



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DECUNDINAMARCA

Facultad de Ciencias de la salud
Programa de Maestría en Microbiología

**Estudio del microbioma de *Alphitobius diaperinus*
recolectado en una granja avícola mediante una
aproximación metagenómica.**

Claudia Patricia Torres Valderrama

**Bogotá D.C, Colombia
Febrero de 2022**

Estudio del microbioma de *Alphitobius diaperinus* recolectado en una granja avícola mediante una aproximación metagenómica.

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de

Magíster en Microbiología
(Modalidad de Profundización)

Claudia Patricia Torres Valderrama
Médico veterinario. Esp. Laboratorio Clínico

Directora:
Martha Lucía Posada Buitrago
Bióloga. Ph.D Microbiología
Programa: Maestría en Microbiología
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Codirector:
Jimmy Jolman Vargas Duarte
Médico veterinario Ph.D Ciencias Veterinarias
Instituto de Genética Universidad Nacional

Línea de Investigación:
Agroambiental
Grupo de Investigación CEPARIUM

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias
Programa de Maestría en Microbiología
Bogotá D.C., Colombia
Febrero de 2022

Dedicatoria

Le dedico este proyecto y agradezco al todo poderoso, quien me ha dado la vida, permitiendo lo bueno para conocer mis capacidades y las situaciones difíciles para fortalecer mi espíritu. Lo dedico a mi familia, en especial a mi hermana por su apoyo incondicional; por último, a Álvaro Chaparro Valderrama, veterinario y tutor, quien siempre creyó en mí; a mi amiga sincera con mucha fortaleza hasta el final de su enfermedad, Olguita, y mi abuelita Adela, con quien me gustaría físicamente compartir este logro académico. A ellos tres, aunque ya no estén.

Agradecimientos

Agradezco a mi tutora la doctora Martha Lucía Posada; directora de la Maestría en Microbiología de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por el tiempo dedicado y sus invaluable conocimientos, por su paciencia y disposición y sabiduría para solucionar cada situación.

De igual forma a la doctora Paola Santos, coordinadora de la Maestría en Microbiología, por su colaboración, su gran disposición y eterna paciencia.

Al doctor Jimmy Jolman Vargas, de la Universidad Nacional de Colombia por su direccionamiento.

A Camilo Galindo de la Universidad Nacional por la donación de las muestras para este proyecto en medio de la pandemia CoVid-19.

Agradezco a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por permitirme el espacio del Laboratorio de Investigaciones para la realización del procesamiento de las muestras. También a la Universidad Nacional por la colaboración en la cuantificación de estas.

A los docentes y compañeros de posgrado por su apoyo incondicional, a Diana Carolina Ortiz, Francy León, Angie Hormiga y, en especial a Nicolás Rojas del grupo de investigación Ceparium, por su aporte para el logro de mis objetivos.

Contenido

1. Introducción	13
2. Objetivos	15
2.1 Objetivo general.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3. MARCO CONCEPTUAL Y GENERALIDADES	16
3.1 <i>Alphitobius diaperinus</i>	16
3.2 Diversidad del microbioma de los escarabajos	17
3.3 <i>Alphitobius diaperinus</i> como vector de enfermedades avícolas.....	18
3.4 Vectores como portadores de bacterias y de genes de resistencia.....	20
3.4.1 Genes de resistencia en pollos de engorde y su difusión en granjas avícolas.....	21
3.4.2 Implicaciones de la resistencia antimicrobiana (AMR) en salud pública.....	23
3.5 Metagenómica.....	26
3.6 ARG y metagenómica.....	31
3.7 Aplicación de metagenómica al estudio de artrópodos.....	31
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	33
4.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
4.1.1 Recolección y procesamiento de muestras de adultos del artrópodo <i>Alphitobius diaperinus</i>	34
4.1.2 Procesamiento de muestras de adultos del artrópodo <i>Alphitobius diaperinus</i>	34
4.2 Extracción de ADN de las muestras de <i>Alphitobius diaperinus</i>	35
4.2.1 Maceración de las muestras en mortero con nitrógeno líquido	36
4.2.2 Verificación de calidad de ADN por secuenciación	37
4.3 Secuenciación de ADN.....	38
4.4 Análisis bioinformático	38
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
5.1 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN DE <i>Alphitobius diaperinus</i>	
5.2 Ensayo de PCR convencional	39
5.3 Resultados de la secuenciación y análisis.....	41
5.3.1 Análisis bioinformático.....	42
5.4 Bacterias identificadas en el microbioma de adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i>	44
5.4.1 Actinobacteria	51

5.4.2	Firmicutes	54
5.4.3	Proteobacterias	56
5.4.4	Bacteroidetes	59
5.4.5	Bacterias patógenas identificadas en adultos de <i>A. diaperinus</i>	60
5.5	Hongos identificados en adultos de <i>A. diaperinus</i>.....	72
5.5.1	Ascomycota.....	73
5.5.2	Mucoromycota	76
5.6	Virus.....	78
5.7	Relación con otros estudios.....	79
6.	Recomendaciones para futuros estudios.....	85
7.	Conclusiones	87
8.	Referencias Bibliográficas.....	89
Anexos	120

Lista de tablas

Tabla 1. Relación de los patógenos transmitidos por el artrópodo <i>A. diaperinus</i> que causan enfermedades en las granjas avícolas, basado en (19)	19
Tabla 2. Desarrollo de los métodos de secuenciación del DNA	27
Tabla 3. Plataformas de secuenciación de próxima generación (<i>Next Generation Sequencing - NGS</i>)	30
Tabla 4. Descripción de los primers utilizados para la PCR	36
Tabla 5. Mezcla maestra para PCR del gen 16S del ADNr de procariontes y la región ITS de hongos	37
Tabla 6. Condiciones de amplificación por PCR convencional para las regiones 16S del ADN ribosomal de procariontes e ITS de hongos	37
Tabla 7. Cuantificación del ADN de <i>Alphitobius diaperinus</i>	39
Tabla 8. Características generales de las actinobacterias halladas en <i>A. diaperinus</i> adultos con aplicaciones biotecnológicas	48
Tabla 9. Bioprospección descrita en actinobacterias identificadas en <i>A. diaperinus</i>	50
Tabla 10. Firmicutes hallados en adultos de <i>A. diaperinus</i> con aplicaciones biotecnológicas	56
Tabla 11. Proteobacterias halladas en adultos de <i>A. diaperinus</i> con aplicaciones biotecnológicas	57
Tabla 12. Características generales de <i>Aspergillus</i> sp	74
Tabla 13. Bacterias en instalaciones avícolas que son comunes a las halladas en adultos de <i>A. diaperinus</i>	79
Tabla 14. Bacterias con ARG aisladas en moscas domésticas de instalaciones avícolas que coinciden con las halladas en <i>A. diaperinus</i>	80
Tabla 15. ARG más frecuentes en artrópodos.	80

Lista de figuras

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Alphitobius diaperinus</i> (8)	17
.....	
7	
Figura 2. Muertes atribuibles a AMR	25
.....	
5	
Figura 3. Galpón de la granja avícola, se observa la parvada destinada a la producción	3
.....	
44	
Figura 4. Esquema de recolección muestras para el hallazgo de los artrópodos	
.....	
..... 344	
Figura 5. Lavado de los artrópodos <i>A. diaperinus</i> con Hipoclorito de sodio al 3% y etanol al 70%	3
.....	
55	
Figura 6. Maceración de la muestra (<i>A. diaperinus</i>)	36
.....	
6	
Figura 7. PCR de la región ITS	40
.....	
0	
Figura 8. PCR del gen 16S rRNA	40
.....	
0	
Figura 9. PCR de la región 16S	
.....	
41	
Figura 10. Abundancia de bacterias por clase en la muestra AD1	43
.....	
3	
Figura 11. Porcentaje de la abundancia de Eucariotas en AD1	43
.....	
3	
Figura 12. Abundancia de géneros bacterianos en adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i>	4
.....	
44	

Figura 13. Abundancia Actinobacterias en adultos de *Alphitobius diaperinus*
.477

Figura 14. Abundancia de Firmicutes en adultos de *Alphitobius diaperinus*

.....

55

Figura 15. Abundancia de Proteobacterias en adultos de *Alphitobius diaperinus*

.....

..... 588

Figura 16. Representación del porcentaje de especies con potencial biotecnológico y potencial de riesgo de patogenicidad

722

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
AD1	<i>Alphitobius diaperinus</i> , muestra1
AMR	Resistencia antimicrobial
ARG	Genes de resistencia antimicrobiana
AwaRe	A (<i>Access</i>) wa (<i>Watch</i>) Re (<i>Reserve</i>). Herramienta de la OMS para reducir la resistencia antimicrobiana y asegurar el acceso a los antibióticos
BLEE	Betalactamasa de espectro extendido
CIPARS	Programa antimicrobial Integrado de Canadá
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
DAP	Ácido diapinomélico
EAHP	Enfoque de una salud de la Comisión Europea
ESC	Cefalosporina de espectro extendido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
HGT	Transferencia de genes Horizontal
ITS	Espaciador transcrito interno
IACG	Grupo de coordinación Interagencial sobre resistencia a los antibióticos.
ICTV	Comité Internacional de Taxonomía de virus
MEG	Elementos genéticos móviles
MDR	Resistencia a múltiples fármacos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina

Resumen

Son varios los factores que afectan la salud de las aves en la producción avícola, sin embargo, se ha dedicado poca atención a los artrópodos que pueden actuar como posibles vectores de enfermedad, siendo el actor principal *Alphitobius diaperinus*. En respuesta a esta problemática, de lo que representa este artrópodo en avicultura, se plantearon dos enfoques: el primero basado en metagenómica por secuenciación no dirigida o *shotgun*, en el que se secuenció todo el material genómico y se realizó el correspondiente análisis bioinformático, que permitió conocer la diversidad y la abundancia de las comunidades microbianas; y el segundo, la determinación de las especies con potencial biotecnológico y de los posibles genes de resistencia antimicrobianos en las especies con riesgo de patogenicidad identificadas en el estudio.

Este trabajo amplía el conocimiento sobre la comunidad microbiana de *A. diaperinus* en relación a su potencial en bioprospección, plantear una alerta a la comunidad médica, y los avicultores de los riesgos por la posible transferencia de genes de resistencia a los antibióticos. Además se proponen recomendaciones a los avicultores en relación al biomanejo de este artrópodo.

Palabras clave: *Alphitobius diaperinus*, microbioma de artrópodos, bioprospección, metagenómica, genes de resistencia, vector de ARG.

Abstract

There are several factors that affect the health of birds in poultry production, however, little attention has been devoted to arthropods that can act as possible vectors of disease, the main actor being *Alphitobius diaperinus*. In response to this problem, of what this arthropod represents in poultry farming, two approaches were proposed: the first based on metagenomics by non- directed sequencing or shotgun, in which all the genomic material was sequenced and bioinformatic analysis was carried out, which allowed knowing the diversity and abundance of microbial communities; and the second, the determination of the species with biotechnological potential and the possible antimicrobial resistance genes in the species with risk of pathogenicity identified in the study.

This work expands the knowledge about the microbial community of *A. diaperinus* in relation to its potential in bioprospecting, raising an alert to the medical community, and poultry farmers of the risks due to the possible transfer of antibiotic resistance genes. In addition, recommendations are proposed to poultry farmers in relation to the biomanagement of this arthropod.

Key words: *Alphitobius diaperinus*, arthropod microbiome, bioprospecting, metagenomics, resistancegenes, ARG vector.

1. Introducción

Los objetivos de este trabajo fueron, describir las especies que conforman el microbioma de *Alphitobius diaperinus*, caracterizando y analizando la diversidad microbiana hallada en el artrópodo adulto recuperado del sustrato de cascarilla de arroz. Para lograr esto, se utilizó la secuenciación NGS *shotgun* y así poder caracterizar las comunidades eucariota y procariota a partir de una muestra recolectada en un galpón de una granja avícola ubicada en Fusagasugá, Colombia.

La importancia de esta investigación radica que en Colombia, la producción avícola marca un renglón importante para la economía del país (1). En el año 2018, el crecimiento de la producción avícola fue del 4.8%, demostrando una dinámica en el sector, que fue interrumpida en el año 2020 con la presentación de la pandemia y cuya tasa de crecimiento se situó en el punto más bajo en dos décadas; sin embargo, en 2021 comenzó su recuperación al presentar el crecimiento de la producción más alto en el sector con un 4.9%(2).

Esto implica la necesidad de realizar un control sobre las enfermedades bacterianas en las aves de engorde y la evaluación de perfiles de resistencia en los aislados microbianos en esta población, y el control de este artrópodo que ha sido asociado a daños físicos y transmisión de enfermedades a las aves, tanto que se define como plaga perenne de instalaciones avícolas (3).

Cabe destacar que, actualmente, la producción avícola de tipo intensiva se desarrolla en condiciones de altas densidades, lo cual puede generar un mayor uso de antibióticos profilácticos, terapéuticos y promotores del crecimiento, lo cual genera preocupación sobre la afectación de la salud humana al hallar rastros de residuos antimicrobianos en la carne y los huevos de las aves de engorde que para los productores representa pérdidas económicas, con posibles consecuencias sanitarias en el área de la salud pública (4).

Adicionalmente, estudiar el microbioma del interior del artrópodo *Alphitobius diaperinus*, ofreció la oportunidad de determinar la diversidad de microorganismos que pueden tener una proyección en bioprospección al tener una aplicación biotecnológica, como

también ha sido posible conocer que puede ser un vector con la capacidad de transferir genes de resistencia a los antibióticos de forma horizontal, intercambio que puede ocurrir dentro de su tracto gastrointestinal y entre diferentes especies de bacterias, como se identificó en estudios previos en condiciones de laboratorio (5).

Este trabajo puede ser indicador general para demostrar la resistencia microbiana regional; además, busca crear una cultura sobre la implementación de terapias antimicrobianas de forma responsable en aves de producción, donde los actores principales serían los profesionales del área de la salud, especialmente médicos veterinarios, productores de aves, y operarios de galpones, para así lograr disminuir no solo las pérdidas económicas, sino evitar la resistencia antimicrobiana en aves y en la comunidad que se relaciona con la producción y los consumidores. Esta información podría aportar a futuras evaluaciones de riesgos basadas en el manejo del uso de antibióticos industriales y su impacto en la salud animal y humana.

Por otro lado, el análisis del microbioma de *Alphitobius diaperinus* reveló gran diversidad bacteriana, se encontraron cuatro filos, y dentro del filo Proteobacteria, el más abundante, solo se identificó la clase Gammaproteobacteria. En contraste, los hongos estaban muy poco representados tanto en diversidad como abundancia. El hallazgo de un fago de *E. coli*, el primero descrito en *A. diaperinus*, abre las puertas a otras líneas en la búsqueda de alternativas terapéuticas a bacterias como *E coli*.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Describir el microbioma de adultos de *Alphitobius diaperinus* presentes en una granja avícola del municipio de Fusagasugá, Colombia.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar las especies que conforman el microbioma del adulto de *Alphitobius diaperinus* mediante secuenciación de NGS *shotgun*.
- Relacionar las bacterias identificadas en el microbioma de *Alphitobius diaperinus* con la posible presencia de genes de resistencia.
- Establecer el potencial de *Alphitobius diaperinus* como vector mediante la identificación de las bacterias patógenas y su relación con genes de resistencia.
- Determinar el potencial biotecnológico de los microorganismos que conforman el microbioma de *Alphitobius diaperinus*.

3. MARCO CONCEPTUAL Y GENERALIDADES

3.1 *Alphitobius diaperinus*

El escarabajo *Alphitobius diaperinus* es un insecto del orden Coleóptera, perteneciente a la familia *Tenebrionidae*, conocido como “coleóptero de la cama”, “escarabajo de la cama” y “escarabajo menor”; es originario de África subsahariana, fue introducido a Norte América en 1910 y se ha adaptado a ambientes húmedos y a las temperaturas que están bajo control en las instalaciones avícolas, habitando en las camas (7); produce daños físicos a las instalaciones y transmite enfermedades a las aves, tanto que se define como plaga perenne de instalaciones de las granjas avícolas (3).

