



Red de Investigación Estudiantil de la Universidad del Zulia  
Revista Venezolana de Investigación Estudiantil

# REDIELUZ

Sembrando la investigación estudiantil

Vol. 12 N° 1

Enero - Junio 2022



ISSN: 2244-7334

Depósito Legal: pp201102ZU3769



VAC

Universidad del Zulia  
Vicerrectorado Académico

## IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS PATÓGENOS (*YERSINIA PESTIS* Y *BACILLUS ANTHRACIS*) EN ALIMENTOS, UTILIZANDO MICROARRAYS DE ADN COMO HERRAMIENTA DE ANÁLISIS MICROBIANO

Identification of pathogenic parasites (*Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*) in food using DNA microarrays as a microbial analysis tool

Luis Eduardo Cagua Montaña<sup>1</sup>, Víctor Hugo Rea Sánchez<sup>1</sup>,

Anthony Lizandro Tubun Vargas<sup>1</sup>, Keidy Dhamar Rodríguez Cruz<sup>1</sup>,

Génesis Solange Astudillo Hinojosa<sup>1</sup>, Luis Alfredo Coello Meneses<sup>1</sup>,

Rodrigo José Pazmiño Pérez<sup>2</sup>, Carlos Enrique Pazmiño,

Jennifer Paola Rodas Pazmiño<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), <sup>2</sup>Laboratorio Clínico y Microbiológico "PAZMIÑO", <sup>3</sup>Hospital León Becerra de Milagro

<https://orcid.org/0000-0002-5084-14601>

lcaguam@unemi.edu.ec

### RESUMEN

La tecnología de los microarrays, se basa en la capacidad para el análisis simultáneo de una cantidad de secuencias de ADN. El objetivo fue, reconocer *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis* en alimentos utilizando microarrays de ADN, para exponer la herramienta bioinformática en el estudio de patógenos. El microchip, tiene una precisión que puede detectar incluso una sola molécula de ARN específico de un gen, dentro de 100.000 ARN diferentes, las muestras se analizaron por duplicado, luego, se restó la intensidad media de 10 manchas negativas, dejando como resultado 2.240 sondas, obtenidas de los datos de la intensidad fluorescente total (TFI). Posteriormente, las señales positivas seleccionadas, fueron los valores de la intensidad fluorescente total superiores a 20.000. Entre las diferentes cepas de *Yersinia pestis*, se utilizaron para la evaluación 300 sondas positivas, para cada tipo de *Y. pestis*, de las cuales, sólo 37 sondas específicas fueron seleccionadas. De las diferentes cepas *Bacillus anthracis*, utilizadas en la evaluación, se obtuvo un total de 800 sondas positivas para cada cepa de *B. anthracis*, de las sondas identificadas se seleccionaron solo 37 sondas específicas de *B. an-*

*thraxis*. La especificidad y sensibilidad de las sondas seleccionadas, se examinó a partir de las 37 sondas de *Y. pestis* y las 83 sondas de *B. anthracis*, dichas sondas, se mezclaron con un panel de patógenos bacterianos transmitidos por alimentos y posteriormente se amplificaron. Los resultados de especificidad y sensibilidad de las sondas mostraron fuertes señales positivas, por tanto, podrían considerarse como sondas potencialmente específicas en análisis microbiano.

**Palabras clave:** patógenos, alimentos, microarray, *Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis*.

### ABSTRACT

Microarray technology is based on the ability to simultaneously analyze a number of DNA sequences. The objective was to recognize *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis* in food using DNA microarrays to expose the bioinformatics tool in the study of pathogens. The microchip has an accuracy that can detect even a single gene-specific RNA molecule out of 100,000 different RNAs. Samples were analyzed in duplicate, then the average intensity of 10 negative spots was subtracted, resulting in 2,240 probes obtained from the total fluorescent

intensity (TFI) data. Subsequently, the positive signals selected were total fluorescent intensity values greater than 20,000. Among the different strains of *Yersinia pestis*, 300 positive probes for each type of *Y. pestis* were used for evaluation, of which only 37 specific probes were selected. Of the different *Bacillus anthracis* strains used in the evaluation, a total of 800 positive probes were obtained for each strain of *B. anthracis*, of which only 37 *B. anthracis*-specific probes were selected. The specificity and sensitivity of the selected probes were examined from the 37 *Y. pestis* probes and 83 *B. anthracis* probes, which were mixed with a panel of foodborne bacterial pathogens and then amplified. The specificity and sensitivity results of the probes showed strong positive signals, therefore, they could be considered as potentially specific probes in microbial analysis.

