos</b>	20 días	2 días	5 días	2 días
<b>Huevos de helmintos</b>	7 años	2 años	5 meses	1 mes

**Tabla 1. Tiempos de sobrevivencia de los patógenos en el suelo y sobre la superficie de las plantas. (Gonzalez, 2004).**

En esta tabla, podemos observar que la sobrevivencia de estos microorganismos es mayor en el suelo que sobre las plantas, esto puede estar dado por el hecho de que en la tierra la

concentración y la variabilidad de los nutrientes es superior que sobre las plantas. El mayor valor en el suelo corresponde a los huevos de helmintos con 7 años de sobrevivencia, en segundo lugar, a las bacterias y a los virus con tiempos máximos de 1 año y por último los quistes de protozoos con solo 20 días.

Microorganismo	Dosis mínimas infecciosas
<i>Salmonella sp.</i>	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>6</sup> UFC/gps
<i>Shigella sp.</i>	10 - 10 <sup>2</sup> UFC/gps
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>10</sup> UFC/gps
<i>Giardia lamblia</i>	1 quiste
<i>Cryptosporidium parvum</i>	10 quiste
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1-10 huevos

**Tabla 2. Dosis mínimas infecciosas de los patógenos presentes en el compost. (Gonzalez, 2004).**

La tabla número dos, muestra que la presencia de estos patógenos es viable en las diferentes capas del suelo y sobre las plantas durante los tiempos mostrados, en la tabla uno y a concentraciones iguales o superiores a las representadas en la Tabla dos, constituye un peligro para la salud del personal que trabaja la tierra ya que están expuestos directamente al contacto con estos microorganismos. Por otro lado, los cultivos destinados a la alimentación, sembrados en estos suelos, así como las aguas subterráneas y las fuentes de suministros de aguas corren el riesgo de contaminarse con dichos patógenos. (González, 2004).

Evidentemente es necesario realizar la vigilancia y el control sanitario estricto de estos biofertilizantes con vistas a reducir los niveles de contaminación ambiental y el desarrollo de las enfermedades. (Gonzalez, 2004).

## VII. MÉTODO Y TÉCNICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENOS.

BD MacConkey II Agar es un medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de Enterobacteriaceae y diversos otros bacilos gram negativos a partir de un medio de cultivo o una muestra clínica. La fórmula del agar MacConkey II se diseñó para

mejorar la inhibición del agrupamiento dinámico de la especie *Proteus*, lograr una diferenciación más definitiva de los organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa y alcanzar un crecimiento superior de las bacterias entéricas. (Dickinson, Julio, 2014).

Las **colonias** de *Shigella* en Agar MacConkey son incoloras y transparentes. En este medio las colonias de otros microorganismos que fermentan la lactosa (coliformes) son colonias rojizas. (Salamanca, s,f).

Las colonias de *E. Coli* según ISO 21150, se inoculan con Agar MacConkey para obtener colonias aisladas, Incubación a  $32,5\pm 2,5$  °C durante al menos 24 horas. Las colonias de *Escherichia Coli* son rojo o rosa, no mucoide, redonda y su precipitado es opaco debido a las sales biliares. (Condalab, 2019).

### **Galerías o Batería de pruebas Api20E**

Api abreviatura de sus siglas en inglés: Application Programming Interfaces, su significado en español, interfaces de programación de aplicaciones, el científico en computación Benny Weinberger en su blog (2015) explica que, una API es una especificación formal sobre cómo un módulo de un software se comunica o interactúa con otro.

Esta técnica se utiliza debido a que es un método rápido, que permite la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. En el mercado existe una variedad de galerías para ser utilizadas en la identificación de diferentes tipos de microorganismos, por ello, aunque todos estos sistemas tienen el mismo fundamento, difieren en el número y tipo de pruebas que permiten realizar. (Burgs, 2015).

Los diferentes tipos de pruebas API son: API 20E, API 20 NE, API 20A, API STAPH, API 20 STREP, el API CAMPY, API CORYNE, API CANDIDA, API 50 – CHL. En esta investigación se recomienda utilizar la galería de pruebas Api 20E ya que esta es específicamente para la identificación de microorganismos pertenecientes al grupo de las enterobacterias y de otros bacilos gram negativos que son los de interés. (BioMérieux, 2010).

(Rodríguez F. , 2019) en su blog, llamado laboratorio clínico y biomédico, explica que: Api20E es un sistema que provee un estudio de 20 pruebas que consta de 20 microtubos con medios deshidratados que se incuban con una suspensión de bacterias, las cuales inoculan el microorganismo y los hidrata. Esta técnica cumple con el objetivo fundamental de identificar un microorganismo problema de clase Enterobacterias y su lectura se da a través de los cambios que este genera por medio de reactivos.

El autor antes citado nos expone que: Para utilizar esta técnica hay una serie de instrumentos, reactivos, pasos y normas a seguir, según lo requiera el método. Galería de pruebas API 20E pueden encontrarse en casas comerciales que se dediquen a la distribución y venta de instrumentos de laboratorios, Microorganismo problema o inóculo (muestras de suelo o líquido), si es de cultivo es importante que sea de un cultivo joven, Ampolla de 5 ml de suero salino fisiológico, Hilo o Asa de siembra de platino, Pipeta Pasteur, Papel de filtro, Mechero, Portaobjetos, P-fenil-diamina (oxidasa), Reactivos reveladores (Voges Proskauer, Indol y TDA), Cámara, Estufa, Libro o software de interpretación API y Parafina estéril. Los pasos a seguir y los tiempos de realización de un estudio son muy importantes, Api es una prueba muy eficaz y fácil de ejecutar, y esto lo ha determinado el buen manejo de las instrucciones.

## VIII. METODOLÓGIA

### **Enfoque: Documental interpretativo.**

Según (Sampieri, 2000): La investigación documental consiste en detectar, obtener y consultar la bibliografía y otros materiales que parten de otros conocimientos y/o información recogida moderadamente de cualquier realidad, de manera selectiva, de modo que puedan ser útiles para los propósitos de un estudio. En este caso pretendemos hacer uso de este enfoque por medio de una búsqueda exhaustiva de documentos, textos, publicaciones o revistas, que proporcionen información sobre biofertilizantes artesanales y la presencia de microorganismo enteropatógenos.

Este tipo de investigaciones interpretativas proporcionan un conjunto coherente de ideas, pero heterogéneo donde se confrontan varias posiciones de autores, en todas se busca coherencia entre teorías y métodos, en la que se asocia la elaboración teórica a la vinculación existente entre el investigador, su problemática y la concepción ética de su investigación. En esta investigación documental se pretende sustentar las teorías y métodos ya utilizados para detectar presencia de enteropatógenos, pero al mismo tiempo dando una investigación que sea un antecedente para estudios científicos y de campo futuros, que garanticen que los biofertilizantes líquidos producidos artesanalmente son sometidos aún proceso de estudio de laboratorio.