El ciclo de vida de *Alphitobius diaperinus* es de 45 a 55 días, y las hembras pueden poner de tres a cinco huevos día y 3000 en toda su vida (8). El ciclo de inicia con el huevo, es de forma oval alargado de color blanco translúcido, son ovopositados por lo general en las ranuras del galpón, los huevos eclosionan en un período de 2 a 7 días y 2 semanas en condiciones extremas (Figura 6 A); a continuación, la larva recién emergida es de color blanco transparente, de cuerpo alargado y cilíndrico con la cápsula cefálica marrón claro, después de cada muda su longitud aumenta y se va oscureciendo hasta la sexta muda, generalmente hay 7 estados larvarios, aunque puede haber hasta 11, y las larvas tienen un comportamiento masticador, causando daño en las instalaciones (Figura 6 B); luego, se convierte en pupa, un estadio inmóvil que resiste a la adversidad ambiental y tratamientos químicos, y puede durar de 1 a 3 semanas, y en el cual las hembras presentan unas papilas desarrolladas que en machos están ausentes (Figura 6 C). Al emerger el adulto es de color blanco cremoso, después se torna rojizo, y a los quince días toma un color marrón oscuro, casi negro con brillo lustroso, con estrías longitudinales en los élitros, poseen alas y pueden volar a una distancia de 16 km, aunque rara vez se les ve volar; las hembras son de mayor tamaño, 7.3 mm y el macho tiene un rango de

longitud de 5.3 a 6.6mm, y llegan a vivir entre dos y doce meses (Figura 6 D) (9) (3) (10).

Las diferentes fases del ciclo de vida de este artrópodo se desarrollan principalmente en el interior de la cama, de forma opcional lo hace en alguna de sus fases en materiales aislantes al interior de las instalaciones, escondiéndose en grietas y la tierra. En el momento de sacar los pollos de engorde para sacrificio, la ausencia de las aves en los galpones hace descender la temperatura de la cama y los escarabajos la abandonan ocultándose (10). En general, el ciclo de vida consta de cuatro estadios, representados en la figura 1.

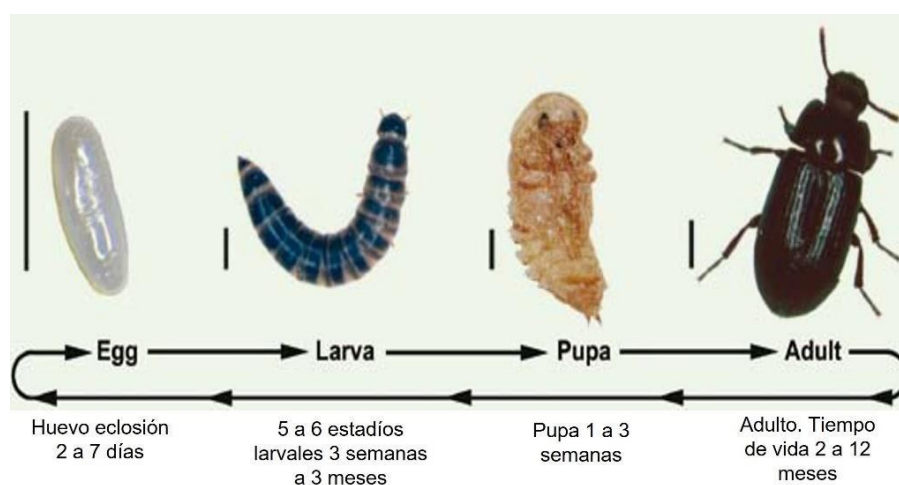


Figura 1. Ciclo de vida de *Alphitobius diaperinus* (8)

3.2 Diversidad del microbioma de los escarabajos

Para descubrir la diversidad del microbioma, que depende más de la filogenia del huésped que la abundancia de endosimbiontes; se seleccionan las especies de coleópteros, los cuales se eligen en función del criterio de posición taxonómica, asignación trófica y estado de infección bacteriana endosimbiótica, luego se determina la diversidad dentro y entre especies en los diferentes niveles de organización de los escarabajos (11). El análisis se realiza a través de las regiones hipervariables del gen ARNr 16S bacteriano, que se amplifican usando un conjunto de cebadores, seguido de la preparación de bibliotecas metagenómicas y la secuenciación ADN_r16S en la

plataforma Illumina (12). Hasta ahora el tema no ha sido suficientemente estudiado debido a la riqueza de especies y las relaciones taxonómicas. Además de la dificultad de que el número de especímenes sean bajos, y que algunos gremios tróficos estén subrepresentados para una estimación adecuada de la diversidad del microbioma (11).

Los escarabajos son el grupo de organismos más rico en especies y diversificado del mundo con 386.000 especies conocidas (13). La diversidad puede relacionarse con variedad de condiciones dentro de la anatomía de los insectos, gradientes extremos de pH, tejidos especializados que albergan bacterias para su beneficio creando una relación coevolutiva entre hospedadores y microbiota simbiótica. Se ha encontrado que los microbiomas de insectos son más diversos entre especies que entre los microbiomas intestinales de mamíferos (14). Las condiciones para los microorganismos que habitan el intestino de los insectos dependen del grupo de insecto, etapa de vida y región intestinal.

Un primer estudio en el que se comparó la diversidad bacteriana entre varias especies de escarabajos de forma estandarizada reveló que la diversidad del microbioma depende más de la filogenia del huésped que de la abundancia de endosimbiontes. De esta forma, especies de coleópteros se seleccionaron en función del criterio de posición taxonómica, asignación trófica y estado de infección bacteriana endosimbiótica, para determinar la diversidad dentro y entre especies en los diversos niveles de organización de los escarabajos, pero este tema no ha podido ser suficientemente estudiado debido a la riqueza de especies, y las relaciones taxonómicas, además de la dificultad de la subrepresentación de especímenes de los gremios tróficos, no se estima una adecuada diversidad del microbioma (11).

Hasta ahora, el conocimiento sobre la estructura de la comunidad bacteriana intestinal de las especies de escarabajos es limitado. Se ha encontrado que al comparar la comunidad intestinal en machos y hembras de coleópteros *Odontolabis fallaciosa*, son las hembras las que han presentado mayor diversidad bacteriana intestinal, lo que puede contribuir a una transmisión vertical (15). El diseño básico de los intestinos de los insectos presentan muchas modificaciones que reflejan adaptaciones a nichos y hábitos

de dieta especializada que en la evolución albergan microorganismos intestinales específicos (16).

La diversidad y el papel de la microbiota intestinal de los insectos se ha estudiado cada vez más, principalmente por técnicas metagenómicas. Sin embargo, los microbiomas y sus posibles funciones simbióticas son poco estudiados en los principales grupos de insectos.

3.3 *Alphitobius diaperinus* como vector de enfermedades avícolas

Se le considera el vector más importante de las enfermedades aviarias siendo reservorio de virus, bacterias, hongos y protozoos (tabla 1), y siendo responsable de pérdidas económicas, ocasionando estrés y reduciendo en la ingesta de los alimentos (10). Se ha sugerido que las larvas infectadas de *Salmonella enteritidis* en polluelos tienen una mejor capacidad vectorial que la de los adultos de *A. diaperinus* (17). Estos artrópodos causan heridas sobre las aves a través de las cuales ingresan agentes patógenos, y cuando son consumidos por las aves causan obstrucción a nivel intestinal por la acción de su exoesqueleto. De igual forma, inducen estrés en las aves pudiendo deprimir su inmunidad incrementando la susceptibilidad a enfermedades de forma temprana (7). Adicionalmente, pueden producir benzoquinonas reactivas como defensa de la depredación, y afectar a los humanos que están en contacto causando síntomas de asma, dolores de cabeza, dermatitis, rinitis, eritema, y la exposición a los vapores de quinona pueden provocar conjuntivitis y ulceración corneal (18).

Tabla 1. Relación de los patógenos transmitidos por el artrópodo *A. diaperinus* que causan enfermedades en las granjas avícolas, basado en (19).

Patógeno	Microorganismo	<i>A. diaperinus</i> y larva como portador	Consecuencias en la salud	Referencia
Virus	Reovirus	larva portadora ineficaz	Tendosinovitis en aves	(20)
	Alpharetrovirus	<i>A. diaperinus</i> portador	Leucosis aviar (Osteopetrosis)	(21)
	<i>Birnavirus aviar</i>	El adulto sirve como reservorio y se replica en la larva	Dilatación del ventrículo y déficit neurológico en aves	(21)
Bacteria	<i>Salmonella</i> sp.	Las larvas infectadas son más eficientes en la transmisión que los adultos	Las aves son asintomáticas, pueden causar Intoxicación alimentaria en humanos	(17)
	<i>Campylobacter</i> sp.	Adquisición de fuentes ambientales (heces, roedores, contaminación externa) vectores adultos menos competentes	Causa principal de gastroenteritis en humanos	(22) (23)
	<i>Staphylococcus</i> sp.		Osteomielitis, abscesos	(21)
	<i>E. coli</i>		Enteritis, lesiones fibropurulentas de sacos aéreos, pericarditis, perihepatitis, existe transmisión vertical	
<i>Streptococcus</i>	Miocarditis, tendosinovitis			
Hongo	<i>Clostridium perfringens</i>	Larvas y adultos causan transmisión directa	Enteritis necrótica	

	<i>Aspergillus, Penicillium</i>		Enfermedad respiratoria	
	<i>Fusarium, Candida</i>		Diarrea y enteritis	
Protozoo	<i>Eimeria</i>	Vector de transmisión directa	Coccidiosis intestinal	(24)
	<i>Histomona meliagridis</i>	Baja susceptibilidad a la infección, huésped intermediario huevos de <i>Heterakis Gallinarum</i>	Lesiones hepáticas y cecales en aves	(25)

Se estableció la frecuencia de transferencia conjugativa de plásmidos de resistencia a los antimicrobianos entre las bacterias *Salmonella* y *E. coli* en el intestino de las larvas de los escarabajos de *A. diaperinus*; demostrando que estos escarabajos pueden usarse como modelo in vivo para estudiar la transferencia de genes de transferencia horizontal de plásmidos de AMR resistencia antimicrobiana (por sus siglas en inglés) (6).

Además se ha demostrado que al contaminar larvas y adultos de *Alphitobius diaperinus* con *Salmonella typhimurium* y permitir que pollos de engorde los ingieran, hace que los escarabajos actúen como vectores para la transmisión bacteriana a los pollos de engorde (26). Se ha determinado la presencia de *Salmonella* entérica a través de la metamorfosis de *A. diaperinus*, en heces de adultos y larvas (27).

3.4 Vectores como portadores de bacterias y de genes de resistencia

Las enfermedades transmitidas por vectores representan una importante preocupación de salud pública, además de afectar significativamente la economía de un país. Según la OMS el 17% de las enfermedades infecciosas mundiales anuales son causadas por vectores (28).

Insectos vectores como las moscas domésticas (*Musca doméstica*) y las cucarachas alemanas (*Blatella germanica*) se mueven libremente entre los desechos

animales y los alimentos, desempeñando un papel importante en la diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos dentro y entre las granjas de producción animal, incluso en entornos residenciales.

Infelizmente, la ecología microbiana y la propagación de las bacterias en los entornos agrícolas, urbanos y suburbanos son poco conocidas (29). Los insectos comúnmente asociados con los animales de producción, probablemente representan un vínculo directo e importante entre las granjas de animales y las comunidades urbanas para los rasgos de resistencia a los antibióticos (30). Varios estudios han demostrado la proliferación de bacterias y la transferencia horizontal de genes (HGT) asociados a resistencia, en el tracto digestivo de los insectos. En las moscas, las bacterias se multiplican en el divertículo y posteriormente se transfieren al intestino o son regurgitadas, lo que se conoce como transmisión biomejorada (31). Las moscas tanto hembras como machos portan bacterias con genes AMR. Una sola mosca puede contener 100 microorganismos diferentes totalmente patógenos, siendo la hembra la que porta mayor carga bacteriana por su interacción con sustratos de ovoposición, y son los coliformes de las zonas agrícolas los que predominan sobre las urbanas, debido al contacto que tienen con el estiércol de los animales, y se evidenció que de 38 aislamientos, el 95% fueron resistentes a 14 antimicrobianos; como también se detectó MDR resistencia a múltiples fármacos (por sus siglas en inglés). Aunque los coliformes comensales no representan una amenaza directa para la salud humana o animal, sirven como fuente de AMR a través de la HTG genes de transferencia horizontal (por sus siglas en inglés) (32).

También, se ha reportado AMR en bacterias aisladas en cucarachas, siendo vectores potenciales de transmisión de microorganismos patógenos en centros de atención en hogares geriátricos en Taiwán, y se les ha asociado a enfermedades de salud pública (33). Son las enterobacterias *Shigella*, *Salmonella* y *Enterobacter* las que han predominado en los aislamientos bacterianos, siendo las cucarachas vectores potenciales de infecciones nosocomiales (34). En entornos de producción porcina en confinamiento las moscas y cucarachas alemanas sirven como reservorios de *Enterococcus* resistentes a antibióticos y son potencialmente virulentos, reportando

con mayor frecuencia a *E. faecalis* y *E. faecium*. encontrándose que *tet(M)* de resistencia a la tetraciclina y *erm(B)* resistente a eritromicina, son los genes de resistencia más extendidos entre los *Enterococcus* en animales o alimentos (29). Se ha sugerido que genes idénticos en diferentes bacterias, pueden ser el resultado de una transferencia horizontal, pero también podrían indicar un reservorio común para resistencia o evolución del mismo antepasado (35).

Se determinó el gen de resistencia a la tetraciclina dentro de la microbiota intestinal de las abejas melíferas, para lo cual seleccionaron 21 genes de resistencia a la tetraciclina conocidos mediante PCR, en un panel de muestras de diferentes localidades estadounidenses, los resultados de las pruebas de PCR indicaron que los ocho genes de resistencia a la tetraciclina (los genes de la bomba de eflujo *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetH*, *tetL* y *tetY*, y los genes de protección de ribosomas *tetM* y *tetW* están muy extendidos en las colonias de abejas melíferas estadounidenses, variando su presencia entre colonias o ubicaciones.

De manera importante, se ha sugerido que el escarabajo *Alphitobius diaperinus* podría ser un vector cosmopolita que se ha identificado en criaderos de aves de corral (Panzer), pues alberga bacterias potencialmente patógenas como los *Enterococcus* que actúan como reservorio importante para la resistencia a los antibióticos (36).

3.4.1 Genes de resistencia en pollos de engorde y su difusión en granjas avícolas

Las aves de engorde proveen la carne de mayor consumo en el mundo. Las estadísticas demuestran que desde el año 2000 a 2011, el consumo mundial de pollo per cápita aumentó en un 31%, mientras que el consumo de carne aumentó solo un 13% (37). Este tipo de Unidades productivas debe estar bajo condiciones intensivas, por lo cual se usan grandes cantidades de antimicrobianos para prevenir y tratar enfermedades, así como para la promoción del crecimiento; sin embargo, las bacterias que causan enfermedad en la industria avícola adquieren resistencia, incluyendo las bacterias zoonóticas, representando una amenaza para la salud humana

al causar el fracaso en los tratamientos antimicrobianos (4).

En los Países Bajos hay un estricto control del manejo de los antibióticos para evitar las bacterias multirresistentes, y se ha encontrado un aumento de las infecciones causadas por bacterias Gram negativas que producen Betalactamasas de espectro extendido (BLEE, por su sigla en inglés). De tal forma, las bacterias Gram negativas, especialmente la *Escherichia coli*, producen ESBL que les permite volverse resistentes a una amplia variedad de penicilinas y cefalosporinas debido a la producción de CTX-M, TEM Y SHV, betalactamasas que están codificadas por *bla*-CTX, *bla*-SVH y genes *bla*-TEM respectivamente, y estos genes pueden ser mediados por plásmidos. Entre estas, las enzimas CTX- M son las que mayormente se han propagado en animales y humanos (38).

Al parecer, la industria avícola ha sido el reservorio potencial de los Gram negativos productores de ESBL que pueden ser adquiridos por humanos a través del manejo o consumo de carne contaminada, especialmente la de pollo, que puede ser una ruta de transmisión importante de estas bacterias, además se han reportado varias enzimas ESBL en la población avícola sana, lo que representa una amenaza para la salud de los humanos (39). Esto se reflejó en otro estudio realizado en los Países Bajos, donde se aisló una muestra representativa de aislados de *E. coli* en humanos, donde el 35% contenía genes ESBL asociado con aves de corral, de los cuales el 86% eran *bla*CTX-M-1 y *bla*TEM52, genes que también fueron predominantes en aves de corral en un 78% y pertenecían a genotipos de *E coli*, lo que sugiere una transmisión de genes ESBL de aves de corral a humanos (40).