**Keywords:** pathogens, food, microarray, *Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis*.

---

**Recibido: 25-11-2021 Aprobado: 22-01-2022**

## INTRODUCCIÓN

En la industria de alimentos se enfoca en la seguridad y calidad de sus productos mediante pruebas o medidas, para garantizar un alimento libre de alérgenos, patógenos y virus dañinos para el consumo humano. Las nuevas tendencias, se hacen necesarias para la implementación de un sistema de control continuo, en tiempo real, que haga posible la intervención directa a nivel microbiológico (Uçar et al., 2016).

La perspectiva del control en seguridad alimentaria microbiológica, se encuentra en el diseño de procesos, productos y procedimientos. Sin embargo, las pruebas solo brindan información limitada sobre el estado de seguridad de un alimento, como un organismo peligroso, que influye directamente en la seguridad de un lote de producción completo (Zwietering et al., 2016).

Las enfermedades transmitidas por alimentos, son consideradas como un problema de salud pública en la mayoría de los países del mundo, provienen de tres diferentes fuentes: biológicas, químicas y físicas. Los principales microorganismos biológicos son hongos, bacterias, virus, parásitos y levaduras, estos pueden causar enfermedades e infecciones al ser humano, mediante la ingesta de alimentos y agua contaminadas (Todd, 2014).

Las técnicas analíticas convencionales, son capaces de detectar y cuantificar en menor medida los agentes contaminantes, que comprometen la seguridad de los alimentos. Actualmente, se aplican nuevas técnicas biotecnológicas que ofrecen ventajas, como una mayor sensibilidad de detección, una elevada fiabilidad, un fácil transporte, una mejor adaptación a los sistemas de producción, puesto que, no afectan su normal funcionamiento, además, se suponen un abaratamiento de los costos de control. Uno de estos nuevos sistemas de análisis con mayor potencial en el ámbito de la seguridad alimentaria, son los microarrays, utilizados en la detección de contaminantes (Gui y Patel, 2011).

Los métodos microbiológicos usados con mayor frecuencia en la detección de patógenos, usualmente de origen alimentario, difíciles de identificar y consumen una cantidad de tiempo para evaluar una muestra significativa. Las diferentes técnicas de control, siempre están en constante prueba ante la demanda por resultados rápidos, por esta razón, el avance tecnológico ha permitido encontrar diversas soluciones en varios métodos en las últimas décadas (Ranjbar et al., 2017).

Para, Huertas et al., (2019) el poder de la tecnología de microarrays, se basa en la capacidad para el análisis simultáneo de una cantidad de secuencias de ADN, en una muestra y una significativa cantidad de muestras en un formato compacto y relativamente económico. La tecnología de microarrays, juega un papel significativo en la identificación y análisis de patógenos microbianos alimentarios. Algunos de los usos actuales de los microarrays, están relacionados a los alimentos, que incluyen estudios de expresión génica, identificación microbiana, perfiles de factores de transcripción y secuenciación comparativa del genoma.

## METODOLOGÍA

Según, Palomino-Camargo y González-Muñoz, (2014) alrededor de 40 diferentes patógenos de origen alimentario causan enfermedades humanas. Más del 90%, de los casos confirmados y las muertes causadas por dichos patógenos, han sido atribuidos a bacterias, además, es posible diferenciar los géneros bacterianos entre sus familias, donde, los dos grupos tienen la capacidad de contaminar el alimento de forma directa en un ambiente con mayor exposición, los alimentos principalmente involucrados con estos métodos de contaminación,

son aquellos que, en cuyo procesamiento requieren de una alta manipulación, como los embutidos o lácteos.

De acuerdo, con Woubit et al., (2012) los alimentos son vulnerables ante un ataque de patógenos capaces de desarrollarse de forma superficial o interna del producto, los ataques con *Salmonella*, hacen posible el ataque transmitido por *Y. pestis* y *B. anthracis* en alimentos de consumo primario, este tipo de ataque, requiere una preparación para dar una respuesta al bioataque transmitido por los alimentos y de esta forma, hacer frente a cualquier tipo de amenaza, el desarrollo de un método específico con niveles altos de agentes biológicos simultáneos como el microarrays de ADN, es primordial en este apartado de la industria alimentaria.

Conforme, con Cao et al., (2014) los diferentes microorganismos presentes, en este tipo de enfermedades como las bacterias, se clasifican en dos grupos, donde el primero, son aquellas que tienen la facultad de provocar infecciones y presentan una característica en común, como su multiplicación dentro del tracto gastrointestinal, sus principales armas usadas son: *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio parahemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, así como, especies termófilas de *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* enteropatógena, *Streptococcus* spp, entre otros; y el segundo grupo, son los causantes de intoxicación por producción de toxinas como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum*.