### **Métodos y técnicas de recolección de datos.**

Se utilizarán métodos llamado arqueología bibliográfica para extraer las teorías y flujo de investigaciones previas, plasmando la fuente de dicha información. Se realizó una revisión de artículos científicos durante los meses de agosto a diciembre de 2020 y enero a julio de 2021, revistas, artículos científicos y hasta blogs de carácter científicos en idiomas: inglés y español. Se emplearon artículos publicados en el período y revistas que fueron publicadas entre los periodos de tiempo de 2000 a 2020, al igual que se consultaron publicaciones de años anteriores como aporte a la historia del tema.

## IX. RESULTADOS

### Importancia de las bacterias patógenas

Las bacterias son de relevancia para el funcionamiento de los sistemas biológicos y sobre todo aquellas que su mayor aporte es beneficiar, no obstante, en las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultraestructura bacteriana, tanto de bacterias con carácter beneficiario como las que no, estas son conocidas como bacterias patógenas, con estos avances se ha logrado una identificación bioquímica de muchas fracciones subcelulares permitido ubicar a las bacterias en el reino Procaryotae. Los avances de la genética bacteriana hicieron posible el desarrollo de técnicas de biología molecular con aplicaciones a nivel de la investigación científica y el diagnóstico, es por estudios intensivos como estos es que el conocimiento sobre las bacterias crece más allá de la superficie.

Los microorganismos benéficos (*Lactobacillus Reuteri*, *Acidophilus bifidus*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium Animalis*, *Bacillus Coagulans*) tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, descomponer residuos orgánicos, degradar pesticidas y otros elementos contaminantes, suprimir enfermedades (patógenos) de las plantas generados en el suelo y fortalecer el ciclo de los nutrientes. (Rostran, 2016). Dicho de otra forma, si existen microorganismos que su único objetivo es beneficiar, existen otro grupo de microorganismos que su funcionamiento y objetivo son todo lo contrario, son los ya denominados como: microorganismos patógenos que son capaces de producir enfermedades en plantas, animales, y contaminar el entorno, la cantidad y variedad de bacterias patógenas y potencialmente patógenas, difiere de acuerdo al área geográfica, estado de salud de la comunidad, naturaleza y grado de tratamiento de los desechos, las enfermedades que estos generan se derivan de los alimentos, y las bacterias patógena que con mucha frecuencia se encuentra es *Escherichia coli*, (Sandoval, 2015).

La importancia de estas bacterias no radica en que es lo que se puede obtener de ellas, sino todo lo contrario, los investigadores han iniciado estudios en alimentos desde los años 1993 hasta el día de hoy, con el único objetivo de conocer más el funcionamiento de este grupo de bacterias que son potencialmente capaces de introducir enfermedades graves para el humano, se ha descubierto que este grupo de bacterias necesitan sustento para sobrevivir

dentro del organismo, dicho esto, la mayor relevancia tratándose de patógenos, se centra en la eliminación de estos. (D, 2016).

## **INCIDENCIA DE LAS BACTERIAS ENTEROPATÓGENOS EN BIOFERTILIZANTE LÍQUIDOS.**

En el punto anterior se caracterizó la diferencia entre microorganismos benéficos y los microorganismos patógenos, que son de interés particular en la presente Tesis, si bien es cierto que estos existen mayormente en alimentos, antes mencionado por D, Alvarado en el 2016. Se deberá observar detenidamente el tipo de alimento, más el proceso de este, antes de ser consumido por el ser humano. El presente trabajo se centra en la importancia de la búsqueda de bacterias enteropatógenos en biofertilizantes líquidos que se producen artesanalmente con estiércol de animales, por tanto, es importante primero definir el proceso de los biofertilizantes orgánicos o foliares, que son producidos con estiércol bovino, para entender las incidencias que los microorganismos patógenos ejercen sobre los mismos.

En Nicaragua los abonos foliares fue introducida por la empresa de Fertilizantes Orgánicos S.A. (FERTOSA) en el Ingenio Montelimar, la producción y comercialización se convirtió en una excelente alternativa de ingresos, en Nicaragua su difusión moderna comenzó a mediados de la década de los años 90, en el curso de los tres últimos años la producción de fertilizantes foliares orgánico está despertando un especial interés, en primer lugar por curiosidad y después por las expectativas de beneficios económicos independientemente del tipo de actividad principal que desarrolle (Requenez Eduardo, 2019).

De una buena fertilización dependen los rendimientos que vamos a obtener, pero antes de cualquier aplicación, siempre es necesario realizar un análisis de suelo previo a la siembra con el objetivo de indagar que tipo de nutriente carece el suelo y que nutriente tiene en abundancia (Hernández, 2009), citado en E, Requenez., E, Bonilla et al. (2019).

La aplicación foliar es el resultado de un proceso de digestión anaeróbica de restos orgánicos de animales y vegetales (estiércol, residuos de cosecha), en donde la nutrición se aplica específicamente a las hojas, se utiliza como un complemento de la fertilización al suelo que consiste en aplicar el fertilizante en forma de lluvia (por aspersion), la ventaja es



que, al entrar el producto en contacto con las hojas, se absorbe de forma inmediata y los resultados pueden observarse en menos tiempo. (F, 2019).

Los biofertilizantes de origen orgánico, tienen sus componentes esenciales para la producción de los mismos, el interés principal es aquellos biofertilizantes que son creados a partir de estiércol, para ello cabe recalcar que a como este elemento tiene sus ventajas, también desventajas y perjuicios para el ser humano.

Estiércol de vaca: Aporta grandes cantidades de microorganismo para que ocurra la fermentación, aporta nitrógeno ya que la microbiología u organismos vivos existentes en este componente, tiene la característica facultativa de desarrollarse tanto en condiciones aeróbica como anaeróbica (Rostran, 2016). Pero si existen microorganismos que dan todas estas ventajas tan necesarias que hay más allá, ¿Acaso no existe dentro de ello algo que de equilibrio?, estudios han demostrado que existen % que revelan la existencia de bacterias patógenas de genero coliforme fecalis, y las más comunes encontradas son *Salmonella* y *Escherichia coli* (Ruben, 2016).

"En la medida en que existe un vínculo entre los genes resistentes a los antibióticos, las bacterias que se propagan en el ambiente y las bacterias que crecen en el medio hospitalario, apuntamos a conocer qué tipos de agentes patógenos confluían a través del estiércol utilizado como fertilizante, el gran temor es que se manifiesten agentes patógenos responsables de intoxicaciones alimentarias o infecciones hospitalarias. (COFA, 2014).

El estiércol del ganado bovino contiene grandes cantidades de microorganismos potencialmente patógenos como bacterias, virus y parásitos (Dungan, 2010). *Escherichia coli* es un habitante normal del tracto gastrointestinal del bovino; esta bacteria es un indicador de contaminación fecal en el agua y los alimentos, algunas de sus cepas como la E. coli entero-hemorrágica son patógenas y causa severas infecciones en las personas con cuadros epidémicos caracterizados por diarreas hemorrágicas, colitis y síndrome urémico hemolítico (Asakura, 2009 ).

