

Presencia de bacterias psicrófilas en huevos comercializados en Tulancingo, Hidalgo Presence of psychrophilic bacteria in eggs sold in Tulancingo, Hidalgo

C. J. González-Cruz ^a, J. E. Aparicio-Burgos ^a, N. Rivero-Pérez ^b, R. M. Gayosso-San-Juan ^b
W. M. Delgadillo-Ávila ^a, A. Zaragoza-Bastida ^{b,*}

^a Escuela Superior de Apan, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 43900, Apan, Hidalgo, México.

^b Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 43660, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

Resumen

Los huevos comerciales son vulnerables a la contaminación por microorganismos comensales y patógenos, mismos que representan un desafío significativo para la seguridad alimentaria y la salud pública. El objetivo fue evaluar el efecto de la temperatura de incubación en la curva del crecimiento de 10 cepas bacterianas provenientes de huevos comerciales del municipio de Tulancingo Hidalgo. Se realizó una descripción morfológica de las cepas y se determinó su crecimiento, así como su tiempo de generación a 4°C, 15°C y 37°C. Las bacterias evaluadas presentaron diferencias en la adaptación a las diferentes temperaturas evaluadas, se determinó que *Proteus mirabilis* alcanzó su máximo crecimiento a las 6 horas de incubación con un tiempo de generación de 21 minutos a una temperatura de 4°C. Las bacterias evaluadas muestran un estado de latencia a 4°C, lo anterior pone en evidencia que el mantener los huevos en refrigeración no garantiza que se detenga el crecimiento de las bacterias y generen alteraciones en estos.

Palabras Clave: Huevos, Bacteria, Gram negativa, Psicrófilas, *Proteus mirabilis*.

Abstract

Commercial eggs are vulnerable to contamination by commensal and pathogenic microorganisms, which represent a significant challenge to food safety and public health. The aim was to evaluate the effect of incubation temperature on the growth curve of 10 bacterial strains from commercial eggs from the municipality of Tulancingo Hidalgo. A morphological description of the strains was carried out and their growth was determined, as well as their generation time at 4°C, 15°C and 37°C. The bacteria evaluated showed differences in adaptation to the different temperatures evaluated; it was determined that *Proteus mirabilis* reached its maximum growth after 6 hours of incubation with a generation time of 21 minutes at a temperature of 4°C. The bacteria evaluated show a state of latency at 4°C, which shows that keeping the eggs refrigerated does not guarantee that the growth of the bacteria will stop and generate alterations in them.

Keywords: Eggs, Bacteria, Gram negative, Psychrophilic, *Proteus mirabilis*.

1. Introducción

El huevo para plato es una fuente rica de nutrientes, como: proteínas, vitaminas, hierro y otros minerales, sin embargo, este producto tiene una alta actividad de agua que lo convierte en un producto alimenticio altamente perecedero (Li *et al.*, 2017). El huevo es uno de los alimentos incluidos en la canasta básica y de la dieta mexicana con un consumo anual per cápita de 24 kg, (UNA, 2023). En cuanto, a la producción a nivel nacional según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en el año 2023, se produjeron 3 millones 172 mil toneladas (SIAP, 2023).

Debido a la alta producción y demanda en el consumo de este producto, se requiere garantizar la calidad en la cadena de producción y suministro del huevo. En México existe una Norma Oficial Mexicana que establece los estándares para el recuento total de bacterias mesófilas aerobias (5×10^4 UFC/g), de coliformes totales (< 3 número más probable/mL) y para *Salmonella* ausencia en 25 g (NOM-159-SSA1-2016). A pesar de la existencia de la Norma Oficial Mexicana, gran parte de la población desconoce el manejo adecuado del huevo y de los métodos para su conservación (Preciado and Elton, 2015). Algunos recomiendan realizar una limpieza y desinfección con compuestos químicos para disminuir la

*Autor para la correspondencia: adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx

Correo electrónico: go421391@uaeh.edu.mx (César J. González-Cruz), jose_aparicio@uaeh.edu.mx (José E. Aparicio Burgos), nallely_rivero@uaeh.edu.mx (Nallely Rivero-Pérez), ga280669@uaeh.edu.mx (Rosa M. Gayosso-San-Juan), wendy_delgadillo9970@uaeh.edu.mx (Wendy M. Delgadillo-Ávila), adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx (Adrian Zaragoza-Bastida).

Historial del manuscrito: recibido el 08/07/2024, última versión-revisada recibida el 29/08/2024, aceptado el 29/08/2024, en línea (postprint) desde el 23/09/2024, publicado el 05/07/2025. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v13i25.13385>



posible carga microbiana del cascarón (Olse *et al.*, 2017; Climaco *et al.*, 2018; Melo *et al.*, 2019).

Al respecto se ha reportado la presencia de los géneros bacterianos: *Escherichia*, *Staphylococcus* y *Salmonella* en el cascarón de huevos (Sander *et al.*, 2003), así como la presencia de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis en el interior de los huevos intactos y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium en huevos rotos (Guard-Petter, 2001; Kang *et al.*, 2006). Se ha demostrado que las cepas de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium colonizan los tejidos del tracto reproductivo de las gallinas y de esta forma contaminan los huevos (Gast *et al.*, 1990; Keller *et al.*, 1995).