Para, Torres (2014) la técnica del "tiling array" de Affymetrix en *Arabidopsis thaliana*, para estudiar el transcriptoma completo bajo condiciones de sequía, frío, alta salinidad y tratamiento con ácido abscísico (ABA). Las plantas responden y se adaptan a la sequía, frío y estrés por alta salinidad para sobrevivir, pero el estrés producido en las plantas en estas condiciones, induce varias respuestas bioquímicas y fisiológicas en las plantas, siendo varios cientos de genes identificados como los genes que responden a este estrés a nivel transcripcional.

Según, Goji et al., (2012) los microarrays de ADN, han sido ampliamente utilizados en el campo de la detección de patógenos, transmitidos por alimentos como (*Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis*), además, de bacterias como *Salmonella* spp y *Escherichia coli*, con una significativa sensibilidad de ADN genómico, fueron seleccionadas secuencias del genoma de los organismos patógenos, estudiados con el objetivo de diseñar una sonda persona-

lizada, que fueron utilizadas para la fabricación de una matriz de baja densidad, las sondas de oligonucleótidos utilizadas para encontrar una secuencia complementaria, en el genoma de una muestra, fueron generadas a partir de plásmidos de virulencia y una matriz de chips, que permitieron ejecutar 8 experimentos idénticos en un solo chip.

Según Steenbergen, et al., (2017), argumentan las características innovadoras, como las descritas anteriormente forman parte del diseño de microarrays de nueva generación, donde, es posible desmontarlo y utilizarlo hasta tres veces con una duración por cada trabajo hasta 4 meses, con un buen almacenamiento, las cepas de *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis*, son cultivadas en agar de soja tríptico, donde, el rendimiento de un microarray, depende de la calidad de las sondas seleccionadas. Las buenas sondas utilizadas, deben presentar una alta especificidad, sensibilidad y homogeneidad. El ADN genómico, se amplifica usando un REPLI-g mini kit, luego de este proceso se obtienen resultados de hibridación.

Con respecto, a Ranjbar et al., (2014) refieren que, la aplicación de microarrays para el análisis de muestras en alimentos, donde, varios informes pueden demostrar el uso de microarrays de ADN, para la detección de patógenos en alimentos, pero no la detección e identificación; al mismo tiempo, usando la tecnología de microarrays de ADN en agentes biológicos. La primera aplicación exitosa en biodefensa de alimentos, involucra la detección de *Y. pestis*, se dió en muestras de leche enriquecidas que inicialmente fue adquirida en una tienda, es el inicio de un camino que puede ser favorable con el avance de la ciencia en el corto y mediano plazo.

Según, Vale, (2016) la detección de patógenos transmitidos por el agua, los microarrays de ADN, pueden utilizarse como una herramienta de diagnóstico que consiste en matrices ordenadas de secuencias de ADN, colocadas en portaobjetos de vidrio, que se utilizan para la hibridación. Esta tecnología, permite el análisis paralelo de diversos genes en una sola reacción, donde, se ha aplicado en la detección de microorganismos en muestras de agua, concretamente, aguas residuales y agua destinada al consumo humano.

## MATERIALES

Para el desarrollo del trabajo, se utilizaron una serie de materiales e instrumentos que van desde, agar, software de análisis de datos, sondas de oligonucleótidos y diferentes tintes de etiquetado con

proveedores del prestigio como Axon Instruments y Fisher Scientific, que son los encargados de brindar esta serie de materiales como se dispone en la (Tabla 1).

**Tabla 1.** Materiales e instrumentos con sus respectivos proveedores

Materiales e instrumentos	Proveedores
Agar de soja tríptica	Becton, Dickinson and Company. EE. UU.
Genoma completo de <i>B. anthracis</i> y <i>Y. pestis</i> .	Obtenido de GenBank (base de datos).
Software GenePix Pro version 5.0	Axon Instruments.
Sonda de oligonucleótidos	Generadas a partir de plásmidos de virulencia.
Tintes de etiquetado denominados Alexa Fluóor	Fisher Scientific

**Nota.** El genoma completo de *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis* es esencial para la identificación mediante el uso de microarrays, al contener toda la información de los patógenos mencionados.

**Fuente:** Cagua et al., (2021)

Los kits, utilizados son Repli-g Mini Kit, Kit de etiquetado BioPrime Plus Array CGH, Scanner laser GenePix 4000 y equipos como Axon 4000B Microarray Scanner y Fluorómetro Nanodrop ND-

1000, como se describe en la (Tabla 2), formando parte de los procesos como la extracción, amplificación, etiquetado, hibridación del ADN.