A lo largo de la investigación se ha encontrado por información de diferentes autores, que el principal factor problema es que a medida que hay un vínculo entre genes resistentes a antibióticos, estos se propagan en el ambiente hasta encontrar un vehículo o un huésped,

debido a que su resistencia a antibióticos les da un periodo más largo de vida, causando así primero la ignorancia de cómo estos van actuar, por supuesto no hablamos de una ignorancia total, si no, parcial ya que se han encontrado estudios antes citados que demuestran el comportamiento de dichos patógenos en el huésped, no obstante, por un periodo de tiempo este puede crear resistencia y no ser eliminado de forma fácil. Segundo puede existir el temor de que los agentes patógenos sean los responsables de intoxicaciones alimentarias o infecciones hospitalarias.

## **MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS.**

API conocido así por sus siglas en inglés (Analytical Profile Index) (Índice de perfil analítico, en español) 20E es un panel bioquímico que su objetivo principal es identificar y diferenciar la familia Enterobacteriaceae, esto significa que API es un método establecido para la identificación manual de microorganismos a nivel de especie. (Aryal S. , 2019).

Los sistemas miniaturizados API son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Estos sistemas consisten en un dispositivo de plástico con varios microtubos que contienen diferentes medios de cultivo deshidratados. Entre algunas de las pruebas bioquímicas que pueden realizarse con estos sistemas están las pruebas de fermentación de carbohidratos, la determinación de la producción de H<sub>2</sub>S, la determinación de la hidrólisis de la gelatina, entre otras con el objetivo de identificar diferentes tipos de microorganismos, por ello, aunque todos estos sistemas tienen el mismo fundamento, difieren en el número y tipo de pruebas que permiten realizarse, ya que su selección está directamente relacionada con la actividad metabólica del género al que pertenece el microorganismo a identificar. (BioMérieux, 2010).

Para realizar esta técnica se requiere: Preparar la cámara llenando los alveolos de agua destilada, importante previa preparación del inóculo, tomando una colonia aislada con un asa estéril y realizando una suspensión de bacterias en un tubo que contenga 5 ml de agua destilada o suero salino fisiológico estéril, Realizar la prueba de la oxidasa al

microorganismo problema, Sacar la galería de microtubos de la bolsa hermética, Comenzar a inocular la galería de microtubos siguiendo los puntos siguientes: Llenar el tubo y la cúpula en CIT, VP Y GEL, Llenar los tubos, pero no las cúpulas, en los demás test, Proceder al llenado de las cúpulas de los test subrayados (ADH, LDC, ODC, URE y SH<sub>2</sub>) con aceite de parafina estéril para obtener un ambiente anaeróbico, Situar la galería dentro de la cámara, Depositarlo en la estufa e incubar entre 35°C y 37°C durante 18-24 horas, pasado este tiempo sacar de la estufa e interpretar los resultados según nuestro libro o software de lectura. (Rodriguez F. , 2019).

Francisco, R. (2019), citado anteriormente explica que: Para la interpretación de los resultados es necesario tener conocimiento de que si: la glucosa o tres o más pruebas son positivas hay que verificar el revelado de los test que requieren reactivos, que son VP, TDA e IND, Si la glucosa da negativo y el número de test positivos es menor o igual a 2, se investiga el metabolismo óxido-fermentativo en un tubo de Hugh-Leifson, si esto sucede se siembra en Agar McConkey, para observar el metabolismo de la lactosa, Se comprueba la movilidad (MOB), se reincuba la galería durante 24-48 horas, si después de 48hrs la glucosa o tres pruebas dan positivo, hay que efectuar el revelado de los test que requieren reactivos (VP, TDA e IND). En cambio, si el resultado sigue siendo el mismo (glucosa negativo y n° de test positivos igual o inferior a 2) no se puede identificar el microorganismo como una enterobacteria y se procederá a la identificación a partir de un perfil numérico.

Es importante no solo hablar de la sencillez y estabilidad de dicha técnica, si no, también analizar lo que para un productor es importante, esto hace referencia al costo que se requiere para dicha prueba, es primordial hacer hincapié en que el objetivo del productor debe ser proveer un biofertilizante totalmente orgánico y que a la vez su contenido brinde seguridad. Por esta razón se anexo un presupuesto para dicho análisis.

Costo para la realización de una prueba Api20E en un laboratorio								
Código	Detalles del análisis	costo unitario por muestras					Método	Tiempo de entrega
MIC-011	Identificación Bioquímica	1 muestra	2 muestras	3 muestras	4 muestras	5 muestras	Api20E	15 días

		\$	\$	\$	\$	\$		
		50.00	46.00	44.00	43.00	43.00		

**Tabla 3. Presupuesto de prueba API20E en un laboratorio. Fuente Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas. Nancy, 2020.**

### **Métodos moleculares para la detección e identificación de patógenos.**

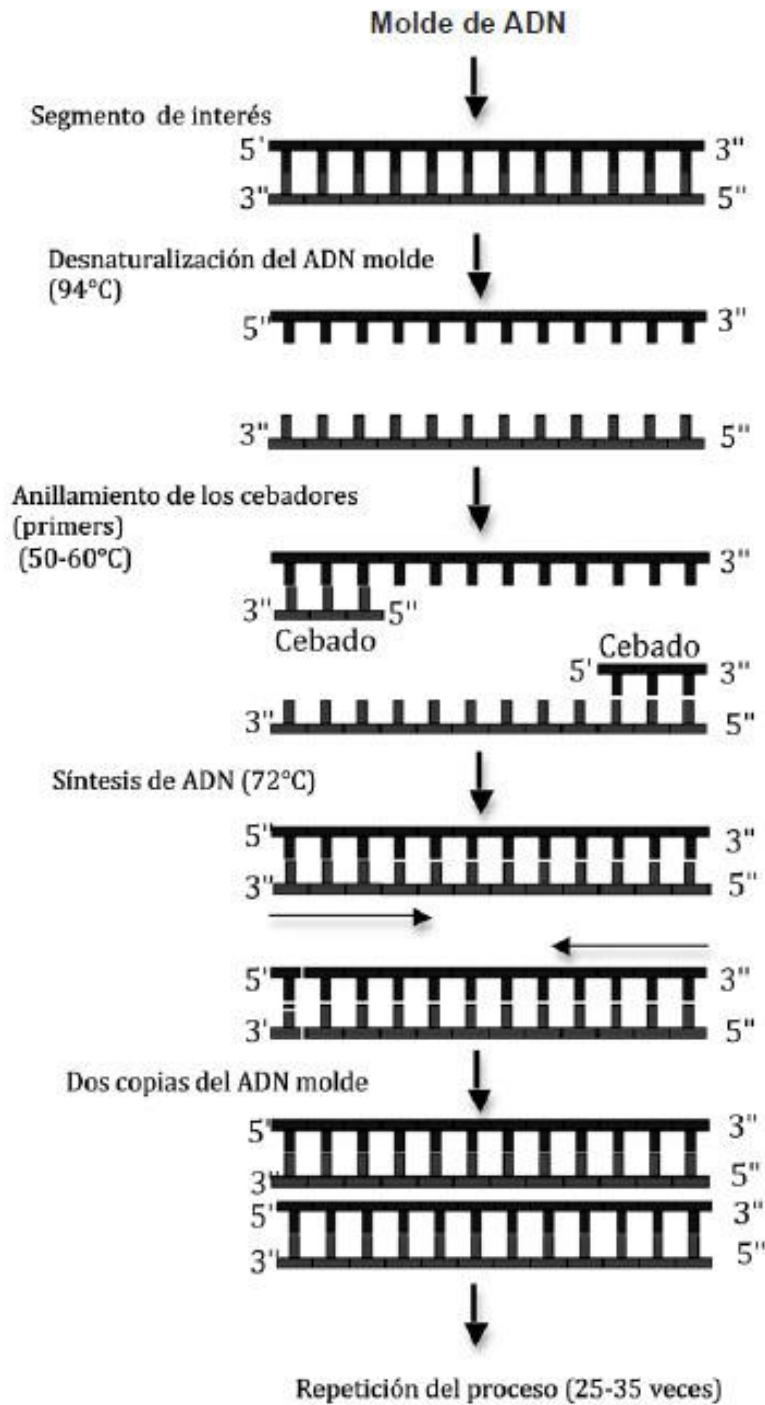
Los principales avances en los ensayos de detección de patógenos en alimentos, basados en ácidos nucleicos, se produjeron a partir de 1980. Los primeros métodos de identificación molecular fueron la hibridación ADN-ADN, el análisis de secuencias del ADNr 16S, la hibridación con una sonda específica y el análisis RFLP o ribo- tipificación. En contraste con las características fisiológicas y bioquímicas, la identificación molecular se basa en la composición constitutiva de los ácidos nucleicos más que en los productos de su expresión. (Gonzalez, 2004).

