

Artículo Original

Bacteriología

Kasmera 47(2):115-122, Julio-Diciembre, 2019

P-ISSN 0075-5222 E-ISSN 2477-9628

 <https://doi.org/10.5281/zenodo.3520530>



Prevalencia de cepas del grupo de *Bacillus cereus* productoras de biopelícula en helados comercializados en México

Prevalence of strains of the Bacillus cereus group biofilm producers in ice cream in Mexico

Adame-Gomez Roberto ¹, Castro Alarcón Natividad ², Vences-Velázquez Amalia ³, Rodríguez-Bataz Elvia ⁴, Santiago-Dionisio María Cristina ⁵, Ramírez-Peralta Arturo  ¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Patometabolismo Microbiano. Guerrero, México.

²Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Microbiología. Guerrero, México. ³Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Inmunobiología y Diagnóstico Molecular. Guerrero, México.

⁴Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Parasitología. Guerrero, México. ⁵Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Análisis Microbiológicos. Guerrero, México.

Resumen

El helado es un vehículo para la transmisión de patógenos como *Bacillus cereus*. Por lo cual, se determinó la frecuencia de cepas del grupo *Bacillus cereus* en helados, perfil enterotoxigénico, psicofilia y producción de biopelícula. Un total de 230 muestras de seis marcas de helado de producción y distribución nacional fueron colectadas en México. El análisis microbiológico incluyó aislamiento en agar manitol yema de huevo. Las cepas se identificaron molecularmente a partir de la amplificación del gen de la topoisomerasa (*gyrB*) y el perfil enterotoxigénico por la amplificación de regiones conservadas de los operones *nheABC* y *hblABD* y del gen *cytK*. Además, se determinó la producción de biopelícula en vidrio y policloruro de vinilo. La frecuencia de contaminación por cepas del grupo *B. cereus* fue de 3,6%, se encontró una cepa positiva para *nheABC* y cinco para *cytK*, el 87,5% de las cepas generó biopelícula en vidrio y todas en policloruro de vinilo, dos cepas fueron psicofílicas. En conclusión, en el helado distribuido en México, se encontró una baja contaminación por cepas del grupo *B. cereus* con alta producción de biopelícula; sin embargo, no se debe subestimar el potencial enterotoxigénico de estas cepas.

Palabras claves: *Bacillus cereus*, factores de virulencia, helado

Abstract

Ice cream is a medium for microbial growth due to its nutritional value and neutral pH. Therefore, the frequency of strains of the *Bacillus cereus* group in ice cream was determined, the enterotoxigenic profile, psychophilic strains and biofilm production. A total of 230 samples of six brands of ice cream produced and distributed nationwide were collected in Mexico. The microbiological analysis was a cold pre-enrichment and isolation of the microorganism in egg yolk agar. The strains were identified molecularly from the amplification of the topoisomerase gene (*gyrB*) and the enterotoxigenic profile by the amplification of conserved regions of the *nheABC* and *hblABD* operons and of the *cytK* gene. In addition, the production of biofilm in glass and polyvinyl chloride and psychophilia was determined. The frequency of contamination by strains of the *B. cereus* group was 3.6%, a positive strain was found for *nheABC* and five for *cytK*, 87.5% of the strains generated biofilm in glass and all in polyvinyl chloride, two strains were psychophilic. In the ice cream distributed in Mexico, a low contamination by strain of the *B. cereus* group was found, however, the enterotoxigenic potential of the strains should not be underestimated.

Keywords: *Bacillus cereus*, virulence factor, ice cream

Recibido: 19/07/2019

Aceptado: 23/09/2019

Publicación en línea: 26/09/2019

Como Citar: Adame-Gomez Roberto, Castro Alarcón Natividad, Vences-Velázquez Amalia, Rodríguez-Bataz, Elvia, Santiago-Dionisio María Cristina, Ramírez-Peralta Arturo. Prevalencia de cepas del grupo de *Bacillus cereus* productoras de biopelícula en helados comercializados en México. *Kasmera*. 2019;47(2):115-122. doi: 10.5281/zenodo.3520530

Autor de Correspondencia: Ramírez-Peralta Arturo. E-mail: ramirezperaltauagro@gmail.com

Una lista completa con la información detallada de los autores está disponible al final del artículo.

©2019. Los Autores. **Kasmera**. Publicación del Departamento de Enfermedades Infecciosas y Tropicales de la Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo-Venezuela. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons atribución no comercial (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre y cuando la obra original sea debidamente citada.



Introducción

El helado es un buen medio para el crecimiento microbiano y la transmisión de patógenos debido a su alto valor nutricional, un pH casi neutro (6 a 7) y una vida media de anaquel prolongada (1). La pasteurización, congelamiento y pasos de endurecimiento durante la producción pueden eliminar los peligros microbiológicos (2). Sin embargo, un estudio en el 2006, ha descrito la formación de biopelícula en una planta de producción de helado y la relaciona como una fuente importante de contaminación durante la producción del helado y destaca la presencia de microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) y especies de *Shigella*; también describe la presencia de otros microorganismos, incluido el género *Bacillus* (3). Además, este alimento se puede contaminar una vez ya elaborado por microorganismos tanto psicrófilos como psicrófilos incluidos *Bacillus cereus* (*B. cereus*) y aumentar en número a niveles de riesgo sanitario (4).

El grupo *B. cereus* está formado por 6 especies bacterianas estrechamente relacionadas entre sí: *B. cereus sensu stricto*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* y *B. weihentephanensis* (5,6).

Algunas especies del grupo *B. cereus* pueden producir intoxicación alimentaria por la producción de diferentes toxinas, entre ellas: la cereulida, toxina termoestable, resistente a pH ácido y a proteasas (7). Esta toxina causa la estimulación del nervio vago aferente a través de la unión al receptor 5-HT3 de serotonina, originando el síndrome emélico caracterizado por náuseas y vómito. Los principales alimentos relacionados son arroz, pastas y productos lácteos; considerándose la presencia de la toxina preformada en el alimento suficiente para causar la enfermedad (8,9).