Por otro lado, las bacterias patógenas y comensales pueden contaminar los huevos comerciales en cualquier etapa de la cadena de producción, desde la granja hasta el consumidor final (Marc *et al.*, 2024). Para aumentar la vida de anaquel del huevo, es almacenado en refrigeración, sin embargo, esta práctica puede favorecer la contaminación y el crecimiento de las bacterias psicotrofas (Adam *et al.*, 2010; Koppel *et al.*, 2016; da Silva *et al.*, 2022). Las bacterias psicotrofas son muy resistentes y son capaces de soportar entornos extremadamente fríos, entornos que inhibirían el crecimiento de otros microorganismos (Moyer and Morita, 2007).

Algunos de los géneros con especies psicrófilas reportadas en los alimentos son: *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* y *Micrococcus* (García *et al.*, 1993; López *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2022; Fisayo and Onoyinka, 2023; Al-brahim *et al.*, 2023). En particular, se sabe que los géneros bacterianos que contaminan el huevo son: *Bacillus*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Helicobacter*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* (Kone *et al.*, 2013; Neira, C., Laca *et al.*, 2017). Algunos de estos géneros bacterianos producen toxinas psicotolerantes en el interior del huevo, y que están relacionadas con importantes enfermedades humanas (Baron *et al.*, 2007; Pinchuk *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2017). Sin embargo, no se ha prestado la importancia necesaria en la identificación, en las tasas de crecimiento y en los tiempos de generación de otras bacterias con características psicótrofes en los huevos comerciales mexicanos. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura de incubación en la curva del crecimiento de 10 cepas bacterianas provenientes de huevos comerciales del municipio de Tulancingo Hidalgo, para determinar su capacidad adaptativa.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención del material biológico

Se eligieron 10 cepas bacterias aisladas de la parte interna de huevos comerciales de Tulancingo Hidalgo. Las bacterias fueron identificadas previamente y resguardadas en la colección bacteriana del laboratorio de bacteriología de investigación, del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), las cuales se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Bacterias seleccionadas con su clasificación Gram.

Bacteria	Clasificación Gram
<i>Serratia marcescens</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-
<i>Staphylococcus sciuri</i>	+
<i>Bacillus circulans</i>	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	+
<i>Lactococcus lactis</i>	+
<i>Staphylococcus xylosum</i>	+
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+

2.2 Preparación de las bacterias y determinación de la morfología bacteriana

Las cepas fueron reactivadas de la crioconservación por medio de su inoculación en el medio sólido Mueller Hinton (BD, Dibico), y posteriormente se verificó su pureza por medio de la tinción de Gram.

La identificación de la morfología de las cepas bacterianas se realizó siguiendo el protocolo descrito por Aguilar-Romero *et al.*, 2014.

2.3 Determinación de las curvas de crecimiento

Para determinar las curvas de crecimiento se siguió la metodología propuesta por (Myers *et al.*, 2013; Katipoglu-Yazan *et al.*, 2023) con algunas modificaciones. Las bacterias a evaluar fueron inoculadas en caldo nutritivo (BD Bioxon) e incubadas a 37°C por 24 horas, este proceso se repitió para garantizar la viabilidad de las bacterias.

Las bacterias fueron ajustadas al 0.5 del patrón de turbidez de McFarland (Remel, R20421) y posteriormente se inocularon 0.5 mL de la bacteria ajustada en 4.5 mL de caldo nutritivo para su incubación a las diferentes temperaturas, las temperaturas a evaluar fueron 4°C, 15°C y 37°C, cada evaluación fue realizada por triplicado.

De cada repetición se tomaron 100 µL y se colocaron en una placa de 96 pozos para medir la absorbancia, la cual se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, modelo Multiskan™ FC) a una longitud de onda de 620 nm para obtener la absorción (crecimiento) de cada muestra, las lecturas se realizaron a las 0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 y 48 horas.

2.4 Cálculo de la velocidad de crecimiento de las bacterias aisladas del interior del huevo

A partir de los datos obtenidos se calculó la tasa o velocidad de crecimiento denominada con la letra griega μ y el tiempo de generación denominado con la letra g establecidos por el modelo de Monod (Monod, 1949), para el crecimiento de cultivos bacterianos utilizando la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{\ln N - \ln N_0}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

Donde N representa el número de células a un determinado tiempo y N_0 representa el número de células en un cultivo bacteriano; según lo establecido por la ley de Lambert-Beer la turbidez (absorción) es proporcional a la concentración de partículas (Acebo-González and Hernández-García, 2013). En donde $N = Abs$. t_2 corresponde al tiempo dos expresado en minutos mientras que t_1 corresponde al tiempo uno expresado en minutos. Dando como resultado la siguiente modificación a (1):

$$\mu = \frac{\ln Abs_2 - \ln Abs_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

Abs_2 corresponde a la absorción obtenida en un tiempo dos y Abs_1 corresponde a la absorción obtenida en un tiempo uno; esta expresión debe resultar en unidades de minutos⁻¹. Las variables t_2 y t_1 no sufren modificaciones.