El descubrimiento de la PCR, la clonación, la secuenciación y la tecnología de detección por fluorescencia, así como la accesibilidad a una gran cantidad de información en la web ayudó al desarrollo de nuevas herramientas moleculares, cuyo uso ha aumentado enormemente la habilidad para detectar y cuantificar bacterias patógenas en agua y alimentos, entre estas, muchas bacterias emergentes, como por ejemplo; *Escherichia coli* O157, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp, *Shiguella*, las cuales han representado una seria amenaza para la salud pública mundial. (C, 2014).

Recientemente, se ha dado un paso hacia las plataformas moleculares más sofisticadas para la identificación de microorganismos patógenos, incluyendo sistemas de amplificación *in vitro* en tiempo real, biosensores y microarreglos, los cuales han sido desarrollados o se están desarrollando para su uso como métodos rápidos en la detección de patógenos en alimentos. (al S. e., 2004).

La enumeración de patógenos transmitidos por alimentos es un aspecto principal del diagnóstico molecular microbiológico, especialmente si quiere utilizarse para la evaluación cuantitativa del riesgo. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica de diagnóstico molecular más ampliamente utilizada debido a su protocolo rápido y de fácil uso.

Por lo general, 2-3 h son necesarias para completar una PCR, hoy en día se han desarrollado sistemas de PCR más avanzados para generar un resultado en cuestión de minutos. A



continuación, se presentan varios ejemplos de las aplicaciones de los distintos tipos de PCR en alimentos. (Gonzalez, 2004)

### **Ilustración 1. Etapas del proceso de PCR.**

La técnica de PCR se basa en el principio de complementariedad de las bases de ADN y en la participación de la enzima polimerasa, permitiendo la extensión del fragmento a amplificar, agregando nucleótidos en secuencias complementarias al ADN Molde por medio de un proceso cíclico, que comprende tres pasos: Desnaturalización, hibridación y extensión.

Los métodos de PCR dirigidos a la detección de toxinas se han desarrollado para varias especies bacterianas como; *V. cholerae*, *E. coli* y algunos aislados de estafilococos, por nombrar unos pocos. Muchos de los métodos basados en ácidos nucleicos utilizan la PCR para detectar toxinas diferentes o genes de virulencia que permiten que las bacterias se conviertan en patógenos. (al M. e., 2007).

Actualmente se han desarrollado ensayos de PCR en tiempo real, para la identificación de patógenos de origen alimentario, ofreciendo una detección rápida, sensible y específica de agentes patógenos. Esto se hace posible tras el cultivo de enriquecimiento, así como su cuantificación. Las ventajas de estos ensayos, junto con su facilidad de uso y la susceptibilidad a la automatización, es que son atractivos en la aplicación de alimentos, con el fin de evolucionar en este campo en un futuro próximo. (C, 2014).

#### **Ventajas de las técnicas moleculares**

La identificación de los patógenos de transmisión alimentaria mediante métodos moleculares se ha vuelto cada vez más notorio en aspectos de calidad y seguridad en la producción de alimentos, estas técnicas suelen ofrecer muchas ventajas. La técnica de PCR es una de las técnicas más utilizadas en la detección e identificación de bacterias causantes de ETA, es fiel exponente de tales alcances ya que presenta rapidez, límite de detección, especificidad y sensibilidad, fácil automatización y capacidad de procesamiento de grandes cantidades de muestras. En algunos microorganismos, PCR no requiere condiciones anaeróbicas en comparación con el método de cultivo clásico. Adicionalmente, a través de los métodos moleculares se identifican microorganismos que no pueden ser estudiados por

técnicas convencionales o que no pueden cultivarse en substratos artificiales. (Wondwossen, 2007).

TÉCNICA MOLECULAR	VENTAJAS	DESVENTAJAS
PCR simple y múltiple	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mayor rapidez que los métodos basados en cultivos (4-24 h vs. 5-7 días).</li> <li>- Alta especificidad y sensibilidad.</li> <li>- PCR múltiple: detecta varios patógenos al mismo tiempo.</li> <li>- Automatizados.</li> <li>- Resultados precisos y exactos a partir de la detección genética específica.</li> <li>- Diferenciación de varios serotipos de microorganismos. Ejemplo: en el caso de Salmonella se pueden detectar 5-8 en una sola reacción.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dificultad para distinguir entre células vivas y muertas.</li> <li>- Técnicamente puede ser un reto optimizar las condiciones de PCR.</li> <li>- Se requiere enriquecimiento para detectar células visibles.</li> <li>- Se necesita procesamiento post-PCR de los productos (electroforesis).</li> </ul>
PCR en tiempo real	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Es más específica y sensible que los métodos de cultivo.</li> <li>- No se encuentra influenciada por la amplificación no específica; la amplificación puede ser monitoreada en tiempo real.</li> <li>- Confirmación de amplificación específica mediante curvas de fusión.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dificultad en ensayos múltiples.</li> <li>- Labilidad del ARNm.</li> <li>- Posibilidad de contaminación cruzada.</li> </ul>

**Ilustración 2. Ventajas y desventajas de las técnicas de PCR. González, 2014.**

## **INFERENCIAS QUE PUEDEN OCASIONAR LA PRESENCIA DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENOS EN LA SALUD Y MEDIO AMBIENTE.**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se originan por la ingestión de alimentos y/o agua que contienen agentes etiológicos en cantidades considerables que afectan la salud del consumidor, ciertas complicaciones son producto de toxinas de origen bacteriano, por ejemplo, la toxina producida por *Clostridium botullinum*, que puede llegar a generar fallas respiratorias, y la toxina shiga, producida por cepas de *Escherichia coli*, causante del síndrome hemolítico urémico. (Z, 2016).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ETA constituyen uno de los problemas sanitarios más comunes que aquejan la salud de las personas en el mundo, y afectan con severidad a niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas con otros padecimientos; sin embargo, estas enfermedades no solo afectan la salud, sino que tienen un impacto socioeconómico negativo, debido a que ocasionan una disminución en la productividad y el comercio e imponen una carga sustancial en los sistemas de salud al generar gastos en hospitalizaciones y medicamentos. (L, 2016).