También se halló una prevalencia del 73.3% de genes de resistencia a cefalosporina de tercera generación en *E coli* (3GC-R-Ec) en carne de pollos de engorde comercializados al por menor en Suiza, diferente al porcentaje hallado en la carne de res que solo presentó el 2%, y en otros tipos de carne no se reportó. Al parecer, la fuente de contaminación se originó en las plantas de empaque (41). Evaluaciones realizadas en países con una industria avícola altamente industrializada, sugieren que la cadena de producción de pollos de engorde alimento- consumidor es una potencial ruta de transmisión (42).

En este informe se reporta una abundancia de 6,6 % de *E. coli*, un porcentaje importante, ocupando el tercer lugar de mayor abundancia. Un reporte de este escarabajo, mostró que se encontraron larvas y adultos de *A diaperinus* en instalaciones avícolas que descargaban en las heces esta bacteria de 6 a 10 días después de consumirla, contribuyendo a la propagación en el área del galpón, ocurriendo también infección transestadial (21).

El primer uso de antibióticos en aves de engorde se registró en 1946; y pocos años después en 1969 en Reino Unido. Se generó alarma sobre la generación de AMR; lo que llevó a países como Estados Unidos a prohibir el uso de antibióticos como promotor de crecimiento, y la FDA prohibió el uso de antibióticos de importancia médica para este fin. Después, una encuesta realizada entre los años 1995 y 2000, reveló una disminución en el uso de antibióticos en las operaciones en las granjas de pollos de engorde, pero luego para el 2011, en un informe se publicó que un 20 a 52% de las granjas avícolas utilizaban antibióticos con fines diferentes al control de enfermedades, aunque a nivel general se ha presentado una disminución en el uso de antibióticos a largo plazo. El Centro de Medicina Veterinaria de la FDA ha tomado acciones para hacer supervisión y transición de los antimicrobianos de importancia médica, que se utilizan en el alimento de los animales de producción para luego ser eliminados (43) (44).

Se ha reportado que el uso de antimicrobianos en la agricultura y acuicultura inducen AMR, adicionalmente, se destaca que la carga de antibióticos que se da a los animales es mayor que la usada en los humanos (45). El primer registro de hallazgo de genes de resistencia en lotes de engorde reporta cinco genes de resistencia al cloranfenicol (*cmlA*, *floR*, *fexA*, *cfp* y *fexB*), lo que conlleva a la diseminación de ARG en el medio ambiente (46). Existe la posibilidad de que antibióticos con amplio espectro de actividad sobre los microorganismos como el cloranfenicol, que tiene acción sobre microorganismos de alta prevalencia en humanos, supone un riesgo de resistencia a este fármaco cuando se requiera su uso (47).

En un estudio sobre carnes de animales de granja, en la carne de pollo se detectó la

presencia de genes que codifican la resistencia a tetraciclina, eritromicina, vancomicina, penicilina, meticilina y gentamicina, antibióticos usados ampliamente en la práctica clínica. Se encontraron 11 ARG, *tet* (M), *tet* (O), *tet* (K), *erm* (A), *erm* (B), *erm* (C), *van*(A), *van*(B), *aac-aph2*, *mecA* y *blaZ* (48).

La resistencia antimicrobiana (AMR, por su sigla en inglés) es el mecanismo mediante el cual microorganismos, bien sean bacterias, virus, hongos o parásitos, experimentan cambios que hacen que se disminuya la acción de los agentes antimicrobianos (43). Este fenómeno representa una crisis de salud pública global, que se ha exacerbado por el uso excesivo e indebido de antimicrobianos en humanos y animales, además de la inadecuada prevención de infecciones (49). Muchos de las infecciones microbianas que podrían ser tratados exitosamente con un fármaco específico, han adquirido resistencia a la gran mayoría de estos y en algunos casos, microorganismos han desarrollado resistencia a todas estas moléculas (50).

La AMR es un fenómeno evolutivo que puede estar influenciado por los sistemas de producción animal, debido a la difusión de genes de resistencia antimicrobiana al medio ambiente, en especial en Unidades Productivas avícolas, donde el manejo de los antibióticos se hace con fines productivos, y no para el control de enfermedades (51). Es el caso de los antibióticos incorporados a la alimentación animal para mejorar la tasa de crecimiento y la eficiencia alimenticia (52).

3.4.2 Implicaciones de la resistencia antimicrobiana (AMR) en salud pública

Combatir las infecciones bacterianas es un gran reto, siendo una amenaza para la salud en humanos y animales, ya que el uso extensivo de antibióticos en aplicaciones clínicas y agrícolas ha acrecentado la generación de AMR (53). Estudios realizados por el gobierno del Reino Unido, como se indica en la figura 1, estiman que para el año 2050, diez millones de personas podrán perder la vida a nivel mundial debido a la AMR (54). Para el año 2016, la Organización de las Naciones Unidas (ONU), convocó a una asamblea general para realizar un compromiso político para abordar este tema

(55). De manera similar, un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) muestra claramente que, la resistencia a las bacterias comunes ha alcanzado niveles alarmantes en muchas partes del mundo (54). También, se evidencia que no hay una coordinación en la vigilancia de la AMR comprometiendo la capacidad de evaluar y monitorear la situación (45).

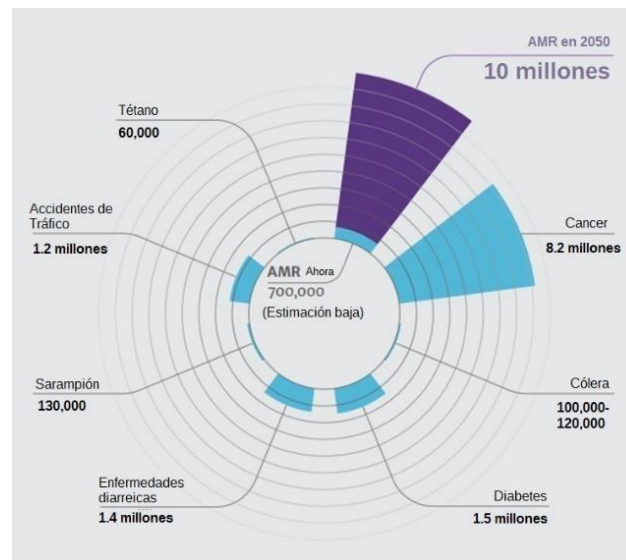


Figura 2. Muertes atribuíbles a AMR. La figura indica en azul las principales causas de muerte a nivel mundial en millones. Las muertes por AMR podrían aumentar de aproximadamente 700,000 muertes por año (azul) a cerca de 10 millones de muertes por año para 2050 (señaladas en morado) (Neil, 2014).

La OMS recomendó, de forma estricta, una reducción general del uso de todas las clases de antibióticos de importancia médica en los animales destinados a la producción de alimentos, incluida la restricción completa de estos fármacos para estimular el crecimiento y prevenir enfermedades sin diagnóstico previo. También estableció opciones alternativas como el manejo de la higiene, un mejor uso de la vacunación, y la introducción de cambios en las prácticas de estabulación y cría de animales (56).

Ante el evento de la AMR, la Comisión Europea ha tomado medidas significativas y preventivas en el manejo de los antimicrobianos en el sector veterinario. De manera similar, la Comisión Europea para el enfoque en salud apoya firmemente la

supervisión regulatoria y adecuada de la implementación de medidas en sectores de la agricultura y veterinaria (45). El grupo de Coordinación Interagencial sobre Resistencia a los Antimicrobianos convocado por la ONU desde el año 2016 para formular un plan para la lucha contra la AMR, entregó un informe en el año 2019, en el cual Colombia tuvo su aporte proporcionando medidas para abordar esta problemática implementando programas, políticas, legislación e investigación en los que participan múltiples sectores. Como apoyo la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE, por su sigla en inglés), ha creado una base de datos mundial sobre agentes antimicrobianos destinados a animales, con el apoyo de la organización tripartita de la OMS, la OIE y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (57).

3.5 Metagenómica

Es la secuenciación y la caracterización de genes y genomas de ecosistemas microbianos complejos (metagenomas) (58). Busca entender los procesos ecológicos relacionados con la actividad microbiana, como su participación en los ciclos biogeoquímicos, la interacción hospedero-microorganismo, la relación entre el microbioma y la salud en humanos y animales, entre otros (59). En 1998 Handelsman y colaboradores definieron el análisis metagenómico como como la colección de todos los genomas de los miembros de una comunidad microbiana de un ambiente específico (60).

Woese et al., 2017 (61), demostró que los genes ARNr se podían usar como cronómetros evolutivos y, en 1985, Pace y colaboradores se basaron en estas investigaciones para estudiar la diversidad ambiental a partir del análisis directo de las secuencias del gen 16S del ARNr (62)(63).

La metagenómica implica técnicas de secuenciación para analizar la totalidad del material genómico presente en una muestra. Tradicionalmente se ha utilizado el análisis de marcadores que consiste en la secuenciación de una región específica de un gen para descubrir la composición de grupos taxonómicos específicos en una

muestra ambiental (64), como el gen 16S del ARNr para procariontes (65), el espaciador interno transcrito (ITS) en hongos y el 18S del ARNr en eucariotas en general (66).

Frente al enfoque de la secuenciación de genes marcadores, el método de secuenciación de escopeta de genoma completo (WGS) analiza el ADN total de una muestra con el fin de identificar la presencia de microorganismos que revelan la diversidad genómica y brinda información sobre su potencial funcional. Además, permite asignar la taxonomía identificando especies y cepas, y frente a la PCR, no presentan los sesgos en la amplificación de los genes marcadores como el número de ciclos usados y las regiones hipervariables elegidas. Sólo la baja concentración de ADN puede afectarla (67).

La secuenciación de ADN de escopeta es un enfoque de secuenciación ambiental de caracterización molecular que se utiliza para la secuenciación no dirigida luego de extraer el ADN de las células de una comunidad, sin determinar a un gen específico de amplificación, en esta técnica se corta el ADN en pequeños fragmentos para ser secuenciados de manera independiente, obteniendo lecturas que se alinean con varias ubicaciones genómicas para compararse con los genomas de la muestra (68).

En la actualidad la secuenciación del DNA se realiza con las técnicas de secuenciación de nueva generación o NGS que consiste en una serie de secuenciación masiva que permiten analizar en paralelo multitud de secuencias de ADN, para este fin se han desarrollado varios métodos de secuenciación a través de la historia como se describe en la tabla 2.

Tabla 2. Desarrollo de los métodos de secuenciación del DNA.

AVANCE	APORTE	REFERENCIA
1970 Carl Woese. A través del análisis de ARN ribosómico reconoce Archaea como unidad evolutiva separada.	Uso de genes de ARN ribosómico como marcadores moleculares como forma de clasificación para ver las relaciones evolutivas, para el análisis filogenético por su distribución universal.	(69)
1977 Maxam y Gilbert. Primer método de secuenciación Química	Las enzimas de restricción reconocen secuencias específicas de fragmentos cortos de ADN y se utilizan para separar hebras etiquetadas. Un fragmento de cadena doble o sencilla, se marcan en los extremos 5 o 3' con P. El ADN es fragmentado en 4 reacciones químicas para ser separado por electroforesis.	(70)
1978 F. Sanger Método de Secuenciación enzimático. Su equipo reporta la secuencia Genómica del bacteriófago ϕ X174	Se marcó el ARN con fósforo y se detectó con autorradiografías para leer una secuencia.	(71)

1985 Kary Mullis, Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Técnica que permite la amplificación exponencial de un fragmento de ADN	(72)
1986 Leroy Hood, Primer secuenciador automatizado	Adaptó la lectura de la secuencia al ordenador, transformó un patrón de bandas negras, distribuido horizontal y verticalmente por la película en una tira vertical de bandas de color para cada nucleótido, un rayo láser recorría la tira y la transformaba en información digital.	(73)
1991 Schmidt, DeLong, Pace. Primera creación exitosa de bibliotecas metagenómicas	Análisis de secuencias de genes ribosomales de una comunidad de picoplancton marino clonados en bacteriófagos lambda con el gen rRNA 16S.	(74)
1998 Jo Handelsman propone el término de metagenómica	Clonación de grandes fragmentos de ADN aislados de microorganismos de entornos naturales. Uso del vector del cromosoma bacteriano (BAC), que mantienen insertos de ADN grandes y estables, para expresar el ADN genómico de microorganismos.	(60)
2002 Mya Breibart y colaboradores, utilizaron la secuencia de escopeta ambiental	Se creó este método para clonar y secuenciar comunidades acuáticas virales no cultivadas.	(75)
2005 Método de 454 Life Sciences-Roche (pirosecuenciación)	La amplificación se realiza mediante PCR de emulsión con el uso de microesferas que sirven como microreactores; primero para la unión de dNTP a los nucleótidos de la cadena molde, unión que libera pirofosfato que reacciona con la enzima sulfurilasa que convierte PPi en ATP, y este a su vez con la enzima luciferasa, que emite una luz fluorescente detectada por una cámara, y esta información se almacena en archivos informáticos, para su análisis.	(76)
2006 Método Solexa de Illumina	Es un sistema basado en la amplificación de los fragmentos de ADN por la generación clusters, con el método de PCR en puente, y la detección de bases de la secuenciación emite una señal fluorescente.	(77)

2011 PacBio (Pacific Bio Sciences)	Secuenciación en tiempo real. Produce lecturas largas. Opera dentro de un chip de silicio (celda SMRT) que contiene micropozos ZMW con una unidad de secuenciación llamada guía de onda de modo cero, en cada micropozo se inmoviliza una polimerasa que se une a los adaptadores de horquilla de SMRT para realizar la replicación, para esto se añaden los nucleótidos marcados con fluorescencia, el producto de color se asocia con la plantilla al sitio activo en la polimerasa, a medida que la polimerasa sostiene una base se produce un pulso de luz que identifica la base. El pulso de fluorescencia termina cuando el producto colorante enlazador pirofosfato se escinde del nucleótido y se difunde fuera del ZMW, y la polimerasa se traslada a la siguiente posición.	(78)
2014 Nanopore (Secuenciación de cuarta generación)	No requiere amplificación. Tiene la posibilidad de secuenciar en tiempo real. Está basada en nanoporos, la secuencia de ácidos nucleicos se infiere a partir de cambios en la corriente iónica a través de una membrana. Una proteína motora guía la hebra de ADN o ARN a través del nanoporo, allí el paso de moléculas de ácido nucleico provoca cambios de la corriente a través de la membrana y el llamador de bases convierte la señal de nanoporos en la secuencia de ácidos nucleicos correspondientes	(79)

De esta forma, desde mediados de la década del 200 aparecen las tecnologías de secuenciación de segunda y tercera generación, que de forma colectiva se denominaron de próxima generación (NGS, por su sigla en inglés). La secuenciación de segunda generación incluye tecnologías como Illumina que produce millones de lecturas cortas (150- 400pb) a diferencia de las de tercera generación que produce lecturas más largas hasta 20 kb, pero muchas menos lecturas por ejecución (64). Illumina, utiliza el método de secuenciación por síntesis, ofrece un alto rendimiento en comparación a otras plataformas y es de más bajo costo (80). Esta plataforma se utiliza

con mayor frecuencia en estudios metagenómicos, ya que esta secuenciación produce un gran número de lecturas (hasta 1,5Tb por ejecución) 150 a 300 pb por lectura, con alta precisión, requiriendo la preparación de bibliotecas en las que fragmentos de moléculas de ADN o ARN se fusionan con adaptadores seguidos de amplificación y secuenciación por PCR (81). En la técnica de Illumina las moléculas de ADN se hibridan a los oligonucleótidos que están adheridos a la superficie de vidrio recubierta de polímero de una celda de flujo sin patrón (MiniSeq, MiSeq, NextSeq o HiSeq 2500) o nanopozos grabados. Las plantillas se amplifican por el flujo de enzimas y reactivos a través de los canales de las celdas de flujo, donde ocurre la síntesis con nucleótidos marcados con fluorescencia, luego de que los fragmentos de ADN se distribuyen en la celda de flujo, la reacción se produce al incorporar los nucleótidos marcados y un láser excita la molécula fluorescente y se emite una señal que el equipo registra (82) (83).