En contraste, las toxinas diarreogénicas, como la hemolisina BL (HBL), enterotoxina no hemolítica (NHE) y citotoxina K (CYTK) son producidas durante el crecimiento vegetativo de la bacteria en el intestino delgado (10). Las enterotoxinas HBL y NHE están constituidas por tres subunidades; L2, L1, B y NHEA, NHEB, NHEC respectivamente. En tanto que la citotoxina K (CYTK) está constituida por una sola proteína miembro de la familia de barriles β (11). Las tres toxinas tienen actividad lítica contra enterocitos, el mecanismo se desconoce con precisión; sin embargo, se sugiere la formación de poros en la membrana lipídica de las células, lo que conduce a la lisis osmótica (7,12).

En el 2016, en Estados Unidos de América, se reportaron 6 intoxicaciones alimentarias causadas por *B. cereus*, con un total de 340 enfermos confirmados sin llegar a hospitalización (13); mientras tanto, en México se desconocen las cifras de este microorganismo debido a que actualmente no se encuentra dentro de la legislación sanitaria y por lo tanto no se busca o reporta.

En la actualidad, una gran diversidad de metodologías se han implementado para la determinación de *L.*

monocytogenes como contaminante de helado debido a su capacidad de adaptación al frío y la producción de biopelícula (14,15); sin embargo, *B. cereus* solo se ha reportado en helados en un estudio en Turquía (16), aun cuando también en este microorganismo se ha descrito ambas características (17-21); considerándose la producción de biopelícula en *B. cereus* un problema en la industria de productos frescos, carne roja, así como, lácteos y sus derivados (22). Por lo cual, en este estudio se determinó la frecuencia de cepas del grupo *B. cereus*, además, el perfil enterotoxigénico, psicrofilia y producción de biopelícula en las cepas aisladas.

Métodos

Diseño de la investigación y población: este estudio es de tipo transversal descriptivo con un total de 230 muestras de helado de seis marcas diferentes que fueron colectadas en una ciudad al suroeste de México desde enero hasta junio de 2018. Destacando que todos los productores son nacionales y todas las marcas se distribuyen en todo el país. De cada marca se colectaron un total de 40 muestras (Marca I, II, V y VI), con excepciones en la marca III en la cual se colectaron 50 muestras y la marca IV solo 20, la cantidad de muestras estuvo relacionado con la disponibilidad y cantidad de sabores ofrecidos. Todas las muestras fueron inmediatamente transportadas al laboratorio en hielera (4 a 8°C) y se mantuvieron a 4°C hasta el análisis. El análisis inicio inmediatamente después del transporte al laboratorio.

Análisis microbiológico: el análisis microbiológico se limitó a un método de pre-enriquecimiento en frío para la búsqueda de cepas psicrófilas del grupo *B. cereus*. Para este método, se tomaron de manera aséptica 25 g de muestra en una báscula digital (OHAUS, CS200, México) y se diluyeron con 225 ml de solución salina peptonada al 5%, la mezcla resultante fue incubada en una incubadora (Quincy Lab® 140E, EUA) por 24 h a 4°C. Transcurrido el tiempo, 0,1 ml fueron inoculados por el método de dispersión en placa en Agar Manitol Yema de Huevo-Polimixina (MYP) (BD DIFCO®, Francia). Las placas fueron incubadas por 24 h a 30°C. Se consideraron como sospechosas de *B. cereus* (de acuerdo a la norma ISO 7932-2004) (23), todas las colonias rosas con un halo opaco y se confirmaron por beta hemólisis en agar soya tripticasa (AST) (BD BIOXON®, México) suplementado con sangre de cordero al 5%. Las cepas fueron conservadas en caldo Luria Bertani (LB) (BD BIOXON, México) al 20% de glicerol y se les asignó un identificador de acuerdo al orden de conservación iniciando con la letra B.

Identificación molecular de cepas del grupo *B. cereus*: Para la obtención de ADN cromosomal bacteriano se utilizó la técnica de choque térmico. En corto, las células de una colonia fueron suspendidas en agua estéril, calentadas a 95°C por 3 minutos y enseguida colocadas en hielo. Después de la centrifugación, los sobrenadantes fueron usados como templado (24), tanto para la identificación molecular del grupo *B. cereus*, como para el perfil de toxinas. La identificación molecular se realizó

por PCR con la amplificación de una región del gen de la topoisomerasa (*gyrB*) utilizando los oligonucleótidos descritos por Wei y col. (25) que permite la identificación de cepas del grupo de *B. cereus* y la diferenciación de *B. subtilis*. La mezcla final de cada reacción de PCR contenía 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM MgCl₂, 0,2 μM de los iniciadores, 1 U de Taq DNA polimerasa (Ampliqon®, Dinamarca), 5 μl de Buffer 10X y 1 μl de ADN como templado. El protocolo de PCR consistió en una desnaturalización de 15 minutos a 95°C, seguido de 30 ciclos a 95°C por 30 s, a 52°C por un minuto y a 72°C por 30 s y una elongación final a 72°C por dos minutos. La electroforesis se realizó en geles de agarosa al 2% a 80V por 45 minutos. Los geles fueron teñidos con Midori Green (Nippon Genetics®, Alemania) y visualizados con luz LED. Se utilizó la cepa de *B. cereus* ATCC 14579 como control positivo y como control negativo una cepa de *B. subtilis*.