**Tabla 2.** Equipos y kits con sus respectivos proveedores

Equipos y Kits	Proveedores
Repli-g Mini Kit	Quiagen GMH Hilden, Alemania.
Matriz de chips	Diseñado a medida por CustomArray Inc. EE. UU.
Rsal	Life Technologies, Carlsbad, CA, USA.
Kit de etiquetado BioPrime Plus Array CGH	Life technologies, Carlsbad CA, USA.
CombiMatrix CustomArray Stripping Kit	CustomArray Inc.
Axon 4000B Microarray Scanner	Axon Instruments, Molecular Devices, CA, USA.
Equipos y Kits	Proveedores
Fluorómetro Nanodrop ND-1000	Thermo Fisher Scientific
GeneTitan	Thermo Fisher Scientific
Scanner laser GenePix 4000	Molecular Device

**Nota.** La matriz de chip se diseñó a medida como un chip array 4x2K (cuatro arrays idénticos de más de 2.000 puntos), designado como "Y PESTIS/B-ANTHRACIS 4x2K Array".

**Fuente:** Cagua et al., (2021)

Los sistemas de detección, presentan una característica especial como la capacidad de ejecutar reacciones multiplexadas, es decir, participan dos o más iniciadores simultáneamente. Los microarrays CombiMatrix, satisfacen este requisito y están diseñados para reconocer múltiples dianas adaptadas a las necesidades específicas del trabajo requerido.

Al iniciar esta investigación, se eligió, examinar los antígenos de *Y. pestis* en un formato multiplex, donde, participan los iniciadores en amplificación. Primero, se confirma la ausencia de reactividad cruzada o interferencia entre los anticuerpos anti-*Y. pestis*. Esto es posible, añadiendo anticuerpos anti-*Y. pestis* a los ensayos de detección de patógenos o viceversa (Wojciechowski et al., 2010).

## RESULTADOS

Según, Sarengaowa et al., (2020) *Yersinia pestis*, se considera como uno de los agentes que dió origen a las pestes bubónica y neumónica, uno de los patógenos más peligrosos del mundo. Este patógeno, también, afecta directamente a ciertos alimentos, provocando una infección capaz de generar daños a la salud como los mencionados anteriormente. Han existido tres pandemias de peste humana registradas, que se han cobrado cientos de miles de vidas, por efecto de este microorganismo. A continuación, se muestra en la (Tabla 3) las diferentes características principales.

**Tabla 3.** Características generales del genoma de *Yersinia pestis*

Características	Cromosoma	pPst/pPCP1	pYV1/pCD1	pFra/pMT1
Número de copias estimado*		186	4.3	1.8
Características	Cromosoma	pPst/pPCP1	pYV1/pCD1	pFra/pMT1
Tamaño total del genoma	4,653,728 bp	9,612 bp	70,305 bp	96,210 bp
Contenido de G + C	47.64%	45.27%	44.84%	50.23%
Secuencias codificantes	4,012	9	97	103
Densidad de codificación	83.8%	57.2%	81.4%	86.8%
Longitud media del gen	998 bp	611 bp	643 bp	835 bp

Nota. Para el estudio del genoma de *Y. pestis* se describe el tamaño total del genoma, las diferentes secuencias codificantes junto con la densidad de codificación y la longitud media del gen

Fuente: Cagua et al., (2021), Basado en la investigación de Parkhill et al., (2001)

Para, Sharp et al., (2015) el *Bacillus anthracis*, es el agente causante del ántrax, considerado de alta prioridad, debido a que puede ser utilizado en un ataque bioterrorista relacionado con los alimentos, la infección causada puede contraerse por la ingestión de alimentos adulterados y en forma de

esporas con resistencia al calor y a productos químicos. Por este motivo, las nuevas metodologías de vigilancia para detectar *B. anthracis* en alimentos, son importantes para la preparación en contra del bioterrorismo. A continuación, se muestra en la (Tabla 4) las características principales.

**Tabla 4.** Características generales del genoma de *B. anthracis* Ames.

Características	Cromosoma	pXO1*	pxO2*
Tamaño total del genoma	5,227,293 bp	181,677 bp	94,829 bp
Número de genes	5,508	217	113
Codificación de replicones	84.3%	77.1%	76.2%
Longitud media del gen	800 bp	645 bp	639 bp
Contenido de G + C	35.4%	32.5%	33.0%
Genes con función asignada	2,762	65	38