A continuación, se describen las plataformas que se han usado a través del tiempo.

Tabla 3. Plataformas de secuenciación de próxima generación (*Next Generation Sequencing - NGS*)

Plataformas usadas Secuenciación/enfoque de amplificación	Método	Referencia
Roche 454. (1993 Nyren y colaboradores) (pirosecuenciación) PCR en emulsión	Secuenciación del ADN en tiempo real basada en la detección de la luz emitida cada vez que se incorpora un nucleótido a la cadena y se libera un grupo pirofosfato que se convertirá en ATP gracias a una ATP-sulfurilasa y en luz gracias al enzima luciferasa. La luz emitida es detectada por un sistema CCD de manera proporcional a la cantidad de nucleótidos incorporados	(84)
SOLiD (2005 George Church). (Ligación y codificación por dos bases). Secuenciación basada en ligadura. PCR en emulsión	En cada ciclo de secuenciación se emplean octámeros marcados con cuatro colores diferentes que detectan dos dinucleótidos al mismo tiempo que son incorporados gracias a la presencia de una ligasa de ADN.	(85)

Ion Torrent PGM (2010 desarrollada por Secuenciación por semiconductor). PCR en emulsión.	La detección de las bases se realiza en un chip semiconductor, y la amplificación de los fragmentos.	(86)
--	--	------

3.6 ARG y metagenómica

La metagenómica proporciona información de los genes de resistencia a los antimicrobianos (ARG) (por sus siglas en inglés), mediante una aproximación con secuenciación de escopeta o *shotgun*. Esta técnica permite el análisis de comunidades bacterianas mediante la secuenciación independiente de fragmentos aleatorios de los genomas hallados, y el resultado de las lecturas se alinean con varias ubicaciones genómicas en el conjunto de genomas presentes en la muestra. Algunas lecturas se muestrean a partir de loci genómicos taxonómicos como 16S y otras se muestrean a partir de secuencias codificantes que proporcionan información sobre funciones biológicas codificadas en el genoma (68).

De esta forma la metagenómica funcional, ha permitido identificar y caracterizar nuevos ARG. En estudios de muestras ambientales se han identificado sólo ARG previamente conocidos a través del análisis *in silico* de lecturas metagenómicas, usando una base de datos completa de resistencia a los antibióticos, también se han identificado genes reguladores de respuesta para conferir resistencia a antibióticos alterando la expresión de la bacteria, en el caso de *E. coli*, se alteran genes que codifican bombas de eflujo y porinas (87).

Actualmente la identificación de ARG en secuencias de ADN bacteriano se realiza a través de las homologías basadas en alineación contra una base de datos de referencia (88). Se basa en el principio computacional de comparación de las secuencias de ADN metagenómico con las bases de datos en línea disponibles, para este objetivo se alinean lecturas sin procesar o marcos abiertos de lectura pronosticados de *contig* ensamblados a la base de datos de elección con el uso de programas BLAST o DIAMOND, para predecir los tipos de ARG presentes utilizando secuencias de similitud (89).

3.7 Aplicación de metagenómica al estudio de artrópodos

La técnica de secuenciación de nueva generación ha permitido resolver cuestiones filogenéticas y evolución molecular de taxones de los insectos. Para lo cual existen

métodos de metagenómica y *metabarcoding* para el estudio del ADN, en la metagenómica de escopeta se secuencian el DNA total y el *metabarcoding* utiliza uno o más códigos de barras para detectar la presencia de un grupo taxonómico específico de una muestra para comprender su biodiversidad (90), para lo cual se utiliza un fragmento de nucleótidos corto (por ejemplo 16S, 18S, ITS, COI) como proxy para su identificación (91).

Los insectos viven en simbiosis con microorganismos para su supervivencia, y las comunidades microbianas en el lumen intestinal parecen depender inicialmente de la nutrición del anfitrión (92). El estudio de las comunidades intestinales microbianas asociadas a escarabajos ofrecen estrategias para el manejo de plagas ya que la reconstrucción de los metagenomas de las comunidades puede indicar los genes que codifican las enzimas relacionadas con su nutrición, por ejemplo se ha conocido que especies bacterianas aisladas de los intestinos de escarabajos pueden metabolizar especies terpenoides, lo que le permite a los escarabajos colonizar los árboles hospedantes, también se determinó que los microorganismos intestinales son fuentes importantes de nuevas enzimas que usan para el pc biológico (93).

La mayoría de información en los artrópodos se refiere a la composición taxonómica de diferentes microbiomas, mientras que la importancia funcional de la diversidad y variación bacteriana, relacionada con los rasgos metabólicos característicos de la adaptación, definidos por proteínas marcadoras para vías bioquímicas específicas, aun es desconocida (94).

Se han realizado estudios que revelan innovaciones genómicas respecto al éxito de la evolución de los artrópodos, especialmente en los escarabajos de las plantas, cuya secuenciación se ha efectuado con Illumina HiSeq (95). Se ha realizado el análisis de las regiones hipervariables del gen ARNr 16S bacteriano, que se amplifican usando un conjunto de cebadores, seguido de la preparación de bibliotecas metagenómicas y la secuenciación del gen 16S ADNr en la plataforma Illumina (12). Sin embargo, un enfoque metagenómico mitocondrial ha proporcionado un método económico para secuenciar genomas mitocondriales de numerosas especies incluyendo escarabajos (96).

Usando secuenciación dirigida en el escarabajo asiático de cuernos largos, se encontró que las comunidades bacterianas y fúngicas difieren en las diferentes etapas de vida; encontrando que es mayor la diversidad en los intestinos de adultos que en larvas y huevos; demostrando que los excrementos pueden servir como vehículo de transmisión de un subconjunto de la microbiota intestinal del escarabajo (97). También ha hecho más fácil buscar PCWDE (enzimas que degradan la pared celular de las plantas) en nichos inexplorados ya que los escarabajos pueden descomponer los polisacáridos complejos de las paredes celulares de las plantas, lo que representa un recurso para la biotecnología (98).

Un estudio reciente de la microbiota del intestino de larvas de *A. diaperinus*, se realizó con un enfoque metagenómico NGS Secuenciación de próxima generación (por sus siglas en inglés), dirigido a bacterias y hongos, algunos asociados a la degradación de plásticos, abriendo la posibilidad de diseñar biorreactores para solucionar el problema de la contaminación con poliestireno. En este estudio se hizo un análisis de metabarcoding de comunidades de hongos y bacterias utilizando ITS1 y región 16S V3-V4, como marcador molecular (99).

4. Desarrollo Experimental

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS

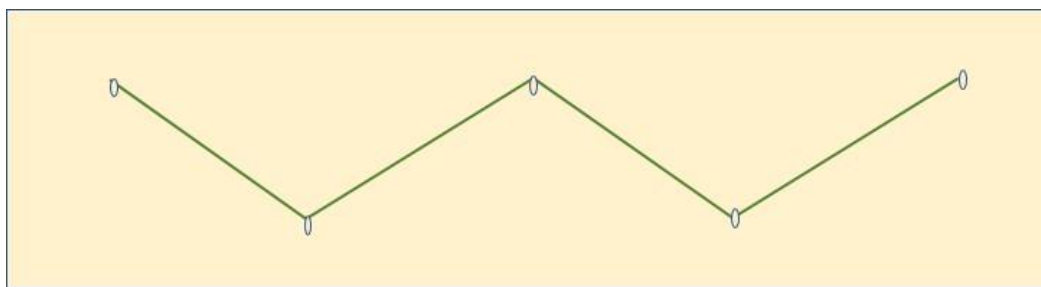
4.1.1 Recolección y procesamiento de muestras de adultos del artrópodo *Alphitobius diaperinus*

El muestreo se realizó en una granja avícola en el municipio de Fusagasugá Cundinamarca. La muestra fue recolectada en un galpón de 10 m x 100 m (1000m²) con base de cemento y cama de cascarilla de arroz donde se mantiene la temperatura controlada en un promedio de 20°C (Figura 4).



Figura 3. Galpón de la granja avícola, se observa la parvada destinada a la producción.

Las muestras se recolectaron en 5 puntos del galpón en dirección zigzag (Figura 10), teniendo en cuenta las zonas de los comederos, lugar de mayor recurrencia del artrópodo. Las muestras consistieron en 0,5 kg del sustrato de la cama de cada punto de recolección y fueron transportadas al laboratorio de investigaciones de Unicolmayor a temperatura ambiente.





-  Puntos de toma de muestra de la cama del galpón
-  Área del galpón de las aves (superficie 10m x 100m)

Figura 4. Esquema de recolección muestras para el hallazgo de los artrópodos

4.1.2 Procesamiento de muestras de adultos del artrópodo *Alphitobius diaperinus*.

Una vez en el laboratorio, a partir de las muestras se seleccionaron los ejemplares adultos de *Alphitobius diaperinus*, fueron lavados primero en hipoclorito de sodio al 3% durante 8 minutos, se jugaron con agua destilada estéril dos veces, luego se sumergieron en etanol al 70% durante un minuto; y nuevamente fueron enjuagados en agua destilada estéril 2 veces y colocados en papel filtro estéril para quitar el exceso de agua (100). Los artrópodos fueron almacenados en microtubos estériles, a - 80°C hasta la realización de la extracción de ADN.



Figura 5. Lavado de los artrópodos *A. diaperinus* con Hipoclorito de sodio al 3% y etanol al 70%

4.2 Extracción de ADN de las muestras de *Alphitobius diaperinus*

4.2.1 Maceración de las muestras en mortero con nitrógeno líquido

La extracción de ADN del artrópodo *A. diaperinus* fue realizada con el kit de extracción ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep (Zymoresearch, CA, USA, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizaron modificaciones al protocolo en el tiempo de lisis (se

aumentó hasta una hora) y en el paso de la elución donde se aumentó el tiempo de incubación hasta 5 minutos y se repitió este paso (ver Anexo 1).

Se utilizaron 300 mg (aproximadamente 220 adultos), los cuales fueron macerados en un mortero con nitrógeno líquido, y en tubo de microcentrífuga estéril se colocaron 250 mg del material macerado para la extracción de ADN.

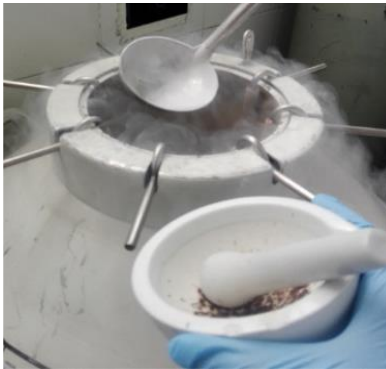


Figura 6. Maceración de la muestra (*A. diaperinus*)

4.2.2 Verificación de calidad de ADN para secuenciación

Se cuantificó mediante el uso del equipo Thermofisher Scientific™ NanoDrop 2000 (Thermofisher Scientific, USA) por medio del cual se midieron las absorbancias en las relaciones 260/280 nm y 260/230 nm.

También se realizó una PCR para amplificar el gen 16S del ARNr con los *primers* universales 16S-27F y 16S-1492R, usando como control positivo ADN genómico de la bacteria *S. sonnei* y agua desionizada estéril como control de reacción; y para la región ITS se usaron los *primers* ITS1 e ITS4; usando como control positivo *Aspergillus nidulans*, y de igual forma agua como control de reacción. La descripción de cada primer se observa en la tabla siguiente:

Tabla 4. Descripción de los primers utilizados para la PCR

<u>Primers de la región amplificada</u>	<u>Secuencia (5´-3´)</u>	<u>Tamaño(pb)</u>
16S-27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	20
16S-1492R	ACGGTTACCTTGTTACGACTT	21
ITS-1	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	22

Para realizar las amplificaciones se utilizó un termociclador *Labnet – Multigene Optimax*; y el kit *QUICK-Load Taq 2X Master Mix (New England Biolabs, USA)*, siguiendo las instrucciones del fabricante. La tabla 5 describe las condiciones de la preparación de la mezcla maestra de la PCR para bacterias y hongos, respectivamente.

Tabla 5. Mezcla maestra para PCR del gen 16S del ADNr de procariontes y la región ITS de hongos.

Reactivo	Concentración inicial	Volumen para la reacción
Quick- Load <i>Taq</i> 2X Master Mix	2X	7.5 µL.
H ₂ O		6.3 µL
DNA	73.4 ng/µl	0.6 µL
Primer 16s-27F o ITS 1	10 µM	0.3 µL
Primer 16s-1492R o ITS 4	10 µM	0.3 µL
Volumen final		15 µL

Tabla 6. Condiciones de amplificación por PCR convencional del gen 16S del ADNr de procariontes y la región ITS de hongos.

Fases de 30 ciclos	Temperatura	Tiempos para 16S	Tiempos para ITS
Desnaturalización inicial	94°C	10 minutos	5 minutos
Desnaturalización	94°C	45 segundos	30 segundos
Alineamiento	55°C	1:45 minutos	1 minuto
Extensión	68°C	2 minutos	1 minuto
Extensión final	68°C	15 minutos	5 minutos

La visualización de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% en buffer TAE 1,0X. Se aplicó un voltaje constante DE 60 V durante 35 a 60 min, dependiendo del tamaño del fragmento esperado. Se usó el marcador de peso molecular GeneRuler 1 kb ADN *ladder* de Thermo Scientific.

Una vez verificada la calidad del ADN, éste fue enviado al servicio de secuenciación de ZymoResearch (California, USA).

4.3 Secuenciación de ADN

La secuenciación de próxima generación *shotgun* se realizó en ZymoResearch (California, USA) mediante la preparación de las genotecas con el kit Nextera® DNA Flex Library Prep Kit (Illumina, San Diego, CA) con 100 ng de ADN siguiendo las instrucciones del fabricante usando códigos de barra internos de doble índice de 8 bp con adaptadores Nextera® (Illumina, San Diego, CA); las genotecas se cuantificaron con TapeStation® (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y luego se agruparon en igual abundancia. El grupo final se cuantificó usando qPCR. Todo lo anterior según reporte de secuenciación entregado por la empresa.

4.4 Análisis bioinformático

El análisis de las secuencias obtenidas se hizo con el uso de programas bioinformáticos y plataformas web. El programa Trimmomatic se utilizó para retirar los primers y adaptadores de secuenciación.

Una vez las secuencias fueron curadas, se buscaron los genes de resistencia por medio de la plataforma DIAMOND, se compararon mediante los algoritmos BLASTx y BLASTn con las bases no redundantes del NCBI <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> y se usó el motor de clasificación bacteriana “Centrifuge” que permite el etiquetado rápido y sensible de las lecturas y cuantificación de especies.

Luego de haber sido identificados los microorganismos que componen el microbioma

de adultos de *Alphitobius diaperinus*, se realizó una revisión bibliográfica para determinar sus características, los genes de resistencia relacionados con ellos y su potencial para bioprospección.

5. Resultados Y Discusión

5.1 Extracción y Cuantificación de ADN de *Alphitobius diaperinus*

La extracción de ADN correspondiente a los adultos *Alphitobius diaperinus* (AD1a) (Anexo1) mostró valores aceptables de calidad, encontrándose en un valor cercano a 2 en la relación de los espectros normales 260/280 de absorbancia, que representa el índice de pureza. La tabla 7 muestra las concentraciones obtenidas a partir de dos muestras diferentes de *A. diaperinus*.

Tabla 7. Cuantificación del ADN de *Alphitobius diaperinus*.

<u>Muestra</u>	<u>ng/μl</u>	<u>A260/A280</u>	<u>A260/A230</u>
AD1a	72,8	2,08	0,55
AD1b	73,4	2,05	0,55
AD2a	52,1	2,08	0,95
AD2b	53,3	2,05	0,92

A pesar de encontrarse en un valor cercano a 2, podría presentarse contaminación por compuestos aromáticos como fenoles y proteínas; cuanto menor es la ratio A260/230 en la muestra, la presencia de contaminantes es mayor con sales, fenol, hidratos de carbono (101).

5.2 Ensayo de PCR convencional

Una vez cuantificado el ADN se realizó la amplificación de la muestra (AD1) mediante la técnica de PCR convencional dirigida hacia el gen 16S rRNA en bacterias y la región conservada ITS en hongos.

Los productos obtenidos se visualizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa. La figura 8 muestra los resultados de la PCR de la región ITS en hongos, y las figuras 9 y 10 muestran los resultados de la PCR del gen 16S en bacterias, donde se observan los productos de los tamaños esperados en ambos casos.