Determinación de genes de toxinas diarreogénicas de *B. cereus*: se determinó a partir de la amplificación por PCR de regiones conservadas de los operones *nheABC* y *hblABD* que codifican para la enterotoxina no hemolítica y la hemolisina BL, respectivamente, descritas anteriormente por Ehling-Schulz y col. (26). La mezcla final de cada reacción de PCR contenía 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM MgCl₂, 0,2 μM de los iniciadores *nheF*- AAG CIG CTC TTC GIA TTC y *nheR*- ITI GIT GAA ATA AGC TGT GG o *hblF*- GTA AAT TAI GAT GAI CAA TTT C y *hblR*- AGA ATA GGC ATT CAT AGA TT; 1 U de Taq DNA polimerasa (Ampliqon, Dinamarca), 5 μl de 10X Buffer y 1 μl de ADN como templado. El protocolo de PCR consistió en una desnaturalización inicial de 15 minutos a 95°C, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30 s, 49°C por un minuto y a 72°C por un minuto, y una elongación final a 72°C por cinco minutos.

En el caso del gen *cytK* y de la región *plcR*, se realizó por PCR en punto final descrita por Oltuszek-Walczak y Walczak (27) con las siguientes condiciones de reacción: 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM MgCl₂, 0,2 μM de los iniciadores P1- CAA AAC TCT ATG CAA TTA TGC AT, P2- AAA ATG TTT AGC ATT ATC CGC TGT y P3- ACC AGT TGT ATT AAT AAC GGC AAT C; 1 U de Taq DNA polimerasa (Ampliqon, Dinamarca), 5 μl de Buffer10X y 1 μl de ADN como templado. El protocolo de PCR consistió en una desnaturalización inicial de 15 minutos a 95°C, seguido de 30 ciclos a 95°C por 30 s, a 52°C por un minuto y 72°C por 30 s, y una elongación final a 72°C por dos minutos. La electroforesis se realizó en geles de agarosa al 2% a 80V por 45 minutos. Los geles fueron teñidos con Midori Green (Nippon Genetics, Alemania) y visualizados con luz LED. Se utilizó la cepa de *B. cereus* ATCC 14579 como control positivo y como control negativo una cepa de *B. subtilis*.

Determinación de biopelícula en vidrio y policloruro de vinilo (PVC): la biopelícula estática fue determinada en cupones de PVC, los cuales fueron colocados dentro de tubos de vidrio. Los cupones fueron pretratados para remover la suciedad y otros componentes orgánicos de acuerdo a lo descrito por Castelijin y col. (28). Las biopelículas se generaron en caldo BHI debido a que este promueve la formación de gran cantidad de biopelícula

en comparación a otros medios para cepas de *B. cereus* aisladas de alimentos (29). Además, el caldo BHI fue suplementado con glucosa en una concentración final del 2%. Cada tubo de vidrio que contenía el cupón de PVC fue llenado con 3 ml de BHI suplementado con glucosa. El caldo BHI fue inoculado con 30 μl de un cultivo de 24 horas de la respectiva cepa. Los tubos con los cupones de PVC fueron incubados a 30°C por 48 horas en condiciones estáticas. Para la determinación en vidrio, el procedimiento fue similar, pero sin los cupones de PVC.

Cuantificación de biopelícula: el ensayo de cristal violeta descrito previamente por Castelijin y col. (29), fue usado para medir la formación de biopelícula. En corto, después de la incubación, los cupones de PVC fueron cuidadosamente lavados tres veces sumergiéndolos en buffer de fosfatos salinos (PBS) (Life Technologies®, USA) usando pinzas estériles. En el caso de vidrio, a los tubos se les retiró el crecimiento decantando el cultivo y después fueron lavados tres veces con PBS. La biopelícula adherida fue teñida con una solución de cristal violeta al 0,1% (Difco®, USA) por 30 minutos. Los cupones al igual que los tubos de vidrio fueron lavados de nuevo tres veces con PBS e inmersos con etanol grado analítico al 70% por 30 minutos para liberar el cristal violeta unido a la biopelícula. El cristal violeta solubilizado fue cuantificado por medición de la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific®, GENESYS 200, USA). Los ensayos de cristal violeta fueron repetidos en tres experimentos independientes.

Análisis de características psicofílicas y producción de amilasa: todas las cepas fueron evaluadas para crecimiento psicofílico a 7 ± 1°C. Estas fueron sembradas en agar soya tripticasa e incubadas a 7 ± 1°C durante 7 días. El crecimiento fue monitoreado cada 24 horas. En el caso de la producción de amilasa, las cepas fueron sembradas en agar soya tripticasa suplementado con almidón al 1% e incubadas a 37°C durante 24 h. La degradación de almidón se evidenció agregando unas gotas de lugol al medio, la aparición de un halo amarillo alrededor de las colonias en fondo azul indica la producción de esta enzima.

Análisis estadístico: se realizó una base de datos en el programa STATA V. 12, los resultados fueron presentados en frecuencias simples.

Resultados

Del total de las muestras analizadas, la frecuencia de contaminación de *B. cereus* identificado fenotípicamente fue de 4,34% (10/230); sin embargo, al realizarse la amplificación de gen *gyrB* (Figura 1), la frecuencia disminuyó al 3,47% (8/230), encontrándose una frecuencia mayor en la marca IV [10%, (2/20)] en relación con otras marcas (Tabla 1).

Las ocho cepas aisladas de helados comerciales confirmadas como pertenecientes al grupo *B. cereus*, fueron caracterizadas con base a pruebas fenotípicas y genotípicas (Tabla 2); encontrando que solo 2 cepas (25%) del total fueron capaces de crecer a una

temperatura de 7°C. La mayoría [75%, (7/8)] formaron biopelícula en vidrio y todas las cepas fueron capaces de producirla en PVC; en cuanto a la producción de amilasa, no se encontraron cepas capaces de degradar el almidón. De acuerdo con el perfil génico de las toxinas de interés, solamente en una cepa (12,5%) se amplificó la región conservada del operón *nhe* (*nhe*⁺) (Figura 2). No se encontraron cepas en las cuales se amplificarán para el operón *hbl*⁺ y el gen de la cereulida (*ces*⁺). Cinco del total de las cepas (62,5%) amplificaron para la región del gen *cytK* incluida la caja *plcR* (Figura 3).