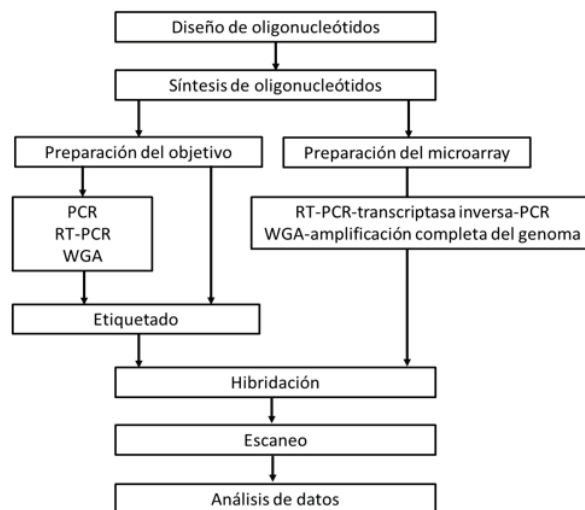
Nota. Para el estudio del genoma de *B. anthracis* Ames se describe el tamaño total del genoma, las diferentes codificaciones de replicones junto a los genes con función asignada

Fuente: Cagua et al., (2021), Basado en la investigación de Read et al., (2003).

### Diseño de los oligonucleótidos y del microarray

Los principales pasos para el diseño y la fabricación de microarrays, para el análisis microbiano

de los alimentos, son el diseño de oligonucleótidos para el spotting y el diseño de cebadores, para la amplificación de la diana (si es necesario) como se muestra en la (Figura 1).



**Figura 1.** Diseño y síntesis de microarrays para análisis microbiano.

Nota. Estos pasos son las características que comparten las tecnologías de matriz

Fuente: Rasooly y Herold, (2008). Traducido por Cagua et al., (2021).

### Sonda del microarray y utilidad del chip

A partir de la química y genética, se han desarrollado materiales para la fabricación de los biochips, haciéndolos biocompatibles para diferentes aplicaciones humanas. Según, González-García, (2015) los microarreglos son una colección ordenada de cadenas microscópicas de ADN, unidas a una superficie sólida (base). Las sondas de un gen u otro elemento de ADN, son empleadas para hibridar a una muestra de ADN, complementario de manera particular en condiciones de escasez de humedad.

Los microarreglos, utilizados mediante GeneTitan, posibilitan la detección de miles o hasta millones de marcadores, de manera masivamente paralela, lo que permite, obtener cantidad de información relevante para la salud. Las sondas unidas a la superficie sólida, son sintetizadas *in situ*, ofreciendo una ventaja a estos arreglos, reduciendo la pérdida aleatoria de marcadores entre lotes, un problema serio, que los resultados sean confundidos con falsos negativos o positivos.

Los microarrays, son utilizados para determinar la expresión génica mediante la atracción química natural, denominada hibridación entre el ADN, que se encuentra en el array y las moléculas de ARN, en la muestra de estudio (*Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis*) para determinar qué secuencias de ARN, se están expresando en una determinada muestra y su nivel de expresión, a partir de un determinado gen (identificar el ARN y la cantidad de ARN que se llega a producir) (Busch, 2010).

En estos microarrays las sondas de ADN, van colocadas en la superficie de una base de cristal. Cada sonda, contiene generalmente un reducido número de bases de longitud en una pequeña sección, representativa de un gen completo con una cantidad enorme de bases, en este caso, el genoma completo de *Y. pestis* y *B. anthracis*. El microchip, tiene una precisión que puede detectar incluso una sola molécula de ARN, específico de un gen dentro de 100.000 ARN, diferentes que también, puedan estar presentes en la muestra (Rodríguez y Vargas, 2019).

Es posible obtener el ADN completo de un individuo, a partir de una célula, esto aplica también, para patógenos presentes en alimentos. De este, se extrae el ADN mensajero que se unirá en el Biochip, para cuantificar, el nivel de expresión entre la sonda específica y la molécula diana, se deposita en la sonda un juego de ADNs codificados. Después, se eliminan todas las cadenas que no se han unido

mediante lavados (sólo las moléculas que hibridan permanecerán en el biochip) y se continúa, al revelado, mediante un escáner óptico, Axon 4000B Microarray Scanner (Galicia de Castro, 2013).

### Amplificación y etiquetado del ADN

Para el proceso de amplificación, Arakaki et al., (2010) afirman que, "ADN genómico de *Y. pestis* y *B. anthracis*, se realizó, mediante el uso del Kit REPLI-g Mini, siguiendo el protocolo del fabricante (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania)". El etiquetado del ADN genómico, amplificado se digirió con RsaI (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) y posteriormente, con colorantes fluorescentes, como Cy3, fluoresceína y Alexa Fluor (532, 647), mediante, el uso del kit de BioPrime Plus Array CGH, (life technologies carllsbad CA, USA). Los resultados, de eficacia y concentración fueron determinados con el Fluorómetro Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific) (Nishi et al., 2015).