2.5 Cálculo del tiempo de generación de las bacterias aisladas del interior del huevo

Para calcular el tiempo de generación (g) se usó la siguiente ecuación (Monod, 1949):

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (3)$$

Donde μ corresponde a la velocidad de crecimiento y las unidades resultantes deben estar expresadas en minutos.

2.6 Análisis estadístico

Para el análisis de las curvas de crecimiento, las bacterias se dividieron en dos grupos de acuerdo con las absorbancias obtenidas, el Grupo 1: *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis* y *Staphylococcus sciuri*. Grupo 2: *Enterococcus faecalis*, *Bacillus circulans*, *Lactococcus lactis*, *Staphylococcus xylosum* y *Staphylococcus chromogenes*.

Los datos del crecimiento obtenidos por absorbancia de las cepas bacterianas fueron sometidos al análisis de varianza y en dependencia de la significancia, las medias se compararon mediante la prueba de Friedman con el programa GraphPad Prism versión 10.0.0 para Windows (GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA).

3. Resultados

3.1 Descripción morfológica de las diez cepas bacterianas

Se realizó la descripción de la morfología de las diez cepas bacterianas (Tabla 1). Se observó una textura lisa y color no pigmentado, características comunes en las cepas analizadas, con respecto a la apariencia de los bordes de las colonias varía entre ondulado y entero. Las elevaciones de los aislados fueron convexas, planas y elevadas con una consistencia de suave a dura y mucosoide.

3.1 Determinación de las curvas de crecimiento

En la Figura 1 se muestra la curva de crecimiento correspondiente al grupo 1 en donde se observa que *Proteus*

mirabilis presentó la mayor velocidad de mayor crecimiento a 36 °C (Temperatura control) de los primeros minutos de evaluación ($p \leq 0.05$), seguido de *Staphylococcus sciuri*, sin embargo, esta cepa alcanzó su punto máximo de crecimiento después de las 20 horas en comparación con las otras cepas. Las cepas de *S. marcescens*, *B. licheniformis* y *E. coli* mostraron una velocidad de crecimiento similar sin mostrar diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$).

Proteus mirabilis y *Bacillus licheniformis* fueron las cepas más adaptadas a la temperatura de 15°C sin mostrar diferencias estadísticas significativas a las 36 y 48 horas ($p \geq 0.05$), sin embargo, en los primeros tiempos lectura se observó una mayor adaptación de *Bacillus licheniformis*. Aunado a lo anterior, se observó que la bacteria con la menor adaptación a esta temperatura fue *Staphylococcus sciuri* con una absorbancia menor a 0.2 nm.

Se determinó que a 4°C *Proteus mirabilis* fue la bacteria con el mayor crecimiento y fue la que mejor se adaptó a esa temperatura de incubación, mostrando diferencias estadísticas con las otras cepas ($p \leq 0.05$). En comparación con las otras bacterias, y mostró un crecimiento máximo en un tiempo menor a 10 horas. El resto de las bacterias han mostrado un crecimiento bastante similar.

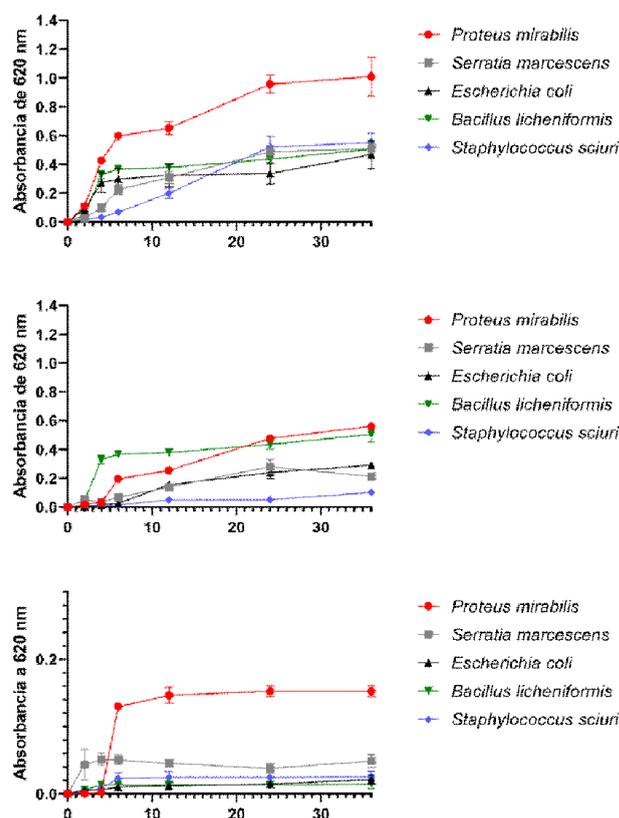


Figura 1. Curva de crecimiento a 36°C (A), 15°C (B) y 4°C (C) de *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *E. coli*, *B. licheniformis* y *S. sciuri*, a los tiempos 0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 y 48 horas.