Tabla 1. Frecuencia de *Bacillus cereus* en helados comercializados en México

Marca	Muestras n= 230	Cepas de <i>B. cereus</i> n(%), N=8
I	40	0
II	40	1 (2,5)
III	50	3 (6)
IV	20	2 (10)
V	40	2 (5,0)
VI	40	0



Figura 1. Electroforesis en geles de agarosa de los productos de amplificación de una región del gen de la topoisomerasa (*gyrB*). Carril 1, *B. cereus* ATCC 14579. 2, B427. 3, B455. 4, B432. 5, B429. 6, B474. 7, B425. 8, B424. 9, B430. 10, B426. 11, B428. 12, *B. subtilis*. MPM. Marcador de peso molecular de 100 pb. La amplificación corresponde a un producto de 221 pb. En el caso de la amplificación débil observada en los carriles 10 y 11, las muestras se volvieron a repetir confirmándose como positivas

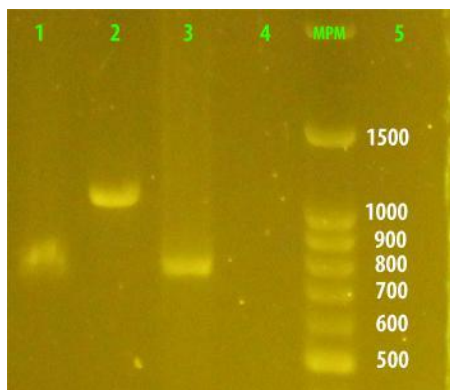


Figura 2. Electroforesis en geles de agarosa de los productos de amplificación de regiones conservadas de los operones *nheABC* y *hblABD* de *B. cereus*. Carril 1, *B. cereus nhe*⁺ (766 pb). 2, *B. cereus hbl*⁺ (1091 pb). 3 y 4, *B. cereus* B424. 5, *B. subtilis*. MPM, Marcador de peso molecular (100 pb)

Discusión

Actualmente, se ha aislado a *B. cereus* en una gran cantidad de alimentos incluidos arroz (30), alimentos listos

para su consumo (19,31,32) y productos lácteos frescos (33,34). Al menos, en los dos últimos alimentos, la refrigeración se considera como mecanismo de conservación del producto y no sufren de un proceso de cocción antes del consumo. Aun cuando el helado cumple estas últimas características, no se han encontrado reportes acerca de la presencia de *B. cereus*, aunado a las características que también este microorganismo presenta y que le permiten sobrevivir y proliferar en este tipo de productos o en las industrias en los cuales se elaboran. Dentro de las cuales, se considera la presencia de cepas tolerantes a frío o que crecen a temperaturas bajas (19), la producción de biopelícula que se ha convertido en una tema de interés en esta especie bacteriana y que podría explicar su persistencia a nivel industrial (22) y por último, la generación de esporas, como mecanismo de resistencia a tratamientos que sufren los productos alimenticios para garantizar su inocuidad (35), en el caso particular del alimento estudiado, la pasteurización (2).

En este estudio, la frecuencia de *B. cereus* en helados fue del 3,47%, la cual es baja cuando se compara con otros matrices alimenticias estudiadas como arroz (25%) (30), alimentos listos para su consumo (56,3%) (19), (35%) (31), (50,5%) (32) y productos lácteos frescos (15,9%) (33), (35%) (34). La explicación podría estar relacionada con la circulación de una baja cantidad de cepas psicófilas en las muestras de helados analizadas (solo se aislaron dos cepas psicófilas); puesto que, esta característica a bajas temperaturas es un mecanismo que permite la supervivencia y multiplicación de *B. cereus* en el producto final. Aun cuando la cantidad de cepas psicófilas es baja, se debe seguir considerando, debido a que estas cepas podrían alcanzar cantidades suficientes para causar enfermedad, en este sentido, la FDA describe que cantidades entre Log 5-8 UFC/g son suficientes para causar una intoxicación alimentaria (36). Otro factor que puede influir en la baja recuperación de este grupo bacteriano es la presencia de otros microorganismos como microbiota competitiva (37).

Otra característica fenotípica a resaltar es la formación de biopelícula en vidrio y policloruro de vinilo, lo cual podría favorecer su persistencia a nivel industrial y de esta manera contaminar el producto, considerando esta característica, diversos estudios han descrito la importancia de la biopelícula de *B. cereus* a nivel industrial, debido a que se ha observado la contaminación de tanques y ductos, lo que favorecería la contaminación sistemática del producto (22) y lo cual apoyaría la hipótesis del mecanismo por el cual, este microorganismo podría estar llegando a este producto, destacando que la producción de biopelícula podría ser incluso necesaria, debido a que la mayoría de las cepas fueron capaces de producirla en ambos materiales. Otro punto importante a considerar es que se ha reportado que cepas encontradas en biopelículas aisladas de una planta de alimentos presentaban resistencia a antibióticos y que estas podrían considerarse como un problema de salud pública al transmitirse por alimentos (38), situación similar que podría ocurrir con las cepas encontradas en este estudio.