Las bacterias de la flora intestinal se movilizan para ayudar al organismo a liberarse de las invasoras y defender su hábitat que ya ha sido conquistado y colonizado, una reciente investigación de la Universidad de Michigan, en EE. UU, muestra que **las bacterias habituales en el tracto digestivo de las personas compiten contra bacterias invasoras como las bacterias patógenas, para ayudar a que el organismo las rechace**. El estudio también muestra que estas bacterias invasoras patógenas dependen de ciertos genes para ganar una ventaja temporal que sea suficiente como para reproducirse y arrojar a su descendencia al exterior del organismo para que puedan infectar a otro. (Maite, 2012).

(Maite, 2012), citado anteriormente explica que este estudio fue publicado en la revista 'Science', apuntando a posibles formas de prevención o el tratamiento de las infecciones por *E. coli* enterohemorrágica. Esta bacteria patógena, causante de una de las enfermedades de tipo alimentario es la más temida, puede llegar a contaminar carne picada poco cocinada, leche no higienizada, agua no tratada, frutas o verduras, y causar diarrea y otros síntomas más graves en adultos incluso ser mortal para los más pequeños. Los resultados del estudio demuestran que estas bacterias, también llamadas "comensales", compiten con los patógenos causantes de enfermedad, estos patógenos usan un conjunto específico de genes para ganar en la competencia con las comensales antes de salir del cuerpo.

### **Incidencias ambientales**

Las aguas residuales son la principal fuente de microorganismos patógenos que se transmiten a través del ambiente y que llegan a la población especialmente a través de la contaminación del agua usada para beber, agua utilizada en cultivos de vegetales o en cultivos de moluscos bivalvos, en la preparación de comida, para lavar, en el baño o en los diversos usos recreativo. El tratamiento actualmente aplicado a las aguas residuales procesadas por métodos biológicos y físico-químicos ha reducido significativamente la incidencia de enfermedades entre la población, especialmente las de etiología bacteriana, sin embargo, los protozoos y los virus son más resistentes que las bacterias. (Silvia, s,f).

El control virológico del medio ambiente es un proceso complejo debido a la dificultad de identificar concentraciones normalmente pequeñas de virus diversos pertenecientes a diferentes familias y que están dispersos en grandes volúmenes de agua, biosólidos o en otro tipo de muestras ambientales. (Pilar, s,f).



## X. CONCLUSIONES

Las investigaciones que se han planteado hasta el día de hoy, como las realizadas por (Rostran, 2016), han arrojado estadísticas y porcentajes desde la importancia de los biofertilizantes hasta los nutrientes que aporta al suelo, en el que se han encontrado que es mucho más factible la aplicación de biofertilizantes de origen natural; primero porque es una forma natural de descomposición anaerobia, la mayoría de las industrias ganaderas o incluso industrias que crean biofertilizantes químicos, tiene un problema central y se basan en que los desechos naturales del ganado, se almacenaban sin ningún tipo de uso y esto creaba una ola de contaminación que al pasar del tiempo afectan el ecosistema.

Hoy en día existen un sin número de alternativas para darle un uso al estiércol bovino, tales como: biofertilizantes líquidos, abonos, transformación por medio de una fermentación anaerobia se puede producir biogás de forma natural y como estos ejemplos, existen más formas de transformar este inóculo, pero el objetivo principal de estos proyectos es beneficiar al consumidor, al suelo e incluso y más importante es amigable con el medio ambiente.

Hay que mencionar, además que los biofertilizantes son componentes vitales de los sistemas sostenibles dado que constituyen medios económicamente activos y ecológicamente aceptables para reducir los insumos químicos, mejorando la calidad y cantidad de los cultivos. Teniendo en cuenta que cada biofertilizante puede variar en componentes, preparación, nutrientes que aportan al suelo y su funcionalidad, pero todos los biofertilizantes orgánicos tienen el mismo proceso de transformación llamado fermentación, en el que se conoce a través de estudios científicos que actúan un consorcio de microorganismos (benéficos o patógenos), su reproducción y diseminación dependerá ampliamente del ambiente en el que se desarrollan.

La importancia que existe en el equilibrio del ecosistema, al punto anterior, donde se hace mención de un consorcio de microorganismos ya sean benéficos o patógenos. La importancia de un ecosistema equilibrado es la interdependencia entre los elementos que integran el ambiente y que permite la existencia y desarrollo del humano, dicho de otra manera, las bacterias enteropatógenas forman parte de esta interdependencia, reciben este nombre por la localización en la que se encuentran, en el tubo digestivo como saprofitos, y

es muy común que se formen en la flora intestinal de animales y personas, es necesario recalcar que en la agricultura hay ciertos tipos de microorganismos que surgen por distintos vehículos de transporte.

En la agricultura los enteropatógenos bacterianos, no deben estar presentes de ninguna manera y mucho menos por un periodo prolongado de tiempo, ya que pueden infectar los cultivos. Pero para poder combatirlos es importante tener el conocimiento de cuáles son los enteropatógenos más comunes: *Escherichia coli*, *Shiguella* y *Salmonella*, conociendo sus nombres es vital estar al tanto del funcionamiento y la capacidad con que estos se adaptan a los diferentes ambientes, la funcionalidad de dichos patógenos está incluido, en el desarrollo del marco teórico de la presente monografía con nombre de encabezado Microorganismos enteropatógenos.

Indiscutiblemente, en este punto es importante que todo se controle con sigilo, debido a que un biofertilizante orgánico manipulado inadecuadamente, es muy probable que de origen a enfermedades. Estudios realizados sobre la preparación de los biofertilizantes y su aplicación de estiércol han señalado, una creciente fertilidad en los suelos desde la aplicación de biofertilizantes orgánicos, los mismos estudios han descubierto la existencia de enteropatógenos, por más mínima que sea, la pregunta es cuestión sería ¿cómo inciden en la salud pública y como lo tratamos para reducir su propagación?, preguntas que deben ser contestadas con el objetivo de generar seguridad y calidad al producto terminado, evitando de este forma que en un tiempo considerable, aparezcan problemas de salud y ambiente.

Por otra parte, investigaciones han dado la alternativa de aplicación de Temperaturas ( $T^{\circ}$ ) elevadas y que se mantengan por un periodo prolongado de tiempo, a fin de que estos enteropatógenos disminuyan considerablemente, aunque es una buena alternativa, no debemos confiar ciegamente en esta técnica, debido a que existen enteropatógenos que poseen un umbral térmico más alto que otros, dicho de otra manera, sería muy difícil eliminarlos a una totalidad aun con altas temperaturas.