En la Figura 2, se muestra la curva de crecimiento correspondiente al grupo 2, donde se puede observar una mejor adaptación de *E. faecalis* a 36 °C y *S. chromogenes* fue la bacteria que mostró un menor crecimiento, además, de mostrar un periodo de adaptación muy extenso en comparación con las otras cepas. El resto de las cepas han tenido un crecimiento muy similar.

Aunado a lo anterior, se muestra el crecimiento a 15°C, donde se determinó que *E. faecalis* fue la bacteria con una mejor respuesta de crecimiento a esta temperatura ($p \leq 0.05$). *B. circulans*, *L. lactis*, *S. xyloso* presentaron un crecimiento similar ($p \geq 0.05$), y *S. chromogenes* fue la bacteria con la menor adaptación.

Con respecto al crecimiento a 4°C, se observó un crecimiento limitado ya que se determinaron una absorbancia por debajo del 0.1 nm, sin embargo, aun y con crecimiento limitado *E. faecalis* fue la bacteria más adaptada a esta temperatura.

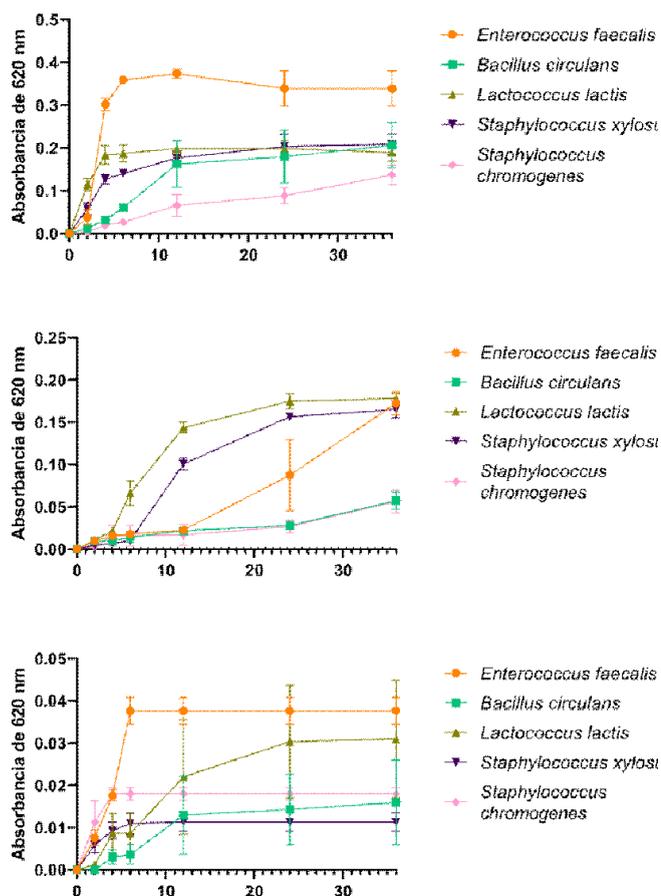


Figura 2. Curva de crecimiento a 36°C (A), 15°C (B) y 4°C (C) de *E. faecalis*, *B. circulans*, *L. lactis*, *S. xyloso* y *S. chromogenes*, a los tiempos 0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 y 48 horas.

3.2 Tiempo de generación de las bacterias aisladas del interior del huevo

Respecto al tiempo de generación expresado en la Tabla 2, se observó que *P. mirabilis* fue la bacteria que mejor se ha adaptado a 4°C, con un tiempo de generación de 21 minutos, repitiendo la misma tendencia a 15°C con un tiempo de generación de 45 minutos, finalmente a 36°C la bacteria que mostró el menor tiempo de generación fue *E. faecalis* con un tiempo de 40 minutos. En la Tabla 2 se muestra a detalle el tiempo de generación para cada bacteria.

Tabla 2. Tiempo de generación calculada en minutos para las bacterias evaluadas.

Bacteria	Tiempo de generación en minutos		
	4°C	15°C	36°C
<i>S. marcescens</i>	491	205	61
<i>E. coli</i>	163	86	76
<i>P. mirabilis</i>	21	45	62
<i>S. sciuri</i>	113	145	135
<i>B. circulans</i>	414	211	131
<i>B. licheniformis</i>	104	99	44
<i>E. faecalis</i>	100	177	40
<i>L. lactis</i>	268	128	177
<i>S. xyloso</i>	188	233	107
<i>S. chromogenes</i>	180	53	53

4. Discusión

Todas las colonias bacterianas no presentaron pigmentación de consistencias suaves y mucoides, y con bordes enteros. De acuerdo con Aguilar-Romero y cols., 2014, algunas especies del género *Staphylococcus* no muestran pigmentación y presentan una forma circular coincidiendo con nuestros resultados. En el caso del género de *Escherichia* algunas colonias pueden presentar un color grisáceo y de consistencia mucoide (Aguilar-Romero et al., 2014), características reportadas en el presente estudio. Wakita y cols., 2007 reportan que las colonias de *Bacillus* sp. forman un anillo concéntrico y de borde irregular en el centro. En nuestras cepas de *Bacillus* sp. analizadas no se observó el anillo concéntrico, sin embargo, si presentaron bordes irregulares y circulares.