Tabla 2. Características fenotípicas y moleculares de las cepas de *Bacillus cereus*

Cepa	Psicrofilia*	Biopelícula		<i>nhe</i>	<i>hbl</i>	<i>ces</i>	Amilasa	<i>plcR-cytK</i>
		Vidrio	PVC					
B424	-	+	+	+	-	-	-	-
B425	2	+	+	-	-	-	-	+
B426	3	+	+	-	-	-	-	+
B427	-	+	+	-	-	-	-	+
B428	-	+	+	-	-	-	-	-
B430	-	+	+	-	-	-	-	+
B432	-	-	+	-	-	-	-	-
B455	-	+	+	-	-	-	-	+

(*) Reportado en número de días en los cuales aparece crecimiento. (+) Positivo ya sea para la producción de biopelícula o la presencia de genes. (-) Negativo, sea para psicrofilia, producción de biopelícula o la presencia de genes

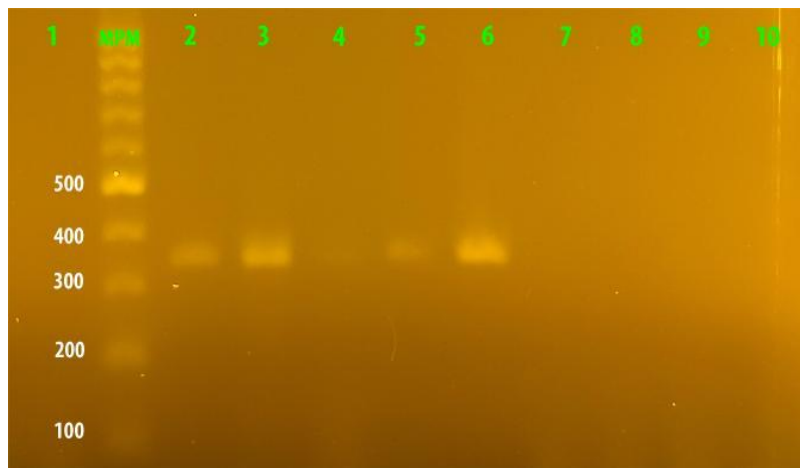


Figura 3. Electroforesis en geles de agarosa de los productos de amplificación de una región del gen *cytK* incluida la caja *plcR*. Carril 1, B424. 2, B425. 3, B426. 4, B427. 5, B430. 6, B455. 7, B428. 8, B432. 9, *B. subtilis*. 10, se utilizó agua estéril como control negativo. MPM. Marcador de peso molecular de 100 pb.

En este estudio, para determinar el perfil toxigénico de las cepas, se utilizó la técnica de PCR implementada por Ehling-Schulz y col. (26), la cual permite con un par de iniciadores identificar al menos la presencia conjunta de dos subunidades de operón *nhe* o de *hbl*, con lo cual se simplifica la búsqueda de cepas enterotoxigénicas de *B. cereus*. La circulación de cepas solo positivas para el operón *nhe* se ha descrito en cepas aisladas de alimentos, no así en cepas clínicas o ambientales (26), lo cual fue confirmado en este trabajo, donde solo se aisló una cepa bajo este perfil.

La citotoxina K es uno de los factores de virulencia de mayor importancia entre las cepas del grupo *B. cereus*, debido a que está asociada directamente al síndrome diarreico (39). La síntesis de esta toxina (al igual que las toxinas Hbl y Nhe) está bajo el control del regulador transcripcional *PlcR*, este regulador se une a una secuencia de ADN específica, denominada caja-*PlcR* la cual se localiza río arriba entre la posición -35 y el inicio de la transcripción del gen (40). En el presente estudio, se identificó la presencia del gen *cytK* en 5 de las cepas analizadas. Conociendo el mecanismo de regulación de

expresión de este gen, se buscó la presencia de la denominada caja-*PlcR* en las cepas estudiadas. Los resultados obtenidos indican que todas las cepas portadoras del gen *cytK* también contenían el sitio de unión para el factor de transcripción *PlcR*, por lo tanto, son capaces de expresar el gen para la producción de la citotoxina K. Lo cual indica que las cepas portadoras del gen *cytK* y que contiene el sitio de unión para el factor de transcripción *PlcR*, podrían expresar dicho gen. En el único estudio encontrado acerca de contaminación de helados por *B. cereus*, no se detectó la presencia del gen *cytK* (16), lo cual enfatiza la importancia de este estudio, el cual demuestra la circulación de cepas diferentes a las encontradas en estudios previos. Los resultados de esta investigación confirman que en México circulan cepas del grupo de *B. cereus* portadoras de gen *cytK*, las cuales también han sido descritas por nuestro grupo de trabajo en otra matriz alimentaria (24).

No se debe de subestimar el bajo potencial toxigénico de las cepas del grupo *B. cereus* encontradas en el presente estudio, puesto que pueden presentar otros genes de enterotoxinas como *bceT* o *entFM*, las cuales no

fueron objeto de estudio de esta investigación. Además, es necesario evaluar la presencia de genes para la expresión de enzimas relacionadas con la descomposición de alimentos, descritas previamente en *B. cereus* (41), las cuales pueden representar un problema en este tipo de productos, no como factores de virulencia sino como generadoras de descomposición. En este último punto, solo se consideró la búsqueda de la producción de amilasa de manera fenotípica, la cual no se encontró en este estudio; esta enzima, más que un marcador de un microorganismo descomponedor de alimentos, para *B. cereus* se ha utilizado para inferir el potencial enterotoxigénico de las cepas, considerando a las cepas amilolíticas con una mayor probabilidad de producir cereulida (26,42). En este estudio, no se encontraron cepas amilolíticas y tampoco cepas que presentaran el gen de la cereulida. Arslan y cols. (16) encontraron la producción de la enzima amilasa en el 93.1% de sus cepas analizadas; sin embargo, tampoco encuentran el gen de la cereulida. Coincidiendo en la baja frecuencia del gen de la cereulida en dichas cepas, las discrepancias en el gen de la amilasa, podrían ser resultado del mismo comportamiento observado con la citotoxina K.

En este estudio, se concluye que, en el helado distribuido en México, se encontró una baja contaminación por *B. cereus*, sin embargo, no se debe subestimar la cifra considerando la presencia de genes relacionados a enterotoxinas en dichas cepas.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses.