En conclusión, es importante realizar análisis microbiológicos a los elementos o compuestos de estos biofertilizantes de origen natural, específicamente a aquellos que dentro de sus elementos incluyan estiércol, con el propósito de determinar la calidad

sanitaria y ambiental con la que este producto final, beneficiara o perjudicara al ser humano y el ecosistema.

## **XI. RECOMENDACIONES**

Llevar a cabo, la realización de un estudio experimental en el que la muestra o inóculo para dicho estudio sea el estiércol como inóculo, con la finalidad de estudiar los microorganismos existentes y su comportamiento para poder determinar la raíz o la localización de estos patógenos. A su vez, repetir este procedimiento con el biofertilizante ya elaborado, a fin de verificar si aún hay existencia de patógenos al final de todo el proceso.

Estudiar a nivel científico, los tiempos de permanencia de las bacterias enteropatógenas encontradas en el cultivo o muestra.

Realizar capacitaciones o charlas a productores donde el tema central sea, dar a conocer las capacidades de supervivencia o adaptabilidad en los distintos ambientes que poseen los enteropatógenos.

Manejos rigurosos de las normas de bioseguridad en todo tiempo, desde la recolección de muestras hasta el análisis de resultados.

A nivel informativo, seguir indagando las incidencias que pueden causar la aparición de patógenos en los cultivos.

## XII. ANEXOS

### Fichas Bibliográficas

En las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultraestructura bacteriana, lográndose una identificación bioquímica de muchas fracciones subcelulares; estos avances han permitido ubicar a las bacterias en el reino Procaryotae.

M, Pírez y M, Mota. (S, f)

Los microorganismos benéficos tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, descomponer residuos orgánicos, degradar pesticidas y otros elementos contaminantes, suprimir enfermedades (patógenos) de las plantas generados en el suelo y fortalecer el ciclo de los nutrientes. Rostrán, J. (2016).

Las enfermedades de transmisión alimentaria constituyen un grave problema de salud pública a nivel mundial; entre sus causas más frecuentes se encuentran los patógenos bacterianos, los cuales generan desde síntomas gastrointestinales hasta complicaciones que pueden conducir a la muerte.

Z, Soto., L, Pérez et al, (2016). Colombia

La aplicación foliar es la nutrición a través de las hojas, se utiliza como un complemento de la fertilización al suelo, consiste en aplicar el fertilizante en forma de lluvia (por aspersión) a las hojas de la planta, la gran ventaja es que al entrar el producto en contacto con las hojas se absorbe de forma inmediata y los resultados pueden observarse en menos tiempo.

Estiércol de vaca: Aporta las grandes cantidades de microorganismo (M.O fresca), para que ocurra la fermentación, aporta nitrógeno y su microbiología tiene la característica facultativa de desarrollarse tanto en condiciones aeróbica como anaeróbica.

J, Rostrán y T, Tajiri. (2016)

El estiércol del ganado bovino contiene grandes cantidades de microorganismos potencialmente patógenos como bacterias, virus y parásitos

Dungan, (2010).

Los sistemas miniaturizados API son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas.

BioMérieux (2010).

**API (Analytical Profile Index) 20E** es un panel bioquímico para la identificación y diferenciación de miembros de la familia Enterobacteriaceae. Por tanto, es un método bien establecido para la identificación manual de microorganismos a nivel de especie.

Sagar Aryal (2019).

Los principales avances en los ensayos de detección de patógenos en alimentos, basados en ácidos nucleicos, se produjeron a partir de 1980. Los primeros métodos de identificación molecular fueron la hibridación ADN-ADN, el análisis de secuencias del ADNr 16S, la hibridación con una sonda específica y el análisis RFLP o ribo-tipificación.

Y, González. (2014)

Muchos ensayos de PCR en tiempo real se han desarrollado para patógenos de origen alimentario, ofreciendo una detección rápida, sensible y específica de una serie de agentes patógenos, tras el cultivo de enriquecimiento, así como su cuantificación. Las ventajas de estos ensayos, junto con su facilidad de uso y la susceptibilidad a la automatización los hacen muy atractivos para su aplicación en alimentos, con el fin de superar la larga etapa de cultivo de enriquecimiento. Es posible que la investigación y la evolución en este campo crezcan y conduzcan a ensayos de detección; rápidos, específicos y sensibles, que se puedan realizar directamente en muestras de alimentos en un futuro próximo.

C, Palomino. (2014)

La identificación de los patógenos de transmisión alimentaria mediante métodos moleculares se ha vuelto cada vez más popular en aspectos de calidad y seguridad, y en la producción de alimentos, debido a que estas técnicas suelen ofrecer muchas ventajas. La PCR, una de las técnicas más utilizadas en la detección e identificación de bacterias causantes de ETA, es fiel exponente de tales alcances; presenta rapidez, buen límite de detección, especificidad y sensibilidad, fácil automatización y capacidad de procesamiento de grandes cantidades de muestras.

Wondwossen (2007).

La enfermedad transmitida por alimentos (ETA) es el síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua que contienen agentes etiológicos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor.

Z, Soto. (2016)

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ETA constituyen uno de los problemas sanitarios más comunes que aquejan la salud de las personas en el mundo, y afectan con mayor severidad a niños, mujeres embarazadas, ancianos y personas con otros padecimientos.

L, Pérez. (2016)

El control virológico del medio ambiente es un proceso complejo debido a la dificultad de identificar concentraciones normalmente pequeñas de virus diversos pertenecientes a diferentes familias y que están dispersos en grandes volúmenes de agua, biosólidos o en otro tipo de muestras ambientales.

S, Bofill. (s, f)

Las bacterias de la flora intestinal se movilizan para ayudar al organismo a liberarse de las invasoras y defender su hábitat que ya ha sido conquistado y colonizado, una reciente investigación de la Universidad de Michigan, en EE. UU, muestra que **las bacterias habituales en el tracto digestivo de las personas compiten contra bacterias invasoras como las bacterias patógenas, para ayudar a que el organismo las rechace.**

M, Pelayo. (2012)



## BIBLIOGRAFÍA

- (FOA), O. d. (2015). *Agricultura sostenible y biodiversidad*. LA REPÚBLICA UNIDA DE TANZANÍA: FAO :: Sala de prensa . Obtenido de <http://www.fao.org/3/i6602s/i6602s.pdf>
- al, M. e. (2007).
- al, S. e. (2004). *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000300020](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020)
- Arora. (2010). *Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Aryal, S. (2019). Prueba Api indice de perfil analitico 20E: Procedimiento, usos e interpretacion . *microbiology*. Obtenido de <https://microbiologyinfo.com/api-20e-test/>
- Aryal, S. (2019). *Sistemas miniaturizados* . Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_SistemasAPI.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf)
- Asakura, C. c. (2009 ). *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322016000300047](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000300047)
- Baca. (2010). Microorganismos beneficos para el suelo . *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* .
- Barcnas. (2016). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* . Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Bargaz. (2018). *www.unan.edu.ni* . Obtenido de Repositorio UNAN: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Barquero L C, & M. (2007). Informe de vigilancia tecnologica ( Bogota - Colombia). *Intituto golombiano para el Desarrollo de las Ciencia y Tegnologia ( COLCIENCIAS, 45*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/9098/1/98683.pdf>
- Berger. (2010). Obtenido de file:///C:/Users/Vielka/Downloads/valeria\_sias,+Journal+editor,+art-5.pdf
- BioMérieux. (2010). *Sistemas miniaturizados API*. Api web. Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_SistemasAPI.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf)
- Bonilla. (2010). Microorganismos que mejoran la calidad del cultivo y del suelo. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* . Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Burgs. (2015). ¿Que es una API y para que sirve? Obtenido de <https://www.abc.es/tecnologia/consultorio/20150216/abci--201502132105.html?ref=https://www.google.com/>