Las cepas evaluadas fueron capaces de crecer a 36°C, con crecimiento abundante de *P. mirabilis*; *S. marcescens*; *E. coli*; *B. licheniformis*; *E. faecalis*; *S. sciuri* (Figuras 1 y 2). Estos resultados son similares a los reportados por Jurado y Gúzman, 2015, en donde observaron que la densidad máxima fue de 3.3×10^{10} UFC/mL de bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli* cultivadas a 35°C.

En cuanto a las pruebas fisiológicas de crecimiento a bajas temperaturas (4 °C y 15 °C), de las diez bacterias evaluadas solo *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *E. coli*, *B. licheniformis* presentaron crecimiento a 15°C (Figura 1 y 2), pero únicamente *P. mirabilis* mostró un crecimiento abundante a 4°C con diferencia significativa ($p < 0.05$) (Figura 3). Al respecto se sabe que *B. subtilis* aislada de la rizosfera de plantas de papa puede crecer a 4°C (Calvo y Zuñiga, 2010) y *Bacillus* spp. aislados de la leche cruda tienen la capacidad de crecer a temperaturas de 2°C por un largo tiempo (Griffiths and Phillips, 1990), información que coincide con lo reportado en el presente estudio.

Las bacterias psicrófilas son microorganismos que tienen la capacidad de multiplicarse a bajas temperaturas y su temperatura óptima de crecimiento es baja, aproximadamente a 15°C o inferior e incluso a temperaturas de refrigeración (4°C) (Moyer and Morita, 2007).

Existen varias estrategias de supervivencia usadas por las bacterias psicrotróficas bajo condiciones de estrés por frío, entre las cuales destacan i) la organización estructural de la envoltura celular (para el caso de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* CFL1) y de la membrana plasmática con ácidos grasos cíclicos y poliinsaturados en los fosfolípidos de sus membranas (aumentando la fluidez de la membrana) (Schinik, 1999); ii) La producción de moléculas crioprotectoras como: azúcares, aminoácidos, polialcoholes y polímeros, y algunos puede mantener la integridad de la membrana y en mantener la osmoprotección bacteriana (Vivanco-Calixto et al., 2016; Hubalek, et al., 2003; Cleland et al., 2004; Morales-García et al., 2010); iii) Producción de polisacáridos para potenciar la tolerancia a las bajas temperaturas como lo hace la bacteria *Pseudoalteromonas* sp. SM20310 (Liu, 2013) y iv) Una disminución de los expresión de genes ligados al metabolismo energético y a la incorporación de fuentes de carbono, así como un aumento en la producción de la proteína de shock por frío producida por la bacteria *Psychrobacter arcticus* 273-4 (Kuhn, 2012). Estrategias que, no fueron evaluadas en el presente estudio, sin embargo, podrían ser la explicación del crecimiento bacteriano a bajas concentraciones de las cepas evaluadas.

Proteus mirabilis es un bacilo Gram negativo, zoonótico y es el causante de infecciones urinarias y respiratorias en pacientes humanos (Rubio-Sánchez and Lepe-Balsalobre, 2022; Villamil et al., 2006). Varios estudios han reportado la presencia *Proteus mirabilis* en carne de pollo de venta al público y en lesiones patológicas en tejidos de aves de engorda (Guerra et al., 2023; Sánchez et al., 2020; Sánchez et al., 2021). Sin embargo, la presencia de esta bacteria en el interior de los huevos comercializados al por menor no se había reportado; esto podría explicarse debido a la amplia distribución en el ambiente de esta bacteria, ya que forma parte del microbiota de los animales y por su capacidad de adherencia a las células HEP-2 del tejido urinario (Drzewiecka, 2016; Sánchez et al., 2021; Espinosa-Antúnez et al., 2019). De acuerdo con lo anteriormente mencionado, la bacteria fácilmente puede alcanzar el cascarón e ingresar al interior del huevo por un mal manejo del producto.

El tiempo de generación en bacterias se refiere al tiempo que una célula bacteriana necesita para dividirse en dos por división binaria (Baer and Keady, 2021). En condiciones ideales de temperatura y medios de cultivos, algunas bacterias pueden duplicarse rápidamente, mientras que otras requieren más tiempo. Las bacterias mesófilas como: *E. coli* tiene un tiempo de generación de 20 minutos y *Staphylococcus aureus*, necesita 30 minutos para dividirse en dos células (Zu and Lebek, 1980; Belay and Rasooly, 2002). En contraste, con los resultados de nuestro estudio, en donde se observó que promedio en el tiempo de generación de las diez bacterias analizadas fue de 89 minutos a 36°, incluso la cepa de *E. coli* necesito 76 minutos resultado que no coincide los tiempos anteriormente descritos y la bacteria que presentó un menor tiempo de generación fue *Bacillus licheniformis* con 44 minutos (Tabla 2). Así mismo se observó una tendencia en el aumento del tiempo de generación de 138 minutos a 204 minutos en la mayoría de las bacterias crecidas a 15°C y a 4°C (Tabla 2), sin embargo, *Proteus mirabilis* presentó un tiempo de generación más corto, de 21 minutos a 4°C en