### Hibridación del ADN a la micromatriz

Según, Suo *et al.*, (2010) el ADN previamente marcado con colorantes fluorescentes (Cy3, fluoresceína y Alexa Fluor (532, 647)) con un volumen igual de 2 tampones de hibridación (50% de formamida, 6 SSC, 0,2% de SDS, 1 mg/ml de ADN de esperma de salmón y 2 nM del oligonucleótido marcado con Cy3 complementario a la secuencia de la sonda de control positivo. La hibridación se llevó a cabo en la oscuridad a 58 °C durante 4 horas con una rotación suave.

Para, Rodrigo et al., (2014) el stripping del chip es ofrecido por la tecnología central de CombiMatrix y se basa, en un semiconductor especialmente modificado y adaptado para aplicaciones biológicas, donde es posible, contener matrices de microelectrodos que son utilizadas como detectores de ciertos microorganismos específicos. Los microarrays CombiMatrix (CustomArray) se utilizan, actualmente con detección fluorescente. CombiMatrix, ha desarrollado un sistema comercial que se basa en este enfoque y en matrices de microelectrodos únicas basadas en semiconductores. El sistema CombiMatrix, puede dirigirse a cada electrodo individualmente y medir, la señal presente en ese lugar del electrodo.

Cepas de <i>Bacillus anthracis</i> usadas para la evaluación	Total de sondas positivas del agente bacteriano	Sondas específicas seleccionadas
4 cepas de <i>Bacillus anthracis</i>	800	
Cepa Ames de <i>Bacillus anthracis</i>	800	83
7 aislados de tipo salvaje de <i>B. anthracis</i>	800	

*Nota.* En las cepas de *Bacillus anthracis* usadas se encuentran Cepa Ames y 7 aislados de tipo salvaje de *B. anthracis*  
**Fuente:** Cagua et al., (2021), Basado en la investigación de Goji et al., (2012).

### Especificidad y sensibilidad de las sondas

Para Kostić et al., (2010) las micromatrices de ADN, se utilizan en la actualidad por su alto rendimiento en la identificación rápida de los patógenos transmitidos por los alimentos, con un grado elevado de especificidad. Los microarreglos de ADN, tienen una estructura formada por cientos de sondas de oligonucleótidos que hacen posible la detección de forma positiva de un único patógena diana. Cuando se tiene como objetivo un área del genoma, la identificación de patógenos transmitidos por los alimentos resulta poco confiable, la estrategia de colocar matrices de sondas aplicadas en el chip genético, puede apuntar a las regiones genómicas contiguas de los patógenos (*Y. pestis* y *B. anthracis*) transmitidos por los alimentos objetivos y detectar la base de las secuencias del gen objetivo.

La especificidad y sensibilidad de las sondas seleccionadas, se examinó a partir de las 37 sondas de *Y. pestis* y las 83 sondas de *B. anthracis*, dichas sondas se mezclaron con un panel de patógenos bacterianos transmitidos por alimentos y posteriormente, se amplificaron. Este proceso se llevó a cabo para imitar la detección de *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis* a partir de muestras de alimentos contaminados. Los resultados de especificidad y sensibilidad de las sondas, mostraron fuertes señales positivas, por lo tanto, podrían considerarse como sondas potencialmente específicas en análisis microbiano (Kim et al., 2010).

### Discusión

La tecnología utilizada en detección de patógenos establecida en este estudio (microarray), puede detectar y monitorear rápidamente los patógenos transmitidos por los alimentos a lo largo de la cadena de distribución logística, esto representa una tecnología valiosa que respalda la seguridad de los productos agrícolas.

La identificación rápida y específica mediante el uso de microarrays de *Yersinia pestis* y *Bacillus*

*anthracis*, en alimentos es clave para la detección temprana y la pronta respuesta, en caso de un brote de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados.

En laboratorios clínicos el microarray de ADN, es considerado una técnica diagnóstica, rápida y fiable, por su tecnología pangénómica que es capaz de revelar una cantidad considerable de diferencias dentro del contenido genómico bacteriano, además, permite identificar una amplia gama de genes microbianos patógenos y no patógenos al mismo tiempo.

### CONCLUSIÓN

La falta de conocimientos sobre la calidad de alimentos en el momento de adquirirlos, conlleva a la propagación de contagios e infección, provocadas por vectores inducidos en la producción como distribución de ellos, motivando a utilizar técnicas factibles que garanticen sanidad.

La tecnología de microarrays y su aplicación, aporta beneficios al detectar patógenos en comparación con otras técnicas, debido a su nivel de sensibilidad y especificidad en muestras diferentes, dando a conocer un análisis microbiano complejo.