- C, P. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000300020](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020)
- Cantanhede. (2002). Microorganismos presentes en el compost . 7. Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>
- Chaudhary. (mayo de 2017). *www.unan.edu.ni* . (R. d. Mendoza, Editor) Obtenido de Repositorio Unan: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- COFA. (2014). Estiércol de vaca, reservorio de bacterias resistentes a antibióticos. Obtenido de <http://www.cofa.org.ar/?p=7044>
- composting, G. c. (2002). *Digital Zamorano*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6199/1/IAD-2017-049.pdf>
- Condalab. (15 de mayo de 2019). *Condalab*. Obtenido de [file:///C:/Users/Vielka/Downloads/0900\\_es\\_1.pdf](file:///C:/Users/Vielka/Downloads/0900_es_1.pdf)
- D, A. (2016). Patogenos .
- Dickinson, B. (Julio, 2014). *BD MacConkey II Agar* . Obtenido de <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
- Dungan. (2010). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322016000300047](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000300047)
- Escobar. (2015). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- F, C. (2019). *Repositorio Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/11073/1/11204.pdf.pdf>
- FAO. (2000). Microorganismos presentes en el compost.
- Fernandez. (2000). Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/68749/DCARN-RLOJ-0218.pdf?sequence=1>
- Fernandez Ortuño, e. a. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *International Journal of Food Microbiology (CYP51C.)*, 144. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Forbes. (2015). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Garity. (2003). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Ghamry, E. (2018). *Repositorio UNAN*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Gonzalez. (2004). Migroorganismos de patogenos . Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>

- Hermann. (2015). *Repositorio Unan*. (J. O'Connor, Ed.) Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Informacion, A. . (2019). *Nutricion Foliar Tomo (N° 25)*. Obtenido de [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/2607C656965830608525801200607C31/\\$FILE/Art%202.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/2607C656965830608525801200607C31/$FILE/Art%202.pdf)
- L, P. (2016 ). *Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos* . Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
- Laura, R. (2016). *Repositorio Institucional* . Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/68749>
- Lesueur. (2016). *Repositorio UNAN*. (J. O'connor, Ed.) Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Mahanty. (agosto de 2017). *Repositorio Unan*. Obtenido de [www.unan.edu.ni](http://www.unan.edu.ni) Portal virtual : <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Maite, P. (2012). Bacterias patógenas: cómo invaden el organismo. Obtenido de <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/bacterias-patogenas-como-invaden-el-organismo.html>
- Mateo, P. y. (2005). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Mayer, S. (2010). *Digital Zamorano*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6199/1/IAD-2017-049.pdf>
- Mendoza, J. L. (Octubre de 2019). *www.unan.edu.ni* . Obtenido de Repositorio Unan: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Mota, P. y. (s,f). Genetica bacteriana.
- Nicaragua, A. N. (03 de julio de 2013). *Normas Juridicas de Nicaragua*. (L. Gaceta, Ed.) Obtenido de <http://legislacion.asamblea.gob.ni/>: <http://legislacion.asamblea.gob.ni/normaweb.nsf/3133c0d121ea3897062568a1005e0f89/32d6ad99d191b0fe06257bc200799142?OpenDocument>
- Ocaña. (2016). *Repositorio Institucional*. Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/68749>
- Pilar, C. (s,f). Efectos sobre la salud de la contaminacion de agua y alimentos por virus emergentes humanos. Obtenido de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272005000200012](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272005000200012)
- Report, B. (2000). Microorganismos presentes en el compost. 7. Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>
- Requenez Eduardo, B. E. (2019). *Repositorio Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/11073/1/11204.pdf.pdf>

- Ribera, B. J. (2011). Guía para la preparación y uso del biol("SEGURIDAD ALIMENTARIA Y DESARROLLO ECONÓMICO LOCAL). *Centro de Multiservicios Educativos -CEMSE*, 1, 3-11. Obtenido de <http://saludpublica.bvsp.org.bo/cc/bo40.1/documentos/676.pdf>
- Rodriguez. (2010). (N. d. Masís, Ed.) Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Rodríguez Torrens, H. B. (2015). ETA enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista electronica de veterinaria*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63641401002.pdf>
- Rodriguez, F. (2019). *Realizacion de un API 20E*. Obtenido de <https://www.franzmn.com/realizacion-de-un-api-20e/>
- Romero, C. (2015). (D. K. Zeledón, Ed.) Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Rostran. (2016). *Repositorio UNAN*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/9098/1/98683.pdf>
- Ruben. (2016). *Microorganismos Enteropatogenos* .
- Salamanca, U. d. (s,f). Seguridad y calidad alimentaria . Obtenido de [http://coli.usal.es/web/demos/demo\\_fundacua/Shigella/shigella.html](http://coli.usal.es/web/demos/demo_fundacua/Shigella/shigella.html)
- Sampieri, H. (2000). Metodología. Obtenido de [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lco/mendez\\_r\\_jj/capitulo4.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lco/mendez_r_jj/capitulo4.pdf)
- Sandoval. (2015).
- Silvia, B. (s,f). *Scielo* . Obtenido de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272005000200012](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272005000200012)
- Viera, M. &. (2002). BIOFERTILIZANTES, UNA ALTERNATIVA PROMISORIA PARA LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas ( CUBA )*, 1, 45-56.
- Wondwossen. (2007).
- Z, S. (2016). *Bacterias causantes de enfermedades*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>

## REFERENCIAS

- (FOA), O. d. (2015). *Agricultura sostenible y biodiversidad*. LA REPÚBLICA UNIDA DE TANZANÍA: FAO :: Sala de prensa . Obtenido de <http://www.fao.org/3/i6602s/i6602s.pdf>
- al, M. e. (2007).
- al, S. e. (2004). *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000300020](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020)
- Arora. (2010). *Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>