comparación con las bacterias analizadas. En este contexto, la bacteria del hielo marino del Ártico *Psychromonas ingrahamii* ha demostrado tener la temperatura de crecimiento más baja, de 240 horas a -20 °C (Breezee and Staley, 2004). El crecimiento bacteriano no es infinito ni constante debido a diversas variables, como especies, temperatura, pH y nutrientes disponibles, y el tiempo de generación es crucial para comprender cómo las bacterias se multiplican y se adaptan a cualquier entorno.

Conclusiones

Las bacterias evaluadas presentaron diferencias en la adaptación a las diferentes temperaturas evaluadas. Las bacterias evaluadas muestran un estado de latencia al ser sometidas a 4°C, sin embargo, *P. mirabilis* fue la más adaptada con un tiempo de generación de 21 minutos a una temperatura de 4°C. Lo anterior pone en evidencia que el mantener los huevos en refrigeración(4°C) no garantiza que se detenga el crecimiento de las bacterias y generen alteraciones en este.

Agradecimientos

Los autores agradecen la asistencia de la Secretaría de Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH).

Referencias

- Acebo-González, D., & Hernández-García, A. T. (2013). Los métodos Turbidimétricos y sus aplicaciones en las ciencias de la vida. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(1).
- Aguilar-Romero, F., Anguiano-Báez, R., Atilano-López, D., Bazán-Mora, E., Castañeda-Ramírez, A., Castañón-Olivares, L. R., Chávez-Gris, G., Corona-Barrera, E., De La Peña-Moctezuma, A., Espinosa-González, M. E., Espinosa-Montaño, L. G., García-Delgado, G. A., García-Ortiz, M. Á., Guzmán-Chávez, R. E., Jaramillo-Meza, L., Maldonado-Castro, E., Ovando-Fuentes, D., Rodríguez-Camarillo, S. D., Rodríguez-Sánchez, M. C., Yela-Miranda, I. J. (2014). Atlas Fotográfico de Laboratorio de Bacteriología y Micología Veterinarias (1.a ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Adam, K. H., Flint, S. H., & Brightwell, G. (2010). Psychrophilic and psychrotrophic clostridia: sporulation and germination processes and their role in the spoilage of chilled, vacuum-packaged beef, lamb and venison. *International journal of food science & technology*, 45(8), 1539-1544.
- Al-brahim, J. S., Abdalla, O. A., & Alwarqan, A. I. (2023). Identification of Previously Unrecorded Bacillus, Serratia, and Mucor Strains Isolated from Yogurt. *Applied Sciences*, 13(23), 12819.
- Baer, A., & Keady, J. P. (2021). Bacterial Normalized Binary Fission Growth Model. *bioRxiv*, 2021-10.
- Baron, F., Cochet, M. F., Grosset, N., Madec, M. N., Briandet, R., Dessaigne, S., ... & Jan, S. (2007). Isolation and characterization of a psychrotolerant toxin producer, *Bacillus weihenstephanensis*, in liquid egg products. *Journal of food protection*, 70(12), 2782-2791.
- Belay, N., & Rasooly, A. (2002). *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin A production in an anaerobic environment. *Journal of food protection*, 65(1), 199-204.
- Breezee, J., Cady, N., & Staley, J. T. (2004). Subfreezing growth of the sea ice bacterium "*Psychromonas ingrahamii*". *Microbial Ecology*, 47, 300-304.
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología aplicada*, 9(1), 31-39.
- Cleland, K., Krader P, McCree C, Tang J, Emerson D. Glycine betaine as a cryoprotectant for prokaryotes. *J Microbiol Methods*. 2004;58(1):31-8.
- Clímaco, W. L. D. S., Melo, É. D. F., Vaz, D. P., Saldanha, M. M., Pinto, M. F. V. D. S., Fernandes, L. C. C., & Lara, L. J. C. (2018). Eggshell