Financiamiento

Este proyecto fue financiado bajo el "Programa de Fortalecimiento de la Calidad en Instituciones Educativas" de la Secretaría de Educación Pública, México.

Referencias Bibliográficas

- Champagne CP, Laing RR, Roy D, Mafu AA, Griffiths MW, White C. Psychrotrophs in dairy products: Their effects and their control. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 1 de enero de 1994;34(1):1-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10408399409527648> DOI: [10.1080/10408399409527648](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1080/10408399409527648) PMID [8142043](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8142043) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Andreasen T, Nielsen H. Ice cream and aerated desserts. En: Early R, editor. *The Technology of Dairy Products* [Internet]. 2nd ed. London: Chapman & Hall; 1998. p. 81-122. Disponible en: <https://www.springer.com/gp/book/9780751403442>
- Gunduz GT, Tuncel G. Biofilm formation in an ice cream plant. Antonie van Leeuwenhoek. *Int J Gen Mol Microbiol* [Internet]. 2006;89(3-4):329-36. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10482-005-9035-9> DOI: [10.1007/s10482-005-9035-9](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1007/s10482-005-9035-9) PMID [16779628](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16779628) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- AlBany YA, Mohammed RQ, Azzo NM, Al-Berfani MI. Incidence of psychrotrophs bacteria with potential public health implications in ice cream sold in Zakho markets. *Int J Res Med Sci* [Internet]. 2017;5(10):4247. Disponible en: <http://www.msionline.org/index.php/ijrms/article/view/3856> DOI: [10.18203/2320-6012.ijrms20174554](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.18203/2320-6012.ijrms20174554) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Vilas-Bôas GT, Peruca APS, Arantes OMN. Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. *Can J Microbiol* [Internet]. 2007;53(6):673-87. Disponible en: https://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/W07-029?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=cjm#.XYfDAFswvcs DOI: [10.1139/W07-029](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1139/W07-029) PMID [17668027](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17668027) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Sánchez J, Correa M, Castañeda-Sandoval LM. *Bacillus cereus* un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos. *Rev Fac Nac Salud Pública* [Internet]. 2016;34(2):230-42. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/fnsp/article/view/20973> DOI: [10.17533/udea.rfnsp.v34n2a12](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.17533/udea.rfnsp.v34n2a12) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2008;32(4):579-606. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x> DOI: [10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x) PMID [18422617](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18422617) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Dommel MK, Frenzel E, Strasser B, Blöching C, Scherer S, Ehling-Schulz M. Identification of the main promoter directing cereulide biosynthesis in emetic *Bacillus cereus* and its application for real-time monitoring of ces gene expression in foods. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2010;76(4):1232-40. Disponible en: <http://aem.asm.org/cgi/doi/10.1128/AEM.02317-09> DOI: [10.1128/AEM.02317-09](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1128/AEM.02317-09) PMID [20038713](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20038713) PMCID [PMC2820966](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2820966) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Delbrassinne L, Andjelkovic M, Dierick K, Denayer S, Mahillon J, Van Loco J. Prevalence and levels of *Bacillus cereus* emetic toxin in rice dishes randomly collected from restaurants and comparison with the levels measured in a recent foodborne outbreak. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2012;9(9):809-14. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2012.1168> DOI: [10.1089/fpd.2012.1168](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1089/fpd.2012.1168) PMID [22891880](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22891880) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Naranjo M, Denayer S, Botteldoorn N, Delbrassinne L, Veys J, Waegenaere J, et al. Sudden death of a young adult associated with *Bacillus cereus* food poisoning. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2011;49(12):4379-81. Disponible en: <http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.05129-11> DOI: [10.1128/JCM.05129-11](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1128/JCM.05129-11) PMID [22012017](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22012017) PMCID [PMC3232990](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3232990) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2010;23(2):382-98. Disponible en: <http://cmr.asm.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=20375358> DOI: [10.1128/CMR.00073-09](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1128/CMR.00073-09) PMID [20375358](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20375358) PMCID: [PMC2863360](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2863360) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Tsilia V, Devreese B, De IB, Mesuere B, Rajkovic A, Uyttendaele M, et al. Application of MALDI-TOF mass spectrometry for the detection of enterotoxins produced by pathogenic strains of the *Bacillus cereus* group. *Anal Bioanal Chem* [Internet]. 2012;404(6-7):1691-702. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-012-6254-6> DOI: [10.1007/s00216-012-6254-6](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10.1007/s00216-012-6254-6) PMID [22875537](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22875537) [Google Académico](https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=Kasmera)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2016, Annual Report. Atlanta, Georgia: U.S. Department of