- Aryal, S. (2019). Prueba Api indice de perfil analitico 20E: Procedimiento, usos e interpretacion . *microbiology*. Obtenido de <https://microbiologyinfo.com/api-20e-test/>
- Aryal, S. (2019). *Sistemas miniaturizados* . Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_SistemasAPI.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf)
- Asakura, C. c. (2009 ). *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322016000300047](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000300047)
- Baca. (2010). Microorganismos beneficos para el suelo . *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* .
- Barcenas. (2016). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* . Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Bargaz. (2018). *www.unan.edu. ni* . Obtenido de Repositorio UNAN: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Barquero L C, & M. (2007). Informe de vigilancia tecnologica ( Bogota - Colombia). *Intituto golombiano para el Desarrollo de las Ciencia y Tegnologia ( COLCIENCIAS, 45*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/9098/1/98683.pdf>
- Berger. (2010). Obtenido de [file:///C:/Users/Vielka/Downloads/valeria\\_sias,+Journal+editor,+art-5.pdf](file:///C:/Users/Vielka/Downloads/valeria_sias,+Journal+editor,+art-5.pdf)
- BioMérieux. (2010). *Sistemas miniaturizados API*. Api web. Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_SistemasAPI.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf)
- Bonilla. (2010). Microorganismos que mejoran la calidad del cultivo y del suelo. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* . Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Burgs. (2015). ¿Que es una API y para que sirve? Obtenido de <https://www.abc.es/tecnologia/consultorio/20150216/abci--201502132105.html?ref=https://www.google.com/>
- C, P. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Scielo* . Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342014000300020](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020)
- Cantanhede. (2002). Microorganismos presentes en el compost . 7. Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>
- Chaudhary. (mayo de 2017). *www.unan.edu.ni* . (R. d. Mendoza, Editor) Obtenido de Repositorio Unan: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- COFA. (2014). Estiércol de vaca, reservorio de bacterias resistentes a antibióticos. Obtenido de <http://www.cofa.org.ar/?p=7044>

- composting, G. c. (2002). *Digital Zamorano*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6199/1/IAD-2017-049.pdf>
- Condalab. (15 de mayo de 2019). *Condalab*. Obtenido de [file:///C:/Users/Vielka/Downloads/0900\\_es\\_1.pdf](file:///C:/Users/Vielka/Downloads/0900_es_1.pdf)
- D, A. (2016). Patogenos .
- Dickinson, B. (Julio, 2014). *BD MacConkey II Agar* . Obtenido de <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
- Dungan. (2010). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322016000300047](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322016000300047)
- Escobar. (2015). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- F, C. (2019). *Repositorio Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/11073/1/11204.pdf.pdf>
- FAO. (2000). Microorganismos presentes en el compost.
- Fernandez. (2000). Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/68749/DCARN-RLOJ-0218.pdf?sequence=1>
- Fernandez Ortuño, e. a. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *International Journal of Food Microbiology (CYP51C.)*, 144. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945029007.pdf>
- Forbes. (2015). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Garrity. (2003). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Ghamry, E. (2018). *Repositorio UNAN*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Gonzalez. (2004). Migroorganismos de patogenos . Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>
- Hermann. (2015). *Repositorio Unan*. (J. O'Connor, Ed.) Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Informacion, A. . (2019). *Nutricion Foliar Tomo (N° 25)*. Obtenido de [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/2607C656965830608525801200607C31/\\$FILE/Art%202.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/2607C656965830608525801200607C31/$FILE/Art%202.pdf)
- L, P. (2016 ). *Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos* . Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
- Laura, R. (2016). *Repositorio Institucional* . Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/68749>
- Lesueur. (2016). *Repositorio UNAN*. (J. O'connor, Ed.) Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>

- Mahanty. (agosto de 2017). *Repositorio Unan*. Obtenido de [www.unan.edu.ni](http://www.unan.edu.ni) Portal virtual : <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Maite, P. (2012). Bacterias patógenas: cómo invaden el organismo. Obtenido de <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/bacterias-patogenas-como-invaden-el-organismo.html>
- Mateo, P. y. (2005). Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Mayer, S. (2010). *Digital Zamorano*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6199/1/IAD-2017-049.pdf>
- Mendoza, J. L. (Octubre de 2019). *www.unan.edu.ni*. Obtenido de Repositorio Unan: <https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS%20DESARROLLO%20DE%20CONSORCIO%20BIOFERTILIZANTE.JO.%20Empastado.pdf>
- Mota, P. y. (s,f). Genética bacteriana.
- Nicaragua, A. N. (03 de julio de 2013). *Normas Jurídicas de Nicaragua*. (L. Gaceta, Ed.) Obtenido de <http://legislacion.asamblea.gob.ni/>: <http://legislacion.asamblea.gob.ni/normaweb.nsf/3133c0d121ea3897062568a1005e0f89/32d6ad99d191b0fe06257bc200799142?OpenDocument>
- Ocaña. (2016). *Repositorio Institucional*. Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/68749>
- Pilar, C. (s,f). Efectos sobre la salud de la contaminación de agua y alimentos por virus emergentes humanos. Obtenido de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272005000200012](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272005000200012)
- Report, B. (2000). Microorganismos presentes en el compost. 7. Obtenido de <http://ama.redciencia.cu/articulos/7.01.pdf>
- Requenez Eduardo, B. E. (2019). *Repositorio Unan*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/11073/1/11204.pdf>
- Ribera, B. J. (2011). Guía para la preparación y uso del biol (“SEGURIDAD ALIMENTARIA Y DESARROLLO ECONÓMICO LOCAL”). *Centro de Multiservicios Educativos -CEMSE, 1*, 3-11. Obtenido de <http://saludpublica.bvsp.org.bo/cc/bo40.1/documentos/676.pdf>
- Rodriguez. (2010). (N. d. Masís, Ed.) Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Rodríguez Torrens, H. B. (2015). ETA enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista electronica de veterinaria*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63641401002.pdf>
- Rodriguez, F. (2019). *Realizacion de un API 20E*. Obtenido de <https://www.franzmn.com/realizacion-de-un-api-20e/>
- Romero, C. (2015). (D. K. Zeledón, Ed.) Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/53103315.pdf>
- Rostran. (2016). *Repositorio UNAN*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/9098/1/98683.pdf>
- Ruben. (2016). *Microorganismos Enteropatógenos*.

- Salamanca, U. d. (s,f). Seguridad y calidad alimentaria . Obtenido de [http://coli.usal.es/web/demos/demo\\_fundacua/Shigella/shigella.html](http://coli.usal.es/web/demos/demo_fundacua/Shigella/shigella.html)
- Sampieri, H. (2000). Metodología. Obtenido de [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lco/mendez\\_r\\_jj/capitulo4.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lco/mendez_r_jj/capitulo4.pdf)
- Sandoval. (2015).
- Silvia, B. (s,f). *Scielo* . Obtenido de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272005000200012](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272005000200012)
- Viera, M. &. (2002). BIOFERTILIZANTES, UNA ALTERNATIVA PROMISORIA PARA LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas ( CUBA )*, 1, 45-56.
- Wondwossen. (2007).
- Z, S. (2016). *Bacterias causantes de enfermedades*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
- Perez, G (2019). Sensibilidad de Escherichia Coli obtenida de Uro cultivos en pacientes de 11 a 40 años de edad. *Universidad técnica de Machala* [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/14687/1/E-11264\\_PEREZ%20CEDILLO%20GLENDA%20ESTEFANIA.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/14687/1/E-11264_PEREZ%20CEDILLO%20GLENDA%20ESTEFANIA.pdf)
- Flores, A y Escolástica, L (S, f). *Caracterización fenotípica y genotípica de estirpes de Salmonella Choleraesuis aisladas de ambientes marinos*. [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/flores\\_al/antec.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/flores_al/antec.pdf)