Al innovar técnicas en detección, se consigue minimizar el porcentaje de contagios por infecciones, buscar alternativas para poseer resultados precisos utilizando nuevas aplicaciones que mejoren el manejo y control, en diferentes tipos de análisis microbiano.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arakaki, A., Shibusawa, M., Hosokawa, M., y Matsunaga, T. (2010). Preparación de ADN genómico de una sola especie de bacteria magnetotáctica no cultivada mediante amplificación de desplazamiento múltiple. *Microbiología aplicada y medioambiental*, 76(5), 1480-1485. <https://doi.org/10.1128/AEM.02124-09>



- Busch, U. (Ed.). (2010). *Métodos biológicos moleculares en el análisis de alimentos*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-10716-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-10716-0_1)
- Cao, B., Liu, X., Yu, X., Chen, M., Feng, L., y Wang, L. (2014). Un nuevo microarreglo de oligonucleótidos para la detección de *Legionella* spp patógenas y no patógenas. *PLoS One*, 9(12), e113863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113863>
- Galicia de Castro, A. (2013). Qué son y para qué se utilizan los BioChips. *MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, (10), 16-17. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4270390>
- Goji, N., MacMillan, T., y Amoako, K. K. (2012). Un microarray de nueva generación para la detección e identificación simultánea de *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis* en los alimentos. *Revista de patógenos*, 2012,1-8. <https://doi.org/10.1155/2012/627036>
- González-García, T. K. (2015). Tecnología de microarreglos aplicada a la plataforma GeneTitan®. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 20(4), 335-339. <https://www.redalyc.org/pdf/473/47345919002.pdf>
- Gui, J., y Patel, I. (2011). Avances recientes en tecnologías moleculares y su aplicación en la detección de patógenos en alimentos con especial referencia a la *Yersinia*. *Revista de patógenos*, 2011, 1-11. <https://doi.org/10.4061/2011/310135>
- Huertas, C., Urbano, E., y Torres, M. (2019). Diagnóstico molecular una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(3), 513-522. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v18n3/1729-519X-rhcm-18-03-513.pdf>
- Kim, D., Lee B., Kim, Y., Rhee, S., y Kim, Y. C. (2010). Detección de bacterias enteropatógenas representativas, *Vibrio* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Yersinia enterocolitica*, mediante un microarray de oligonucleótidos basado en el factor de virulencia. *Revista de microbiología*, 48(5), 682-688. <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0119-5>
- Kostić, T., Stessl, B., Wagner, M., Sessitsch, A., y Bodrossy, L. (2010). Microarray de diagnóstico microbiano para patógenos transmitidos por los alimentos y el agua. *Biotechnología microbiana*, 3(4), 444-454. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00176.x>
- Nishi, K., Isobe, S. I., Zhu, Y., y Kiyama, R. (2015). Bioensayos basados en fluorescencia para la detección y evaluación de materiales alimentarios. *Sensores*, 15(10), 25831-25867. <https://doi.org/10.3390/s151025831>
- Palomino-Camargo, C., y González-Muñoz, Y. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31, 535-546. [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)
- Parkhill, J., Wren, B. W., Thomson, N. R., Titball, R.W., Holden, M. T. G., Prentice, M. B., Sebahia, M., James, K. D., Churcher, C., Mungall, K. L., Baker, S., Basham, D., Bentley, S. D., Brooks, K., Cerdeño-Tárraga, A. M., Chillingworth, T., Cronin, A., Davies, R. M., Davis, P.,... Barrell, B. G. (2001). Secuencia del genoma de *Yersinia pestis*, el agente causante de la peste. *Naturaleza*, (413), 523-527. <https://doi.org/10.1038/35097083>
- Ranjbar, R., Karami, A., Farshad, S., Giammanco, G. M., y Mammina, C. (2014). Métodos de tipificación utilizados en la epidemiología molecular de los patógenos microbianos: guía práctica. *La nueva microbiológica*, 37(1), 1-15. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24531166/>
- Ranjbar, R., Behzadi, P., Najafi, A., y Roudi, R. (2017). Microarrays de ADN para la detección e identificación rápida de bacterias transmitidas por los alimentos y el agua: Del laboratorio seco a húmedo. *La revista abierta de microbiología*, 11, 330-338. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010330>
- Rasooly, A., y Herold, K. E. (2008). Detección y análisis de patógenos microbianos alimentarios utilizando tecnologías de microarrays de ADN. *Patógenos y enfermedades transmitidas por los alimentos*, 5(4), 531-550. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0119>
- Read, T. D., Peterson, S. N., Tourasse, N., Baillie, L. W., Paulsen, I. T., Nelson, K. E., Tettelin, H., Fouts, D. E., Eisen, J. A., Gill, S. R., Holtzapple, E. K., Okstad, O. A., Helgason, E., Rilstone, J., Wu, M., Kolonay, J. F., Beanan, M. J., Dodson, R. J., Brinkac, L. M., Gwinn, M., ... Fraser, C. M. (2003). La secuencia del genoma de *Bacillus anthracis* Ames y la comparación con bacterias estrechamente relacionadas. *Naturaleza*, 423(6935), 81-86. <https://doi.org/10.1038/nature01586>