- Health and Human Services, CDC, 2018. Disponible en: https://www.cdc.gov/fdoss/pdf/2016_FoodBorneOutbreaks_508.pdf
14. Arias-Rios EV, Tenney K, Mai T, Anderson S, Cantera RM, Nadala LM, et al. Rapid detection of listeria in ice cream in 13 hours using the roka *Listeria* detection assay. J AOAC Int [Internet]. 2018;101(6):1806-12. Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/10.5740/jaoacint.18-0108> DOI: [10.5740/jaoacint.18-0108](https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0108) PMID [29966545](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29966545/) [Google Académico](#)
 15. Juck G, Gonzalez V, Olsson Allen AC, Sutzko M, Seward K, Muldoon MT. Romer labs rapid chek @ *Listeria monocytogenes* test system for the detection of *L. monocytogenes* on selected foods and environmental surfaces. J AOAC Int [Internet]. 2018;101(5):1490-507. Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/10.5740/jaoacint.18-0035> DOI: [10.5740/jaoacint.18-0035](https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0035) PMID [29703274](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29703274/) [Google Académico](#)
 16. Arslan S, Eyi A, Küçüksarı R. Toxigenic genes, spoilage potential, and antimicrobial resistance of *Bacillus cereus* group strains from ice cream. Anaerobe [Internet]. 2014;25:42-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1075996413001923> DOI: [10.1016/j.anaerobe.2013.11.006](https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.11.006) PMID [24309214](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24309214/) [Google Académico](#)
 17. Evans JA, Russell SL, James C, Corry JEL. Microbial contamination of food refrigeration equipment. J Food Eng [Internet]. 2004;62(3):225-32. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877403002358> DOI: [10.1016/S0260-8774\(03\)00235-8](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00235-8) [Google Académico](#)
 18. Storgårds E, Tapani K, Hartwall P, Saleva R, Suihko ML. Microbial attachment and biofilm formation in brewery bottling plants. J Am Soc Brew Chem [Internet]. 2006;64(1):8-15. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1094/ASBCJ-64-0008> DOI: [10.1094/ASBCJ-64-0008](https://doi.org/10.1094/ASBCJ-64-0008) [Google Académico](#)
 19. Samapundo S, Heyndrickx M, Xhaferi R, Devlieghere F. Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. Int J Food Microbiol [Internet]. 2011;150(1):34-41. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160511004053> DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.013](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.013) PMID [21840614](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21840614/) [Google Académico](#)
 20. Marchand S, De Block J, De Jonghe V, Coorevits A, Heyndrickx M, Herman L. Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety [Internet]. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2012.11(2):133-47. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2011.00183.x> DOI: [10.1111/j.1541-4337.2011.00183.x](https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00183.x) [Google Académico](#)
 21. de Sarrau B, Clavel T, Zwickel N, Despres J, Dupont S, Beney L, et al. Unsaturated fatty acids from food and in the growth medium improve growth of *Bacillus cereus* under cold and anaerobic conditions. Food Microbiol [Internet]. 2013;36(2):113-22. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002013000774> DOI: [10.1016/j.fm.2013.04.008](https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.008) PMID [24010589](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24010589/) [Google Académico](#)
 22. Rajkovic A, Uyttendaele M, Dierick K, Samapundo S, Botteldoorn N, Mahillon J, et al. Risk profile of the *Bacillus cereus* group implicated in food poisoning. Belgium: Superior Health Council Belgium. 2008. p. 80. Disponible en https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/files/fpshealth_theme_file/19060475/Risico-profiel%20voor%20Bacillus%20cereus%20Groep%20in%20voedsel%20toxi-
 23. International Organization for Standardization, Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*-Colony-count technique at 30 degrees C (7932), Geneve, Switzerland:ISO. 2004 [Google Académico](#)
 24. Adame-Gómez R, Guzmán- Guzmán K del Á, Vences-Velázquez A, Leyva-Vázquez MA, Muñoz-Barrios S, Ramírez-Peralta A. Prevalence and genetic diversity of the strains of *Bacillus cereus* groups in food for infants and young children in México. African J Microbiol Res [Internet]. 2018;12(30):730-5. Disponible en: <http://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/27AEE7B58211> DOI: [10.5897/ajmr2018.8921](https://doi.org/10.5897/ajmr2018.8921) [Google Académico](#)
 25. Wei S, Chelliah R, Park BJ, Park JH, Forghani F, Park YS, et al. Molecular discrimination of *Bacillus cereus* group species in foods (lettuce, spinach, and kimbab) using quantitative real-time PCR targeting groEL and gyrB. Microb Pathog [Internet]. 2018;115:312-20. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401017315814> DOI: [10.1016/j.micpath.2017.12.079](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.079) PMID [29306007](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29306007/) [Google Académico](#)
 26. Ehling-Schulz M, Guinebretiere MH, Monthán A, Berge O, Fricker M, Svensson B. Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. FEMS Microbiol Lett [Internet]. 2006;260(2):232-40. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle/article/260/2/232/489912> DOI: [10.1111/j.1574-6968.2006.00320.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00320.x) PMID [16842349](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16842349/) [Google Académico](#)
 27. Oltuszek-Walczyk E, Walczyk P. PCR detection of *cytK* gene in *Bacillus cereus* group strains isolated from food samples. J Microbiol Methods [Internet]. 2013;95(2):295-301. Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167-7012\(13\)00295-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167-7012(13)00295-9) DOI: [10.1016/j.mimet.2013.09.012](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.012) PMID [24060693](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24060693/) [Google Académico](#)
 28. Castelijin GAA, van der Veen S, Zwietering MH, Moezelaar R, Abee T. Diversity in biofilm formation and production of curli fimbriae and cellulose of *Salmonella Typhimurium* strains of different origin in high and low nutrient medium. Biofouling [Internet]. 2012;28(1):51-63. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08927014.2011.648927> DOI: [10.1080/08927014.2011.648927](https://doi.org/10.1080/08927014.2011.648927) PMID [22235813](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22235813/) [Google Académico](#)
 29. Hayrapetyan H, Muller L, Tempelaars M, Abee T, Nierop Groot M. Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and undomesticated food isolates and the effect of free iron. Int J Food Microbiol [Internet]. 2015;200:72-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160515000756> DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.005](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.005) PMID [25700364](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25700364/) [Google Académico](#)
 30. Park YB, Kim JB, Shin SW, Kim JC, Cho SH, Lee BK, et al. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* Strains isolated from rice and cereals collected in Korea. J Food Prot [Internet]. 2009;72(3):612-7. Disponible en: <http://jfoodprotection.org/doi/abs/10.4315/0362-028X-72.3.612> DOI: [10.4315/0362-028X-72.3.612](https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.612) [Google Académico](#)
 31. Chon JW, Kim JH, Lee SJ, Hyeon JY, Seo KH. Toxin profile, antibiotic resistance, and phenotypic and molecular characterization of *Bacillus cereus* in Sunsik. Food Microbiol [Internet]. 2012;32(1):217-22. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S074000201200127>