- microbiology and quality of hatching eggs subjected to different sanitizing procedures. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53, 1177-1183.
- da Silva Pires, P. G., Bavareco, C., & Moraes, P. D. O. (2022). Hundred years of knowledge on table egg refrigeration. *World's Poultry Science Journal*, 78(4), 1007-1019.
- Espinosa-Antúnez, V. K., Castrillón-Rivera, L. E., Vega-Memije, M. E., Valenzuela-Vargas, M. T., Sainz-Espuñes, T., Luna-Herrera, J., & Castañeda-Sánchez, J. I. (2019). *Proteus mirabilis* expressing Plasmid-encoded toxin (Pet) causes urinary tract alterations. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 22.
- Drzewiecka, D. (2016). Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial ecology*, 72, 741-758.
- Fisayo, O. O., & Onoyinka, A. A. (2023). Contamination of Retailed Yam Products at Two Popular Markets in Ibadan with *Pseudomonas* Spp, and *Flavobacterium* Spp. *Int J Agriculture Technology*, 3(2), 1-7.
- García-López, M. L., Otero, A., García-Fernández, M. C., & Santos, J. A. (1993). Incidencia, comportamiento y control de *Aeromonas hydrophila* en productos cárnicos y lácteos. *Microbiología*, 9, 49-56.
- Gast, R. K., and C. W. Beard. 1990. Isolation of *Salmonella enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis.* 34:991-993.
- Guerra, D. C., Aguilar, S. E., Usiña, J. G., Miranda, C. M., & Quintana, S. C. (2023). Identificación de *Proteus mirabilis* en carne de pollo procedente de comercios en Cantón Ambato. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria Pentaciencias*, 5(5), 631-643.
- Guard-Petter, J. 2001. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. *Environ. Microbiol.* 3:421-430.
- Griffiths, W.M., Phillips, J.D. (1990): Incidence, source and some properties of psychrotrophic *Bacillus* spp. found in raw and pasteurized milk. *International Journal of Dairy Technology* 43, 62-66.
- Hubalek, Z. (2003). Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, 46(3), 205-229.
- Jurado-Gómez H, Gúzman-Insuasty M. 2015. Determinación de la cinética, pruebas de crecimiento y efecto de inhibición in vitro de *Lactobacillus casei* en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. *Rev Med Vet Zoot.* 62(2): 23-39.
- Kang, H., Loui, C., Clavijo, R. I., Riley, L. W., & Lu, S. (2006). Survival characteristics of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken egg albumen. *Epidemiol Infect.* 134(5), 967-976. doi:10.1017/s0950268806006054
- Katipoglu-Yazan, T., Dev, S., Desmond-Le Quémener, E., & Bouchez, T. (2023). Data on the influence of temperature on the growth of *Escherichia coli* in a minimal medium containing glucose as the sole carbon source for the joint computation of growth yields and rates at each temperature from 27 to 45°C. *Data in Brief*, 48, 109037. doi:https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.109037
- Koppel, K., Sosa, M., Gutierrez, N. G., Cardinal, P., Godwin, S. L., Cates, S. C., & Chambers IV. (2016). Consumer practices for purchase, storage, and preparation of poultry and eggs in selected North and South American countries: A pilot study. *Vitae*, 23(1), 58-64.
- Keller, L. H., C. E. Benson, K. Krotec, and R. J. Eckroade. 1995. *Salmonella enteritidis* colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. *Infect. Immun.* 63:2443-2449.
- Kone, A. Z., Jan, S., Le Maréchal, C., Grosse, N., Gautier, M., Puterflam, J., & Baron, F. (2013). Identifying risk factors for eggshell contamination by *Bacillus cereus* group bacteria in French laying farms. *British poultry science*, 54(3), 298-305.
- Kuhn, E. (2012). Toward understanding life under subzero conditions: the significance of exploring psychrophilic "cold-shock" proteins. *Astrobiology*, 12(11), 1078-1086.
- Laurencio-Silva, M., Arteaga, F., Rondón-Castillo, A. J., Ormaza, J., Pinto, J., Pazmiño, D., & Macías, I. (2017). Potencial probiótico in vitro de cepas de *Lactobacillus* spp. procedentes de la vagina de vacas lecheras. *Pastos y Forrajes*, 40(3), 206-215.
- López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navas, J., & Martínez-Suárez, J. V. (2006). *Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de virulentos?. *Revista Argentina de Microbiología*, 38(4), 224-234.
- Li-Chan, E. C., Powrie, W. D., & Nakai, S. (2017). The chemistry of eggs and egg products. In *Egg Science and Technology* (pp. 105-175). CRC Press.
- Liu, S. B., Chen, X. L., He, H. L., Zhang, X. Y., Xie, B. B., Yu, Y., ... & Zhang, Y. Z. (2013). Structure and ecological roles of a novel exopolysaccharide from the Arctic sea ice bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain SM20310. *Applied and environmental microbiology*, 79(1), 224-230.
- Marc, R. A., Mureşan, C. C., Postolache, A. N., Crivei, I. C., Raţu, R. N., Stoica, F., & Veleşcu, I. D. (2024). Advanced Risk and Hazard Analysis in the Egg Sorting-Packing Station Industry from Supplier Selection to Delivery in Chain Stores under GFSI Integrated Food Safety Programs.