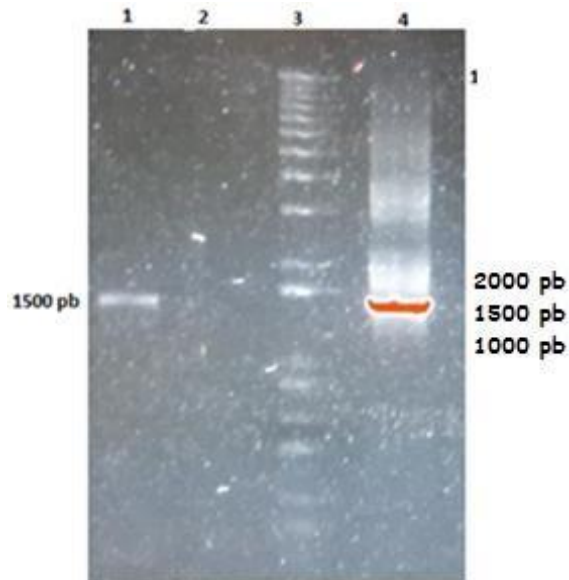


Figura 7. PCR de la región ITS. Electroforesis en gel agarosa TAE 1X, agarosa al 1%, 80 V por 1 hora. De izquierda a derecha; carril 1 control de reacción; carril 2 marcador de peso molecular 1kb *ladder* (ZymoResearch, USA); carril 3 control positivo (*A. nidulans*), carril 4 *Alphonotobius diaperinus*.

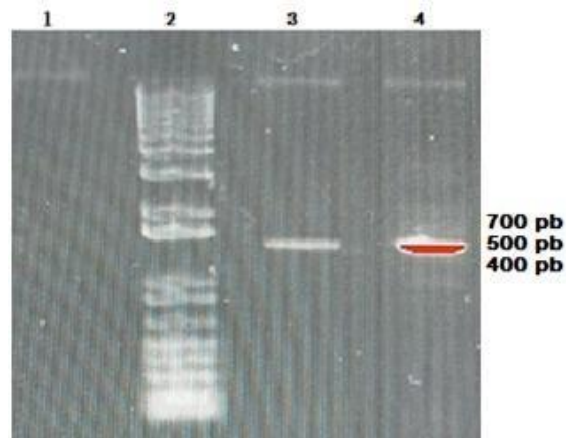


Figura 8. PCR del gen 16S rRNA. Electroforesis en gel agarosa TAE 1X, agarosa al 1%, 80 V por una hora. De izquierda a derecha: carril 1 Control positivo (*S. sonnei*), carril 2 control de reacción, carril 3 marcador de peso molecular 1kb *ladder* (ZymoResearch USA), carril 4 *Alphonotobius diaperinus*.

Debido al rastro de alta intensidad observado en la electroforesis de la PCR del gen 16S (figura 10), que sugiere una concentración del ADN de AD1 superior a la cuantificada, o una alta abundancia de ADN procariota en la muestra, se realizó una nueva PCR con el ADN de AD1 diluido a 10^{-2} y 10^{-3} , manteniendo las condiciones de la Mezcla maestra para PCR de la región 16S de la tabla 5.

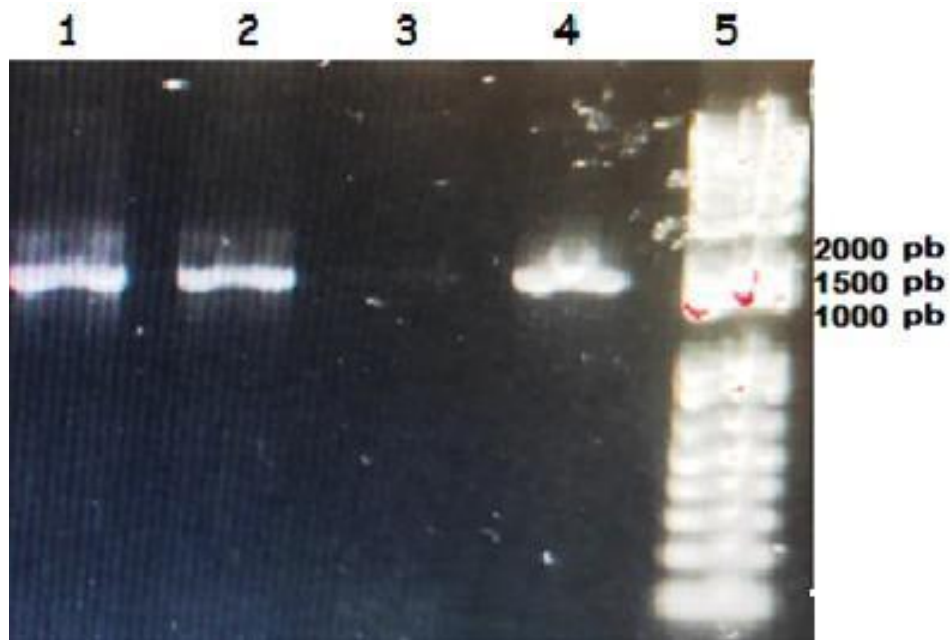


Figura 9. PCR de la región 16S. Electroforesis en gel agarosa TAE 1X, agarosa al 1%, 80 V, aproximadamente tiempo 1 hora. De izquierda a derecha; carril inicial, Carril 1; *A. diaperinus* 1 en 100 (10^{-2}); carril 2. *A. diaperinus* 1 en 1000 (10^{-3}); carril 3 control de reacción; y carril 4 control positivo (*S. sonnei*); carril 5 marcador molecular 1kb ladder (ZymoResearch USA).

En esta nueva PCR se observó una banda clara con cada una de las diluciones del ADN AD1, y comparadas con las bandas obtenidas en la PCR de la región ITS, lo que indicó que habría una mayor presencia de procariotas que de hongos en el microbioma del adulto de *A. diaperinus*.

5.3 Resultados de la secuenciación y análisis

Se seleccionó la muestra AD1 para realizar la secuenciación NGS *shotgun* en la plataforma NovaSeq® (Illumina, San Diego, CA). Se obtuvieron 1.878.281 lecturas crudas, con un 94% de aceptación, y un total de 1.210.451 lecturas de calidad.

5.3.1 Análisis bioinformático

Se recortaron las lecturas de secuencia sin procesar para eliminar las fracciones de baja calidad y los adaptadores con Trimmomatic-0.33:

La composición microbiana fue perfilada con Centrifuge (102), mediante la utilización de conjuntos de datos de genoma bacteriano, viral, fúngico, de ratón y humano. La información de abundancia a nivel de cepa se extrajo de los resultados de Centrifuge y se analizaron más a fondo, para realizar la diversidad alfa; se crearon gráficos de barras de composición microbiana con QIIME.

El reporte de composición del microbioma de adultos de *Alphitobius diaperinus* en función del total de géneros hallados fue: procariontes 98.5%, hongos 0.9% y 0,0001% virus. Los resultados podrían estar relacionados con diversos factores como el momento de la toma de muestra de la cama del galpón, correspondiendo a la fase de crecimiento del grupo de los pollos de engorde, la base del piso sobre la que se encuentra la cama (tierra o cemento), además de la exposición de los pollos a algún tratamiento de antibióticos, el tipo de sustrato de la cama y la temperatura del galpón.

En relación con el hallazgo de los genes de resistencia por medio de la plataforma DIAMOND no se detectó, debido a la escasa muestra de ADN enviada para el análisis, según fue reportado por, por lo cual se hizo una aproximación con documentación bibliográfica de las bacterias patógenas más relevantes que son de importancia para la salud pública.

A continuación, se ilustra la composición bacteriana hallada en AD1 a nivel de filo bacteriano en la figura 10 y especies fúngicas en la figura 11.

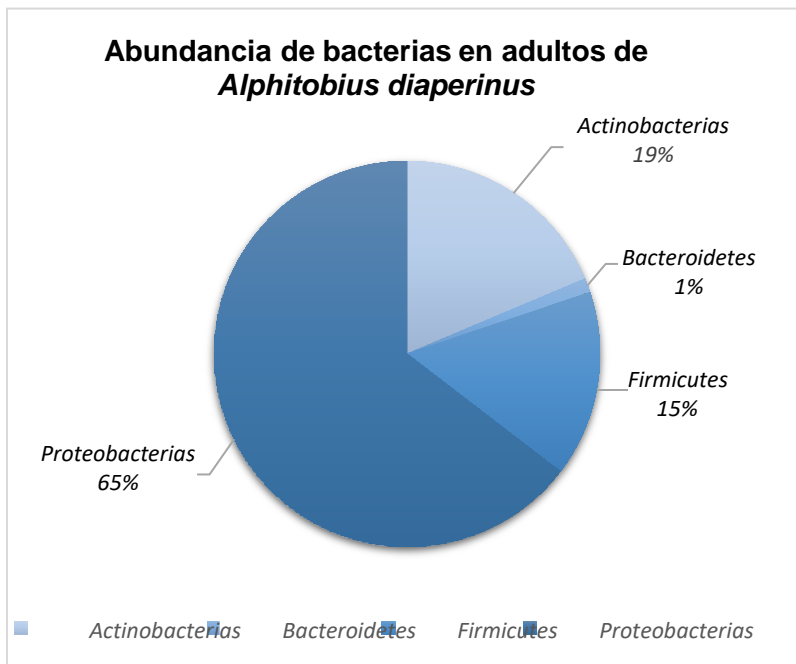


Figura 10. Abundancia de bacterias por clase en la muestra AD1

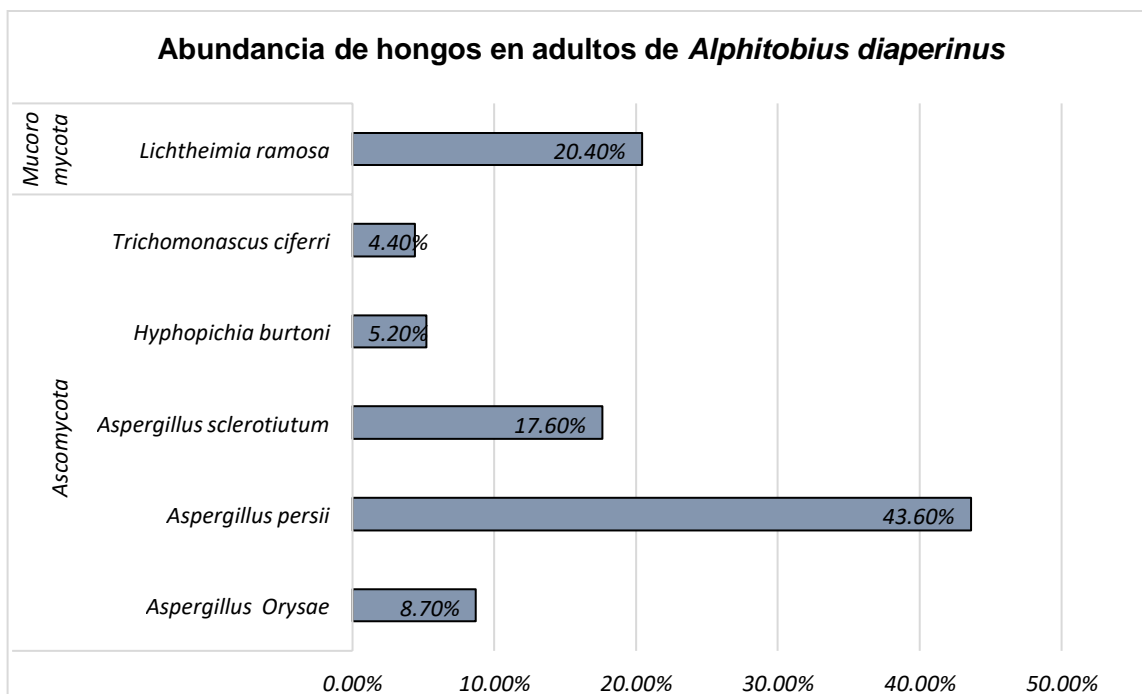


Figura 31. Porcentaje de la abundancia de Eucariotas en AD1

5.4 Bacterias identificadas en el microbioma de adultos de *Alphitobius diaperinus*

Se identificaron 42 géneros dentro de los filos Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, y Proteobacteria. La figura 12 muestra la abundancia de los géneros bacterianos identificados en el microbioma de adultos de *Alphitobius diaperinus*, donde el género *Proteus* spp. fue el más abundante con 24.5%, seguido de *Klebsiella* spp. con 20.7%, y *Staphylococcus* spp. con 14.2%. En general, se observa al filo Proteobacteria como el más abundante y diverso.

Porcentaje de abundancia en bacterias

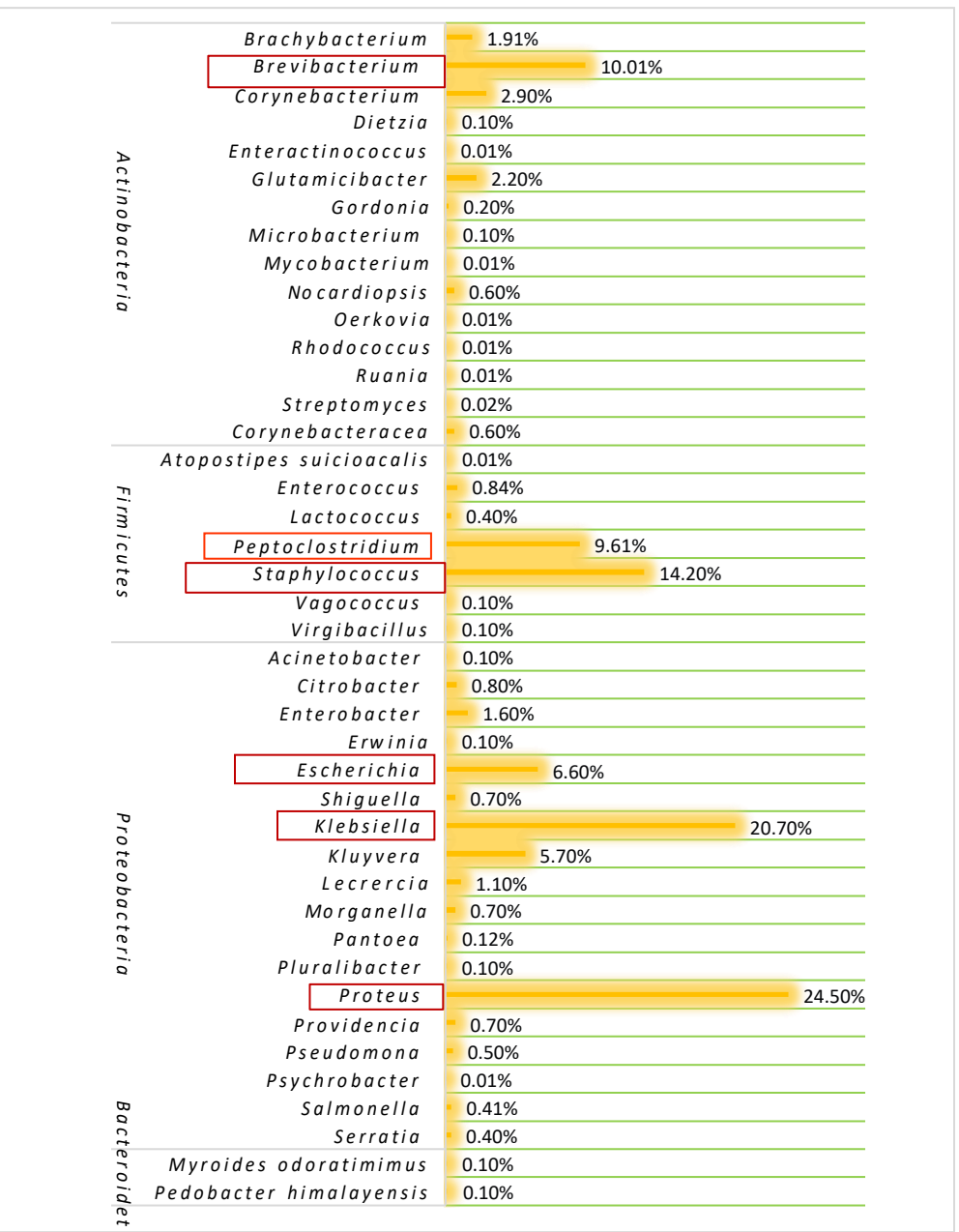


Figura 12. Abundancia de géneros bacterianos en adultos de *Alphitobius diaperinus*

Los filos de las bacterias mencionadas se describirán ampliando la información según las características generales y el potencial de bioprospección en los numerales 7.3.1 — 7.3.5 y sus tablas correspondientes; y las bacterias consideradas patógenas con ARG en el numeral 7.3.6 y 7.3.7., dentro de las cuales algunas hacen parte de las bacterias ESKAPE (acrónimo que incluye *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.).