- X DOI: [10.1016/j.fm.2012.06.003](https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.06.003) PMID [22850397](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22850397/) [Google Académico](#)
32. Hwang JY, Park JH. Characteristics of enterotoxin distribution, hemolysis, lecithinase, and starch hydrolysis of *Bacillus cereus* isolated from infant formulas and ready-to-eat foods. *J Dairy Sci* [Internet]. 2015;98(3):1652-60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215000284> DOI: [10.3168/jds.2014-9042](https://doi.org/10.3168/jds.2014-9042) PMID [25597976](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25597976/) [Google Académico](#)
33. Merzougui S, Lkhider M, Grosset N, Gautier M, Cohen N. Prevalence, PFGE typing, and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* group isolated from food in Morocco. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2014;11(2):145-9. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2013.1615> DOI: [10.1089/fpd.2013.1615](https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1615) PMID [24206436](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24206436/) [Google Académico](#)
34. Owusu-Kwarteng J, Wuni A, Akabanda F, Tano-Debrah K, Jespersen L. Prevalence, virulence factor genes and antibiotic resistance of *Bacillus cereus sensu lato* isolated from dairy farms and traditional dairy products. *BMC Microbiol* [Internet]. 2017;17(1):65. Disponible en: <http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-017-0975-9> DOI: [10.1186/s12866-017-0975-9](https://doi.org/10.1186/s12866-017-0975-9) PMID [28288581](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28288581/) PMCID: [PMC5348786](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5348786/) [Google Académico](#)
35. Guinebretiere MH, Girardin H, Dargaingaratz C, Carlin F, Nguyen-The C. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini purée processing line. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2003;82(3):223-32. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160502003070> DOI: [10.1016/S0168-1605\(02\)00307-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00307-0) PMID [12593925](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12593925/) [Google Académico](#)
36. Cortés-Sánchez AJ, Díaz-Ramírez M, Salgado-Cruz MP. *Bacillus cereus*: alimentos, salud y biotecnología. *AP Agro Productividad* [Internet] 2017;10(10): 3-9. Disponible en: <http://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/98> [Google Académico](#)
37. Ottesen A, Ramachandran P, Reed E, White JR, Hasan N, Subramanian P, et al. Enrichment dynamics of *Listeria monocytogenes* and the associated microbiome from naturally contaminated ice cream linked to a listeriosis outbreak. *BMC Microbiol* [Internet]. 2016;16(1):275. Disponible en: <http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-016-0894-1> DOI: [10.1186/s12866-016-0894-1](https://doi.org/10.1186/s12866-016-0894-1) PMID [27852235](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27852235/) PMCID [PMC5112668](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5112668/) [Google Académico](#)
38. Vanegas M, Correa N, Morales A, Martínez A, Rúgeles L, Jiménez F. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. *Rev MVZ Córdoba* [Internet]. 2009;14(2):1677-83. Disponible en: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/350> DOI: [10.21897/rmvz.350](https://doi.org/10.21897/rmvz.350) [Google Académico](#)
39. Lund T, De Buyser ML, Granum PE. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol Microbiol* [Internet]. 2000;38(2):254-61. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2958.2000.02147.x> DOI: [10.1046/j.1365-2958.2000.02147.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02147.x) PMID [11069652](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11069652/) [Google Académico](#)
40. Brillard J, Lereclus D. Comparison of cytotoxin cytK promoters from *Bacillus cereus* strain ATCC 14579 and from a *B. cereus* food-poisoning strain. *Microbiology* [Internet]. 2004;150(8):2699-705. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.27069-0> DOI: [10.1099/mic.0.27069-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.27069-0) PMID [15289566](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15289566/) [Google Académico](#)
41. Logan NA, De Vos P. Genus I. *Bacillus* Cohn 1872. En: De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. Vol 3. New York:Springer. 2009. pp. 21–128. [Google Académico](#)
42. Pirhonen TI, Andersson MA, Jääskeläinen EL, Salkinoja-Salonen MS, Honkanen-Buzalski T, Johansson TML. Biochemical and toxic diversity of *Bacillus cereus* in a pasta and meat dish associated with a food-poisoning case. *Food Microbiol* [Internet]. 2005;22(1):87-91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002004000656> DOI: [10.1016/j.fm.2004.04.002](https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.04.002) [Google Académico](#)

Autores:

Adame-Gomez, Roberto. <https://orcid.org/0000-0002-1375-2485>
 Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Patometabolismo Microbiano. Guerrero. México. E-mail: robert94a25@gmail.com.

Castro Alarcón, Natividad. <https://orcid.org/0000-0003-1238-7233>
 Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Microbiología. Guerrero. México. E-mail: natycastro2@hotmail.com.

Vences-Velázquez, Amalia. <https://orcid.org/0000-0001-8810-1401>
 Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Inmunobiología y Diagnóstico Molecular. Guerrero. México. E-mail: avences_2003@yahoo.com.mx.

Rodríguez-Bataz, Elvia. <https://orcid.org/0000-0003-3143-3768>
 Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Parasitología. Guerrero. México. E-mail: elviarb@hotmail.com.

Santiago-Dionisio, María Cristina. <https://orcid.org/0000-0001-5187-665X>
 Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Análisis Microbiológicos. Guerrero. México. E-mail: cristinasantiago081@hotmail.com.

Correspondencia: Ramírez-Peralta, Arturo. <https://orcid.org/0000-0002-7037-6412>. Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Patometabolismo Microbiano. Guerrero. México. Dirección Postal: Av. Lázaro Cárdenas s/n, Chilpancingo, Guerrero, México. Teléfono: 527471896780. E-mail: ramirezperaltauagro@gmail.com.

Contribución de los Autores:

AGR: realizó el trabajo experimental y el análisis estadístico. **CAN, VVA y RBE:** participaron en la redacción del artículo. **SDMC:** Apoyo en el análisis microbiológico. **RPA:** Planteó la idea de la investigación, elaboró la primera versión del manuscrito