- Melo, E. F., Clímaco, W. L. S., Triginelli, M. V., Vaz, D. P., De Souza, M. R., Baião, N. C., & Lara, L. J. C. (2019). An evaluation of alternative methods for sanitizing hatching eggs. *Poultry science*, 98(6), 2466-2473.
- Monod, J. (1949). THE GROWTH OF BACTERIAL CULTURES. *Annual Review of Microbiology*, 3(VOLUME 3, 1949), 371-394. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.mi.03.100149.002103.
- Morales-García Y-E, Duque E, Rodríguez- Andrade O, de la Torre J, Martínez-Contreras R-D, Pérez R. 2010. Bacterias preservadas, una fuente importante de recursos biotecnológicos. *Bio Tecnol.* 14(2): 11-29.
- Moyer, C. L., & Morita, R. Y. (2007). Psychrophiles and psychrotrophs. *Encyclopedia of life sciences*, 1(6).
- Myers, J. A., Curtis, B. S., & Curtis, W. R. (2013). Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophysics*, 6(1), 4. doi:10.1186/2046-1682-6-4.
- Neira, C., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2017). Microbial diversity on commercial eggs as affected by the production system. A first approach using PGM. *International journal of food microbiology*, 262, 3-7.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-159-SSA1-2016. Productos y servicios. Huevo y sus productos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Método de prueba. Consultada el 13 de junio en la página: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5510622&fecha=16/01/2018#gsc.tab=0
- Olsen, R., Kudirkiene, E., Thøfner, I., Pors, S., Karlskov-Mortensen, P., Li, L., & Christensen, J. (2017). Impact of egg disinfection of hatching eggs on the eggshell microbiome and bacterial load. *Poultry science*, 96(11), 3901-3911.
- UNA. 2014. Indicadores económicos compendio de indicadores económicos del sector avícola 2023. Disponible en: <https://una.org.mx/compendio-de-indicadores-economicos-del-sector-avicola-2023/>
- Rubio-Sánchez, R., & Lepe-Balsalobre, E. (2022). Importancia de la cristaluria por estruvita en el diagnóstico de la infección urinaria por *Proteus mirabilis*. *Revista mexicana de urología*, 82(5).
- Pinchuk, I. V., Beswick, E. J., & Reyes, V. E. (2010). Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*, 2(8), 2177-2197.
- Preciado-Cortés Roxana, S.-P. M. d. C., Elton-Puente Juana Elizabeth., (2015). Análisis del impacto de diferentes métodos de conservación en la calidad del huevo para consumo en el estado de querétaro. Retrieved from.
- Vivanco-Calixto R, Molina-Romero D, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, Munive-Hernández JA, Baez-Rogelio A, et al. Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]*. 2016;1(1):1-10. Available from: <https://www.aytbuap.mx/publicaciones#h.26a62fnd2t88>
- Villamil Cajoto, I., Eynde Collado, A., Villacián Vicedo, M. J., Martínez Rey, C., Rodríguez Otero, L., & Rodríguez Framil, M. (2006, March). Neumonía comunitaria por *Proteus mirabilis*. In *Anales de medicina interna* (Vol. 23, No. 3, pp. 146-146). Arán Ediciones, SL.
- Sánchez, M. S., Baptista, A. A. S., de Souza, M., Menck-Costa, M. F., Justino, L., Nishio, E. K., ... & Rocha, S. P. D. (2020). *Proteus mirabilis* causing cellulitis in broiler chickens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 1353-1362.
- Sánchez, M. S., da Silva, C. R., Silva, L. C., Montini, V. H., Barboza, M. G. L., Guidone, G. H. M., ... & Rocha, S. P. D. (2021). *Proteus mirabilis* from community-acquired urinary tract infections (UTI-CA) shares genetic similarity and virulence factors with isolates from chicken, beef and pork meat. *Microbial Pathogenesis*, 158, 105098.
- Sander, J. E., Wilson, J. L., Cheng, I. H., & Gibbs, P. S. (2003). Influence of slat material on hatching egg sanitation and slat disinfection. *Journal of Applied Poultry Research*, 12(1), 74-80.
- Schinik, B. (1999). *Habitats of Prokaryotes*. U knizi: *Biology of Prokaryotes* Ed by Joseph W. Lengeler. Gerhard Drews i Hans G. Schlegel. Gautier, J., Passot, S., Pénicaud, C., Guillemin, H., Cenard, S., Lieben, P., & Fonseca, F. (2013). A low membrane lipid phase transition temperature is associated with a high cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* CFL1. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5591-5602.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/892964/Huevo_Enero.pdf
- Wakita, J. I., Shimada, H., Itoh, H., Matsuyama, T., & Matsushita, M. (2001). Periodic colony formation by bacterial species *Bacillus subtilis*. *Journal of the physical society of Japan*, 70(3), 911-919.

- Wang, X., Du, H., & Xu, Y. (2017). Source tracking of prokaryotic communities in fermented grain of Chinese strong-flavor liquor. *International Journal of Food Microbiology*, 244, 27-35.
- Zheng, R., Qing, H., Ma, Q., Huo, X., Huang, S., Zhao, L., ... & Ji, C. (2022). A Newly isolated *alcaligenes faecalis* ANSA176 with the capability of alleviating immune injury and inflammation through efficiently degrading ochratoxin A. *Toxins*, 14(8), 569.
- Zu, P., & Lebek, G. (1980). Generation time-prolonging R plasmids: correlation between increases in the generation time of *Escherichia coli* caused by R plasmids and their molecular size. *Plasmid*, 3(1), 65-69.