5.4.1 Actinobacteria

Las bacterias del filo Actinobacteria son Gram positivas, filamentosas, delgadas con un cromosoma organizado en un nucleoide y una pared de peptidoglicano, son Gram positivas e inmóviles. Algunos géneros de este filo poseen ácidos micólicos (103). Son de vida libre, distribuidas en ambientes marinos y ecosistemas terrestres, incluso hasta 2 metros bajo tierra; pueden utilizar una amplia fuente nutricional creciendo a un pH neutro, en su mayoría son aeróbicas y mesófilas, pasan la mayor parte de su ciclo de vida en forma de spora favorecidas por la baja humedad; las esporas se pueden formar sobre el sustrato o alojarse en vesículas especiales (esporangios) dotadas de flagelos, pueden ser endosimbiontes (104). Están asociadas con huéspedes eucariotas de diversos nichos como los exoesqueletos de hormigas, pulmones y piel de mamíferos y raíces y tejidos internos de plantas. Las actinobacterias de vida micelial se reproducen formando esporas asexuales; comparten características tanto de bacterias como de hongos, descomponiendo material orgánico como celulosa y quitina (105). Los genomas de Actinobacteria son grandes en relación con otros filos de bacterias, se ha demostrado que la HGT es uno de los principales promotores de la diversidad de metabolitos secundarios, como en el género *Salinispora*.

Las actinobacterias halladas en heces de cabras y pollo pueden tener una aplicación biotecnológica por su actividad antibacteriana de amplio espectro y la producción de enzimas digestivas, que les permite ser utilizadas en la industria farmacéutica y en el desarrollo de enzimas para piensos en producción animal (106).

Colonizan el 10% de los agregados orgánicos marinos, evitando la degradación y mineralización de la materia orgánica. Tiene un metabolismo secundario amplio del cual se producen dos tercios de los antibióticos, así como compuestos anticancerígenos, antifúngicos y antihelmínticos. Se ha demostrado que algunas especies simbióticas de Actinobacterias controlan enfermedades bacterianas en ganado y aves de corral. Además de facilitar la conversión de los piensos en biomasa microbiana y productos finales de fermentación para la nutrición de estos animales. Hasta el 2010, se han descubierto 34000 compuestos bioactivos de bacterias y el 40% son producidos por actinobacterias (104).

La figura 13 muestra la abundancia de especies del filo Actinobacteria, donde *Brevibacterium linens* presenta el mayor porcentaje, seguido de *Glutamicibacter creatinolyticus*, *Brevibacterium epidermidis*, *Brachybacterium* EE-P12, dos especies de *Brevibacterium* desconocidas (S22 y S111), cuya secuencia se encuentra en las bases de datos, pero no fueron asignadas por homología a ninguna especie descrita previamente, y otras con una abundancia mucho menor.

Actinobacterias en adultos *A. diaperinus*

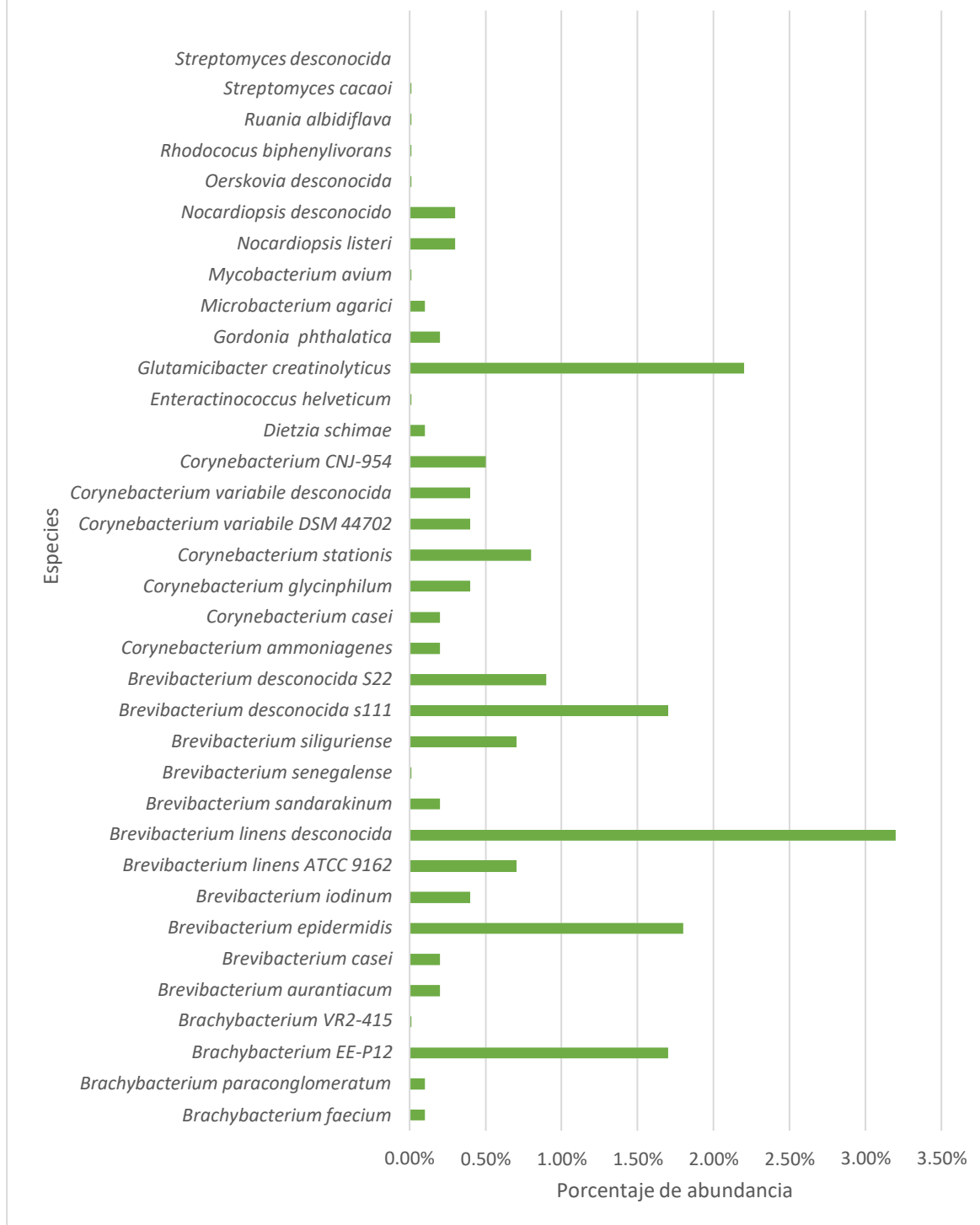


Figura 13. Abundancia Actinobacterias en adultos de *Alphitobius diaperinus*

Tabla 8. Características generales de las actinobacterias halladas en *A. diaperinus* adultos con aplicaciones biotecnológicas

<i>Brevibacterium</i>	Características	Referencia
Morfología	Bastones (fase exponencial) se remplazan por cocos (fase estacionaria), el cambio de morfología está asociado a la concentración de metionina, pH y temperatura. Se disponen individualmente o en pares y, a menudo, en ángulo para dar formaciones en "V". El peptidoglicano de la pared celular es reticulado basado en ácido diaminopimélico y las paredes tienen ácidos teicoicos complejos. Las menaquinonas son las únicas quinonas detectadas en la membrana celular	(107)
Cápsula	No es típico, pero se ve en algunas especies. Puede ocurrir ramificación, pero no se forma micelio	
Rango de temperatura	4 a 42°C	
Metabolismo	Aerobios estrictos. Quimioorganotrofos con metabolismo respiratorio no fermentativo. Utiliza sulfato de amonio como fuente inorgánica de nitrógeno y azufre y es capaz de usar aminoácidos como fuente de nitrógeno, y carbono en ausencia de otros compuestos.	
<hr/>		
<i>Brachybacterium</i>	Características	Referencia
Morfología	Su forma varía en fase estacionaria (cocooides) y en fase exponencial (bastones)	
Rango de temperatura	5 a 30°C	(108)
Metabolismo	Aeróbicos y anaeróbicos, Quimioorganotrofos toleran un 15% p/v de concentración de NaCl, se ha adaptado a diversas condiciones ambientales, catalasa positiva, produce amoníaco (NH ₃), ácido a partir de glucosa y algunos otros carbohidratos, reduce nitratos, produce exopolisacáridos como forma de resistencia a amenazas externas, y puede tener una aplicación potencial para productos farmacéuticos, alimentos, aditivos, recuperación del petróleo y remoción de metales en minería. Tienen buen desempeño como degradadores de cianuro, son resistentes a ambientes extremos.	
<hr/>		
<i>Corynebacterium</i>	Características	Referencia
Morfología	Células individuales, bacilos rectos o ligeramente curvados Predomina el ácido mesodiaminopimélico en el tetrapéptido de mureína como característica de este género	
Rango de temperatura	30°C a 37°C en atmósferas por debajo de 5% de CO ₂	(109)

Metabolismo

Muchas especies son facultativas anaerobias y algunas son aerobias. Quimioorganotrofos con metabolismo respiratorio no fermentativo, utiliza sulfato de amonio como fuente inorgánica de nitrógeno y azufre y es capaz de usar aminoácidos como fuente de nitrógeno y carbono en ausencia de otros compuestos. Varias

especies alcalinizan citrato como única fuente de carbono, pero no la mayoría.

<i>Dietzia</i>	Características	Referencia
Morfología	Células cortas en forma de bastón, y hace formaciones e V. Todas las especies contienen fosfatidilglicerol, contiene ácidos micólicos. Menaquinona predominante MK-8(H ₂)	(110)
Rango de temperatura	10°C a 45°C con 15% de NaCl	
Metabolismo	Aeróbico, reduce nitrato, produce catalasa, hidroliza gelatina, urea y almidón y reduce nitratos	

<i>Enteractinococcus</i>	Características	Referencia
Morfología	Cocoides a ovaladas, se presentan solas o en racimo. Las células en forma de bastón a menudo están dispuestas en un ángulo que muestra formas en V. Menaquinona predominante MK-7, MK-8	(111)
Rango de temperatura	Entre 25 a 40°C, óptimo a 28°C	
Metabolismo	Produce compuestos fenólicos a partir de material vegetal. La presencia de gran cantidad de genes asociados con el transporte de membrana le dan la capacidad de tolerar varios compuestos orgánicos.	

<i>Glutamicibacter</i>	Características	Referencia
Morfología	forma de bastón cuando crecen exponencialmente, y cocoides cuando alcanzan el crecimiento estacionario. El tipo de peptidoglicano es A4α (Lys-Ala-Glu; A11.35). El sistema de quinonas contiene menaquinona MK-8 y o MK-9	(112)
Rango de temperatura	28°C a 37°C en presencia 2 a 4 % de NaCl	(113)
Metabolismo	Reduce nitratos a nitritos	

<i>Gordonia</i>	Características	Referencia
Morfología	Bastones o cocoides; el crecimiento es micelial, contiene ácidos micólicos, MK-9(H ₂) es la principal menaquinona	(114)
Rango de temperatura	20°C a 37°C	
Metabolismo	Aeróbico, metabolismo oxidativo de carbohidratos.	

Morfología	Forma de bacilo, rara vez cocoide, contiene ornitina en la pared celular,	(115)
Rango de temperatura	4 a 45°C (óptima 28°C)	
Metabolismo	Reduce nitrato, produce ácido sulfhídrico,	

<i>Nocardiosis</i>	Características	Referencia
Morfología	Presentan micelio bien desarrollado con hifas largas y densamente ramificadas, con fragmentación a formas bacilares y cocoides.	(116)
Rango de temperatura	10 a 45°C	
Metabolismo	Este género es halófito moderado en un (15%) y halófito extremo en un (30%). El ácido húmico es el medio propicio para cultivarlo in vitro, pues ayuda a la difusión de su pigmento. Puede producir nitritos a partir de nitratos. Degradan esculina, caseína, ADN, gelatinasa, hipoxantina, almidón, tirosina, y xantina.	

<i>Rhodococcus</i>	Características	Referencia
Morfología	Bacilar, transformándose en el tiempo en un micelio vegetativo extensamente ramificado, es iniciado con formas cocoidales y de bacilos cortos. Algunas cepas producen hifas aéreas débiles las cuales pueden ser ramificadas o no.	(116)
Rango de temperatura	28 a 23°C	
Metabolismo	Tiene un metabolismo oxidativo, son capaces de usar un amplio rango de compuestos orgánicos como única fuente de carbono.	

Tabla 9. Bioprospección descrita en actinobacterias identificadas en *A. diaperinus*.

Especies	Aislamiento	Bioprospección	Referencia
<i>Brachybacterium faecium</i> DSM 4810	Material usado para las camas en avicultura.	Tiene la capacidad de degradar el ácido úrico, puede reducir nitrato a nitrito, y fermentar celobiosa	(117) (118)
<i>Brachybacterium paraconglomeratum</i>	Superficie de la cabina de los aviones	hidroliza esculina y urea. Reduce nitrato a nitrito.	(119)
<i>Brachybacterium</i> EE-P12	Reactor de biogás mesófilo a escala de laboratorio alimentado con extracto de pollo con altas cargas de amoníaco.	Produce genes responsables de la resistencia a compuestos tóxicos (mercurio, cobalto, zinc y cadmio)	(120)
<i>Brevibacterium aurantiacum</i>	Quesos madurados	Expresa genes implicados en la asimilación de sulfatos. Sintetiza compuestos antifúngicos	(121)
<i>Brevibacterium casei</i>	De origen marino, tiene alta capacidad de producir biopelícula.	Disminuye el fosfato y la fitotoxicidad de los metales y puede promover la absorción de Cd, Zn y Cu. Producción de aminoácidos a partir de la fermentación como el glutamato	(122) (123)

		como agente aromatizante en la industria alimentaria. Degrada ocratoxina A debido a la capacidad para metabolizar compuestos de estructuras de anillos heterocíclicos y policíclicos. Se aisló un biosurfactante lipopéptido para la degradación de aminas aromáticas, que usados en la producción de pesticidas.	
<i>Brevibacterium epidermidis</i> NBRC 14811	Suelo ácido	Degrada ocratoxina A debido a la capacidad para metabolizar compuestos de estructuras de anillos heterocíclicos y policíclicos.	(124)
<i>Brevibacterium iodinum</i>	Saprófito de piel producto de descomposición en alimentos y lácteos	Capaz de tolerar metales pesados especialmente al cromo con la producción de enzimas antioxidantes. Degrada ocratoxina A.	(125)
<i>Brevibacterium linens</i>	Ubicuo de la piel humana	Sintetiza enzimas lipolíticas y proteolíticas para mejorar las características organolépticas de quesos maduros Elimina concentración de fosfatos en desechos. Tiene la capacidad de descomponer el ácido úrico en la cama de aves de corral.	(107) (126)
<i>Brevibacterium senegalense</i>	Paciente senegalense sano,	Reducción de nitratos.	(127)
<i>Brevibacterium siliguriense</i>	Extraída del río Mahananda en Siliguri, India.	Reduce nitrato a nitrito.	(128)
<i>Brevibacterium S111</i>	Muestras de queso de 6 meses	En el queso Vorarlberger Bergkäse, se usa en la maduración para textura, color y aroma. Tiene alta actividad proteolítica y lipolítica	(129)
<i>Brevibacterium S22</i>	Queso	Contiene un grupo de genes para la degradación de urea en amoniaco, para aumentar el pH de la corteza del queso. Capacidad de adquirir hierro a través del plásmido de 22kb	(129)
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	Heces en humanos.	Produce fumarasa, enzima involucrada en el metabolismo oxidativo básico que cataliza la conversión de ácido fumárico en ácido L-málico con diferentes usos como ingredientes alimentarios, cosméticos, detergentes, herbicidas, lubricantes, polímeros biodegradables, fibras para ropa, cauchos y productos farmacéuticos.	(130)