- Rodrigo, M. A. M., Zitka, O., Krejcova, L., Hynek, D., Masarik, M., Kynicky, J., ... y Kizek, R. (2014). Microarray electroquímico para la identificación de patógenos: Una revisión. *Revista internacional de Ciencia Electroquímica*, 9, 3431-3439. <http://electrochemsci.org/papers/vol9/90703431.pdf>
- Rodríguez, W., y Vargas, J. (2019). Biochips, aplicaciones convencionales e innovación: Una revisión documental. *Investigación e Innovación en Ingenierías*, 7(2), 96-106. <https://doi.org/10.17081/invinno.7.2.3086>
- Sarengaowa, Hu, W., Feng, K., Jiang, A., Xiu, Z., Lao, Y., Li, Y., y Long, Y. (2020). Un chip genético sintetizado in situ para la detección de patógenos transmitidos por los alimentos en melón y lechuga recién cortados. *Fronteras en Microbiología*, 10:3089. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03089>
- Sharp, N. J., Vandamm, J. P., Molineux, I. J., y Schofield, D. A. (2015). Detección rápida de *Bacillus anthracis* en matrices alimentarias complejas mediante bioluminiscencia mediada por fagos. *Revista de protección de Alimentos*, 78(5), 963-968. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-534>
- Steenbergen, J., Tanaka, S. K., Miller, L. L., Halasohoris, S. A., y Hershfield, J. R. (2017). Actividad in vitro e in vivo de la omadaciclina contra dos patógenos bioamenazantes, *Bacillus anthracis* y *Yersinia pestis*. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia*, 61(5), e02434-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02434-16>
- Suo, B., He, Y., Paoli, G., Gehring, A., Tu, S. I., y Shi, X. (2010). Desarrollo de un microarreglo basado en oligonucleótidos para detectar múltiples patógenos transmitidos por los alimentos. *Sondas moleculares y celulares*, 24(2), 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2009.10.005>
- Todd, E. (2014). Enfermedades transmitidas por los alimentos: Visión general de los peligros biológicos y las enfermedades transmitidas por los alimentos en Y. Motarjemi, E. Todd, G. Moy (Eds.), *Enciclopedia de Seguridad Alimentaria* (Vol. 1, pp. 221-242). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00071-8>
- Torres, I. (2014). "Microarrays" de ARN [Tesis de pregrado, Universidad de Jaén]. [http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/542/1/TFG\\_Torres-Godino%20clsabel.pdf](http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/542/1/TFG_Torres-Godino%20clsabel.pdf)
- Uçar, A., Yilmaz, M., y Çakiroglu, F. (2016). Seguridad alimentaria - Problemas y soluciones. En H. Makun. (Ed.), *Importancia, prevención y control de las enfermedades relacionadas con la alimentación* (pp. 1-27). InTech. <https://doi.org/10.5772/60612>
- Vale F. F. (2016). Microarrays/chips de ADN para la detección de patógenos transmitidos por el agua en S. Bourlat (Ed.) *Genómica Marina. Métodos de biología molecular* (Vol. 1452, pp. 143-153). Prensa Humana. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3774-5\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3774-5_9)
- Woubit, A., Yehualaeshet, T., Habtemariam, T., y Samuel, T. (2012). Nuevas herramientas genómicas para la detección específica y en tiempo real de amenazas biológicas y patógenos transmitidos por los alimentos que se encuentran con frecuencia. *Revista de protección de Alimentos*, 75(4), 660-670. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-480>
- Wojciechowski, J., Danley, D., Cooper, J., Yazvenko, N., y Taitt, C. R. (2010). Detección electroquímica multiplexada de *Yersinia pestis* y enterotoxina estafilocócica B utilizando un microarreglo de anticuerpos. *Sensores*, 10(4), 3351-3362. <https://doi.org/10.3390/s100403351>
- Zwietering, M., Jacxsens, L., Membré, J. M., Nauta, M., y Peterz, M. (2016). Importancia de las pruebas microbianas de los productos acabados en la gestión de la seguridad alimentaria. *Control de alimentos*, 60, 31-43. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.002>