<i>Corynebacterium casei</i>	Queso irlandés en un estudio de la microflora	Se utiliza para la degradación de aminoácidos, como glutamato, prolina, fenilamina, histidina, aspartato y treonina.	(131)
<i>Corynebacterium glycinphilum</i> AJ3170	Plátanos putrefactos en la década de 1980	Hidroliza urea, también es capaz de metabolizar amoníaco. Degrada contaminantes industriales	(132) (133)
<i>Corynebacterium variabile</i> DSM 44702	Queso	Tiene genes implicados en la adquisición de hierro. Posee un conjunto de enzimas que participan en la B-oxidación o degradación de lípidos y en la proteólisis.	(134)
<i>Dietzia schimae</i>	Tejidos superficiales del tallo de la planta <i>Shima</i> sp. en China	Reduce nitratos, hidroliza gelatina y urea, tolera hasta el 15% de NaCl.	(110)
<i>Enteractinococcus helveticum</i>	Gránulos aeróbicos de aguas de lodos residuales	Contiene genes de resistencia a metales pesados. Con 60 genes implicados en el metabolismo de los isoprenoides, es de importancia para la industria, ya que se determinó su uso para la amonificación de nitratos y nitritos, y asimilación de amoníaco como la desnitrificación. Produce 68 genes activos para degradar compuestos aromáticos para la biorremediación de suelos y agua contaminada.	(135)
<i>Streptomyces cacaoi</i>	De origen marino	Se ha informado la producción de poliéter un compuesto con bioactividad como citotoxicidad antibacteriana, anti- fúngica, antiviral, y de células tumorales. También se relaciona con la producción de polioxinacon actividad antifúngica de amplio espectro	(135)
<i>Glutamicibacter. creatinolicus</i>	En suelo, sedimentos de depósitos de agua residuales, sedimento del lago antártico, superficies de quesos, raíces de <i>Limon sinenses</i> y orina humana, y la mosca <i>Protophormia terraenovae</i> .	Reduce nitratos a nitritos, es gelatinasa, malonato y glicerol positivo	(113)
<i>Gordonia phthalatica</i>	Planta de tratamiento de aguas residuales de lodos activados en Beijing. También de clínicas humanas,	Degrada ésteres de ftalato Producto para dar flexibilidad a los plásticos	(137)
<i>Rhodococcus biphenylivorans</i>	Sedimento contaminado con bifenilos	Hidroliza celulosa y reduce nitrato	(138)

	policlorados en la ciudad de Taizhou, en China		
<i>Microbacterium</i> sp.	Aislada de la esponja <i>Halichondria panacea</i>	Glicoglicerolípidos con acción antitumoral.	(139)
<i>Nocardiposis listerii</i>	Asociado a diferentes ecosistemas terrestres y marinos	Puede producir una amplia variedad de compuestos químicos con diversas actividades biológicas; principalmente policétidos, péptidos cíclicos, macrólidos, dicetopiperazinas, alfa pironas, alcaloides, naftoquinonas, fenazinas, naftoquinonas y derivados de fenoxacina que poseen un efecto farmacológico y biológico, principalmente como antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos, antitumorales, citotóxicos, inmunomodulador, e inhibidor de la proteína quinasa. Tiene la posibilidad de producir surfactante, que al ser aislado de fuentes naturales ofrece la posibilidad de usarse en las industrias alimentaria, farmacéutica e industrial.	(140) (141) (142) (143)

El porcentaje de abundancia de actinobacterias fue de 18.68%, con la presencia de 16 especies. Una de las características que predomina en este filo, es la reducción de nitratos a amoníaco, que puede ser utilizado por microorganismos en la biosíntesis de los constituyentes celulares nitrogenados, como son fundamentalmente las proteínas y ácidos nucleicos. Como ejemplo de estas especies se encontraron *Brachybacterium faecium* (Lapidus et al., 2009), *Brachybacterium paraconglomeratum* (119), *Brevibacterium senegalense*, *Brevibacterium siliguriense* (127), *Glutamicibacter creatinoliticus* (113) y *Rhodococcus biphenylivorans* (138), lo cual se relaciona muy bien con la característica urotélica de las aves, existiendo en la instalación avícola un posible alto contenido de nitrógeno. Otras bacterias identificadas, como *Corynebacterium glycinphilum* y *Enteractinococcus helveticum*, también están involucradas en el ciclo del nitrógeno, ya que reducen el amoníaco producto de la descomposición de la materia orgánica y pueden servir en la fabricación de abonos.

A nivel de bioprospección se encuentran bacterias que pueden ser utilizadas en biorremediación de suelos contaminados: *Brachybacterium EE-P12* con la

resistencia a compuestos tóxicos como mercurio, cobalto, zinc y cadmio (120); *Brachybacterium aurantiacum*, expresa genes en la asimilación de sulfatos (121); *Brevibacterium linens* elimina fosfatos en desechos (126); *Brevibacterium casei* disminuye la concentración de fosfatos, la fitotoxicidad de los metales, y puede promover la absorción de Cd, Zn y Cu (122); y, finalmente, *Enterococcus helveticum* contiene genes relacionados con la degradación de compuestos aromáticos para la biorremediación de suelos y agua contaminada (135).

5.4.2 Firmicutes

Las bacterias de este filo son Gram positivas, muchas pueden formar esporas en etapa de reposo que son resistentes al ambiente, pueden germinar con la formación de una célula vegetativa con pared celular rígida capaz de replicarse, y su metabolismo no es activo (144); desempeñan un papel clave en la nutrición y metabolismo del huésped a través de la síntesis de ácidos grasos de cadena corta, y están conectadas indirectamente con tejidos y órganos que regulan la saciedad y el hambre en humanos; en su genoma presentan un bajo contenido de G+C (145).

En este filo se encuentran géneros de patógenos humanos y de animales muy importantes como *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp., mientras que otros miembros de este filo se pueden utilizar en el biocontrol de patógenos en plantas y fitorremediación de metales pesados (146) (Figura 14). Estos géneros serán relacionados en el ítem 5.4.5 de las bacterias patógenas halladas en adultos de *A. diaperinus*.

Se encontraron 29 especies de 5 géneros de Firmicutes que representan el 15% de la abundancia de bacterias en *A. diaperinus*, de las cuales solo tres podrían tener enzimas útiles en la industria como *Atopostipes suicloacalis* que pertenece al grupo microbiano BAL, produce celobiosa y puede ser usada para la fabricación de detergentes ecológicos con propiedades antibacterianas (147), *Vagococcus carniphilus*, como bacteria solubilizadora de fosfato, ayuda a

absorber el fósforo por las plantas pudiendo ser un biofertilizante (148) y *Virgibacillus* spp. produce proteasas que pueden ser usadas en la industria de detergentes (149).

Firmicutes identificados en adultos *A. diaperinus*

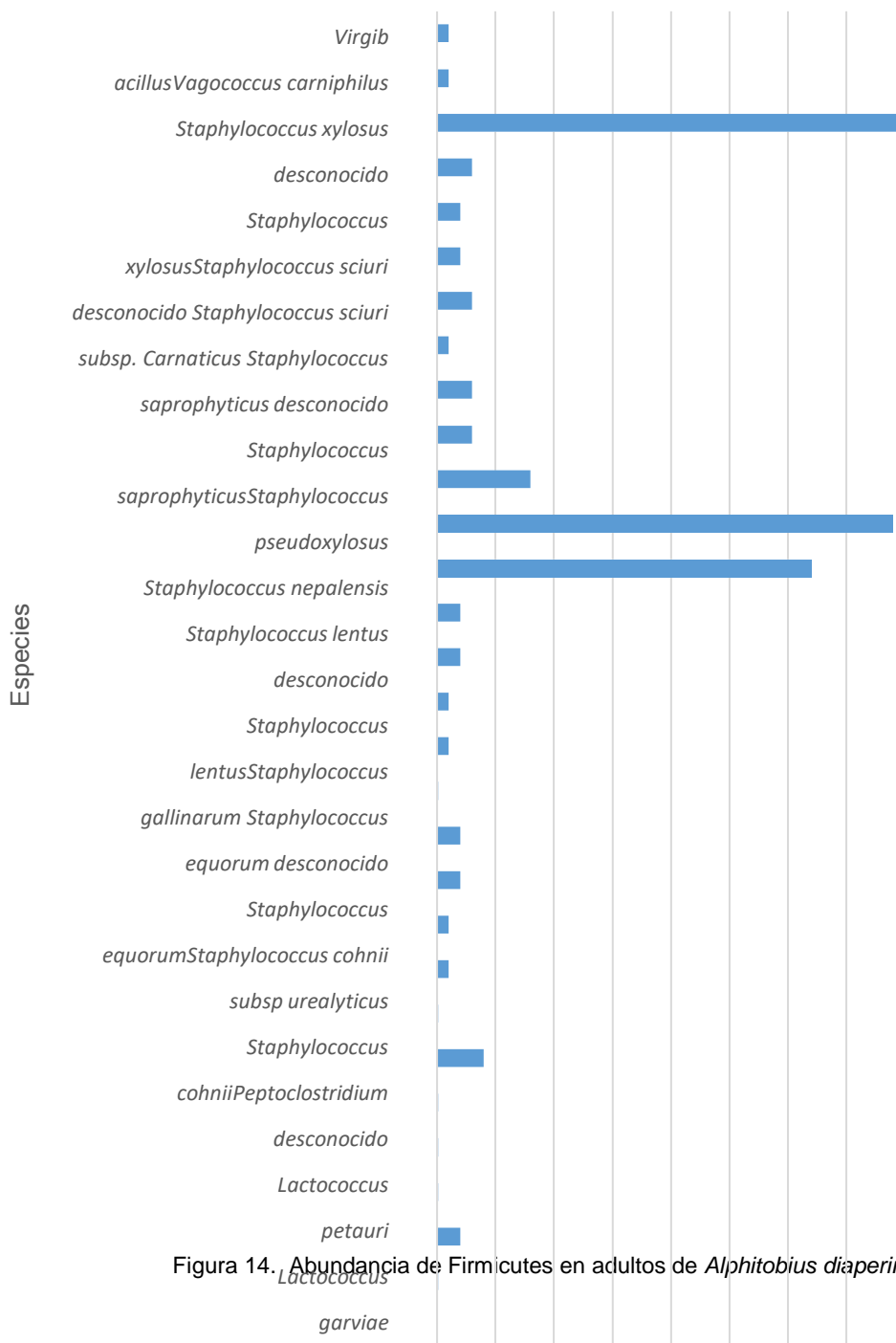


Figura 14. Abundancia de Firmicutes en adultos de *Alphitobius diaperinus*.

Enterococcus gallinarum desconocido
Enterococcus gallinarum NBRC 100675

Tabla 10. Firmicutes hallados en adultos de *A. diaperinus* con aplicaciones biotecnológicas.

Especies	Aislamiento	Bioprospección	Referencia
<i>Atopostipes suicloacalis</i>	cama de sustrato de arena usada en los galpones, encontrándose a mitad del ciclo de producción avícola, al parecer se relaciona su abundancia con el aumento de material orgánico	Produce xylanasa con aplicación antiaglomerante en harinas con hidrólisis de gluten.	(150)
		Blanqueamiento del papel evitando el cloro.	(151).
			(152)
			(150)
<i>Vagococcus carniphilus</i>	Carne molida	Se encuentra dentro de las bacterias solubilizadoras de fosfato, teniendo la capacidad de convertir la forma insoluble del fósforo en una forma disponible, ayudando a aumentar la absorción de fósforo por las plantas, empleándolas como biofertilizante en los campos de palmas aceiteras.	(148)
			(153)
<i>Virgibacillus</i> LJ137	Su hábitat corresponde a pescado salado y otras especies pertenecientes a este género se encuentran en el intestino humano. Tiene la capacidad de para adaptarse a diferentes ambientes como sedimentos marinos y alimentos fermentados	Puede utilizar una variedad de fuentes de nitrógeno orgánico para el crecimiento y para la producción de proteasas, siendo útiles las proteasas a nivel de la industria de detergentes	(154)
			(149)
			(149)

5.4.3 Proteobacterias

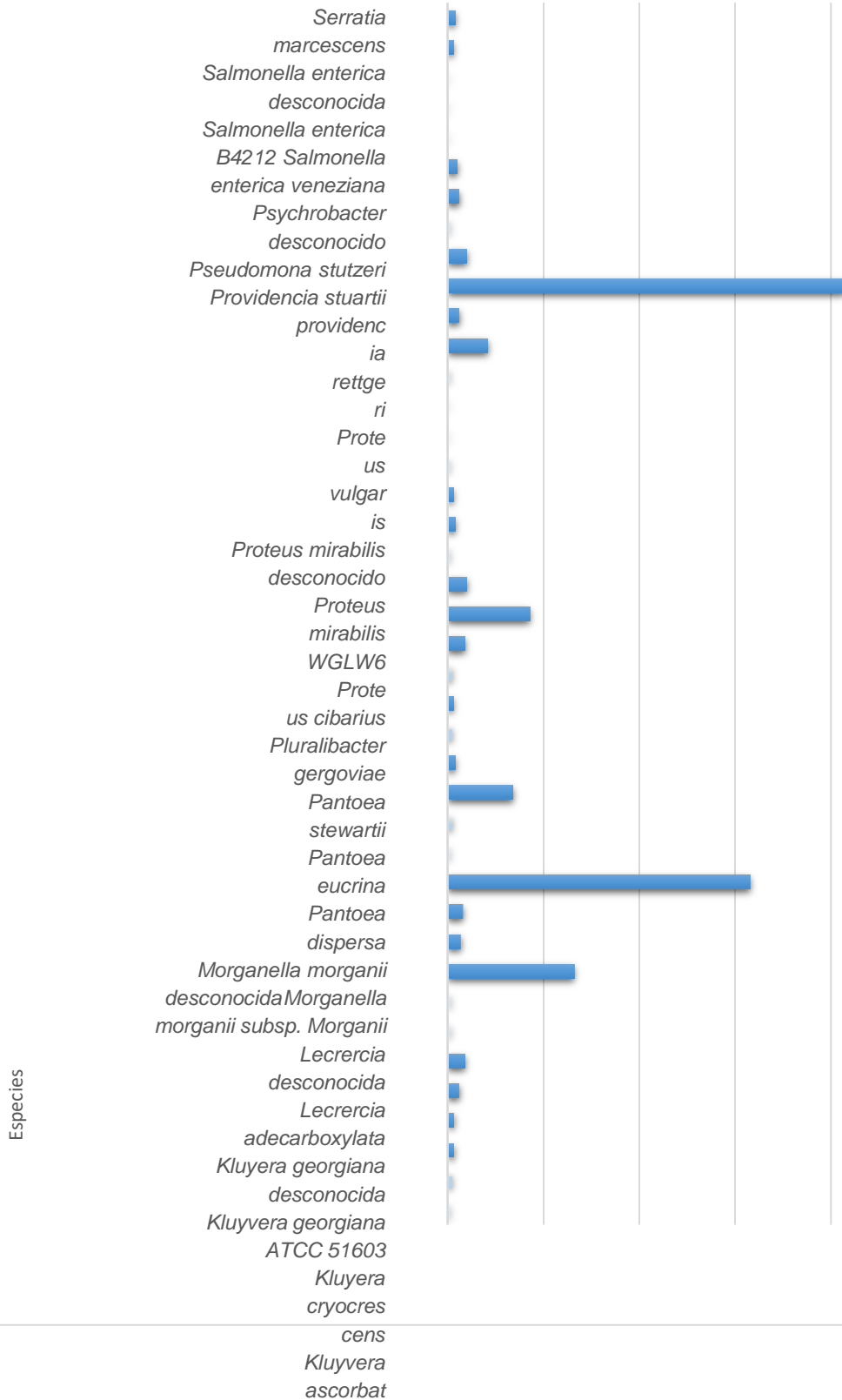
Este filo constituye el linaje filogenético más grande y fenotípicamente más diverso, representando el 40% de todos los géneros procariotas, abarcando una proporción importante de las bacterias Gram negativas, con una diversidad metabólica extrema. El contenido de G+C varía del 30% a 70%. Las proteobacterias incluyen la mayoría de las bacterias conocidas con importancia médica, veterinaria, agrícola o industrial. Las bacterias de las distintas clases presentan a menudo rasgos fisiológicos en común (155). Dentro del filo Proteobacteria, la clase Gammaproteobacteria presenta un gran número de géneros y familias quimioorganotrofas, como la familia Enterobacteracea (156)(157), caracterizada por especies patógenas principalmente.

Las proteobacterias encontradas en adultos de *A. diaperinus* fueron en su totalidad de la clase Gammaproteobacteria, muestran una abundancia del 64.95%, están representadas por 18 géneros, de los cuales 15 presentaron solo especies patógenas y los 3 géneros restantes, especies con potencial de bioprospección. Entre estos últimos, *Psychrobacter* sp. con la producción de ureasa, enzima muy utilizada en biorremediación y biotecnología; *Providencia rettgeri*, puede degradar glifosato a altas concentraciones y, *Pseudomonas stutzeri*, que produce celulosa termotolerante usada en varias aplicaciones industriales (Figura 15) (Tabla 11).

Tabla 11. Proteobacterias halladas en adultos de *A. diaperinus* con aplicaciones biotecnológicas.

Especies	Aislamiento	Bioprospección	Referencia
<i>Psychrobacter</i>	Superficie del antártico, común en la tierra con ácido úrico derivado del ave	Posee genes cromosómicos que codifican anhidrasa carbónica y ureasa, enzimas clave en procesos de biorremediación y biotecnología. Se han aislado enzimas activas en frío como glutamato	(158)
		deshidrogenasas al ser termoresistentes a disolventes por su estabilidad y pHs drásticos puede ser usada como biosensor para detectar metales pesados, amoniac, urea.	(159)
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Musca doméstica</i> Ciego de pollos	Se ha evaluado su acción para controlar la mosca de fruta mediterránea (<i>C. capitata</i>).	(160)
		Tiene alta capacidad de degradar glifosato a altas concentraciones.	(161)
			(162)
		Es una bacteria fermentadora que genera electricidad.	(163)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Sobrevive en el suelo y coloniza raíces de plantas de forma endofítica y epífita	Tiene la capacidad de fijar nitrógeno. Produce celulosa termotolerante, útil para aplicaciones industriales como producción textil, fermentación y bioenergía, entre otras.	(164)

Proteobacterias en adultos *A. diaperinus*



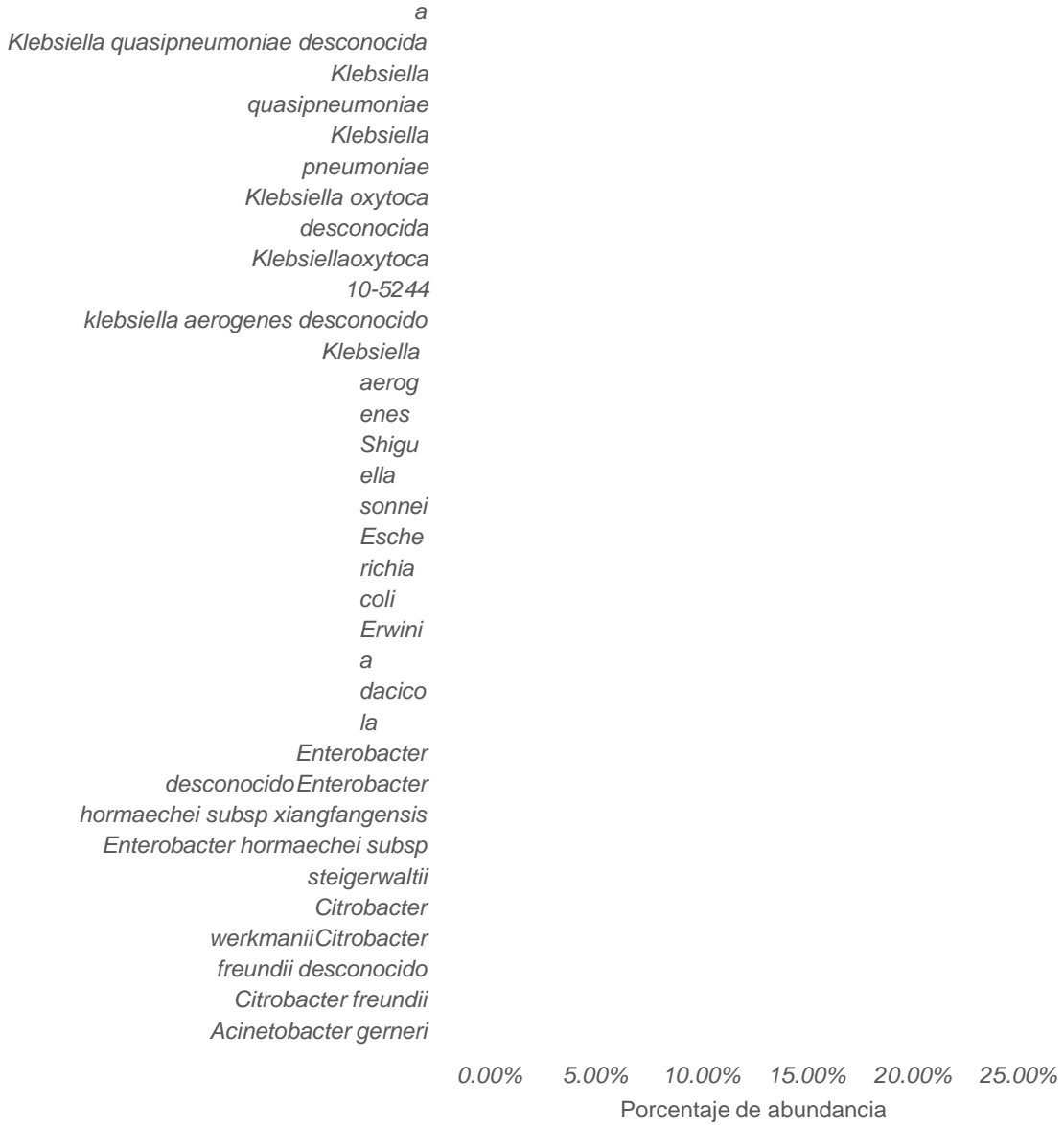


Figura 15. Abundancia de Proteobacterias en adultos de *Alphitobius diaperinus*

Como se mencionó anteriormente, las especies identificadas como patógenas serán discutidas en el ítem 5.4.5, donde se exponen las características y la resistencia bacteriana.

5.4.4 Bacteroidetes

El filo Bacteroidetes, compuesto por bacilos Gram negativos que no forman endosporas, es fenotípica, fisiológica y metabólicamente muy diverso. Es un filo dominante degradador de carbohidratos en suelo, en la capa superior y en el intestino distal, los Bacteroidetes prosperan debido a su capacidad para secretar diversas matrices de enzimas activas en carbohidratos (CAZymes) lo que hacen a través de la secreción de tipo IX específica del sistema (T9SS) que se dirige a los glicanos altamente variados en el suelo (165). Es simbiote de insectos que se alimentan de savia y vectores de enfermedades de plantas, también este filo ha sido asociado al escarabajo *Coleomegilla maculata*, se indica que la filogenia del simbiote es congruente con la filogenia de los insectos hospedadores (166).

Hay información respecto a que cepas Bacteroidetes spp. pueden ser utilizadas como probiótico en conejos (327), y se ha reportado junto a los Firmicutes en la microbiota de un individuo sano (328).

Se identificaron solamente dos especies de Bacteroidetes en el microbioma de adultos de *A. diaperinus* con muy poca representación en abundancia, *Pedobacter himalayensis* 0.1% que produce algunas enzimas con valor industrial y *Myroides odoratimimus* 0.1%, esta última descrita como patógena.

5.4.4.1 Características generales de *Pedobacter himalayensis*

Pedobacter es uno de los pocos grupos de bacterias dominantes del suelo que se pueden cultivar fácilmente. Son Gram negativos, productores de heparinasa, aerobios

obligados, con o sin motilidad, negativo para ureasa, lipasa, gelatinasa, arginina hidrolasa, producción de indol y reducción de nitratos. Tiene la capacidad de reducir bifenilos policlorados (167) (168).

P. himalayensis HHS 22T, fue aislada del agua glacial de las cordilleras del Himalaya de la India, difiere de las especies conocidas del género *Pedobacter* en sus características fenotípicas, lo que representa una novedad para el género; crece de 4 a 25°C, pH de 6 a 10, y 5.8% de NaCl, produce enzimas que pueden ser usadas en la industria láctea como oxidasa y catalasa; para la preservación de alimentos (169); produce gelatinasa que se usa como aditivo en la industria alimentaria, La lipasa hidroliza el componente graso, proporcionando cambios característicos en el sabor del queso durante su maduración, B-galactosidasa para cuantificación de la lactosa en leche; amilasa hidroliza parcialmente el gluten, puede permanecer durante el horneado hidrolizando el almidón, resultando un pan más suave (169); las enzimas proteolíticas y lipolíticas actúan sobre diferentes substratos naturales y sintéticos siendo usadas en la industria como detergentes, las amilasas, gelatinasas, se emplean como aditivos en la industria alimentaria (150). Ureasa han sido usadas para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno orgánico a través de su hidrólisis (170). Lactosa hidroliza la lactosa en D-glucosa y D-galactosa, para la obtención de productos deslactosados, además previene la cristalización de la lactosa en helados y postres congelados de leche; posee una enzima que reduce amonio a amoníaco a través de la desnitrificación, presenta menaquinonas MK7(H₂), MK8 (H₂), y MK9(H₂), y un contenido de G+C del 41,25 %. (167).

5.4.5 Bacterias patógenas identificadas en adultos de *A. diaperinus*

Entre las 61 bacterias patógenas halladas en este estudio, se encontraron las reportadas en la literatura en *Alphitobius diaperinus* como vector de enfermedad en las aves de corral (22) (21) (17). Hasta ahora son pocos los datos de referencia sobre la abundancia de ARG en granjas donde los pollos se crían de forma intensiva con poco o ningún uso de antibióticos (171). Sin embargo, se ha demostrado la capacidad de los

insectos para transmitir materiales de su sistema digestivo al medio ambiente (172) y se ha determinado que cualquier escarabajo que porte *Salmonella* en su intestino sirve como reservorio bacteriano, abarcando el tiempo entre las rotaciones de la parvada. De esta forma, *A. diaperinus* representa un reservorio residual de dispersión de patógenos (27) (Anexo 2).

La mosca doméstica (*Diptera muscidae*), como ejemplo vector referente de patógenos bacterianos ha sido muy estudiada, pero son pocos los datos sobre su papel en la propagación de la comunidad bacteriana, de los ARG y los MGE (173). En Bangladesh se reportaron bacterias con resistencia a los antibióticos que fueron aisladas de moscas domésticas, *S. aureus* (78.6%), *Salmonella* spp. (66.4%) y *E. coli* (51.4%). Este mismo estudio demostró que de 110 aislamientos de *S. aureus* 103 eran resistentes tanto a la penicilina como a la amoxicilina, hallando la presencia de genes *mec A* en un 14%; en el caso de *Salmonella* resistente a la tetraciclina, *tetA* fue el gen de más prevalencia con 44%, en comparación con el 20% de *tet B*. Así mismo, de 24 aislamientos de *E coli*, el 20% presentó resistencia a la colistina siendo positivo para el gen *mcr-3* (28). Adicionalmente, se hizo el hallazgo de algunos géneros de bacterias que se relacionan con la incidencia de las infecciones por bacterias multirresistentes (por sus siglas en inglés MDR), lo cual se ha convertido en un problema de salud pública.

Como segunda instancia, en este estudio se hizo el hallazgo de algunos géneros de bacterias que se relacionan con la incidencia de las infecciones por bacterias MDR, lo cual se ha convertido en un problema de salud pública. Los patógenos descritos habitualmente son agrupados en el acrónimo ESKAPE que incluye las bacterias *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *enterobacter spp.* De esta forma, se describirán las bacterias patógenas de mayor relevancia en salud pública que pertenecen al grupo conocido como ESKAPE (de cual se hallaron *Enterococcus*, *Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus*, y *Klebsiella*) bacterias descritas a continuación.

- ***Enterococcus***

Pertenece a las bacterias del ácido láctico. Posee factores de virulencia como adhesinas, invasinas, pili y hemolisina, gelatinasa, citolisina, serina proteasa, cápsula y

sustancia de agregación, además de alta capacidad para formar biopelículas (174). Se encuentra en suelo, aguas residuales, plantas, piel humana, cavidad bucal. Son resistentes, y sobreviven a condiciones difíciles como desinfectantes y antisépticos. Su virulencia proviene de propiedades como durabilidad, estructura y resistencia a antibióticos, y toleran alta concentración de sal 6,5% y alta gama de temperaturas (175). Se considera comensal del tracto intestinal animal y humano, constituyendo el 1% de la microbiota total; ha surgido como patógeno nosocomial importante; especialmente *E. faecium*, resistente a la vancomicina debido al uso análogo de vancomicina avorpacina como promotor de crecimiento en países de la Unión Europea durante los años de 1978 a 2000, llegando a persistir debido a la coselección. Además, se ha sugerido que los trabajadores de las granjas, han podido introducir a la población de aves de corral elementos de resistencia a la vancomicina (176).

En adultos de *A. diaperinus* se encontraron las especies *E. faecalis*, *E. faecium* y *E. gallinarum*, con abundancias de 0.40%, 0.01%, y 0.20%, respectivamente.

Se ha sugerido que las aves de corral son un reservorio de *Enterococcus* con resistencia a condiciones adversas y a los antibióticos. Se han descrito 8 operones que median esta resistencia; como son (*van*) para glucopéptidos, (*cat-fex-cfr*) para cloranfenicol-floranfenicol denominados *vanA*, *vanB*, *vanC*, *catA*, *catB*, *fexA*, *fexB* y *cfr* (175). Este género, representado principalmente por *E. faecalis* y *E. faecium*, se ha señalado como reservorio resistente a antibióticos en hospitales, pero también se han agregado a la preparación de alimentos fermentados, quesos, verduras y embutidos, y en el deterioro de productos cárnicos (48).

También, se ha relacionado a las cucarachas y moscas comunes como portadores de *E. faecalis* y *E. faecium*, las cuales tienen gran potencial para diseminar bacterias fecales debido a su hábitat de desarrollo (31).

Enterococcus gallinarum es resistente a la vancomicina debido a su operón *vanC*, y su resistencia intrínseca a muchos antibióticos limita las opciones terapéuticas. Se ha relacionado con infecciones de asistencia sanitaria, infecciones del torrente sanguíneo, tracto urinario y heridas quirúrgicas (177). Puede inducir autoinmunidad en huéspedes susceptibles al cruzar la barrera intestinal para colonizar órganos internos (178).

- **Salmonella**

La salmonelosis es la causa principal de enfermedad entérica bacteriana en animales y humanos, transmitida por alimentos. Las bacterias del género *Salmonella* son Gram negativas, facultativa intracelular, su identificación serológica está basada en los antígenos O (somáticos) y H (flagelares). Los determinantes de virulencia incluyen flagelos, fimbrias, sistemas de secreción de tipo III (T3SS), toxinas, sistemas reguladores de dos componentes y antígeno capsular Vi (179). En *A. diaperinus* la colonización de *Salmonella* puede dar lugar a una colonización transitoria (172).

En África subsahariana, se realizó el primer estudio de la detección de *Salmonella* spp. y *E coli* enteropatógena resistente a los antimicrobianos en moscas que infestan el pescado de los mercados en Zambia. Se encontró que todos los aislamientos fueron susceptibles a los antibióticos probados. La presencia de *Salmonella* se confirmó con el gen *invA* (180). En otro estudio realizado en el mercado de pescado en Bangladesh, en relación con la detección molecular de *Salmonella* spp. en moscas, se concluyó que el 91.2% resultaron ser MDR, con resistencia a 25 antibióticos, encontrándose que todos los aislamientos eran resistentes a la tetraciclina, con los genes asociados *tetA*, *tetB*, detectados en un 100%, y la resistencia a ciprofloxacina con los genes asociados *qnrA* (41.1%), motivo de preocupación en la salud pública, puesto que datos epidemiológicos revelan que esta bacteria se relaciona con gastroenteritis de tipo alimentario detectándose en diferentes tipos de carne, especialmente carne de pollo y su aislamiento se ha dificultado por el bajo número de bacterias presentes en alimento (181).

En los últimos años, surgió la idea de usar insectos comestibles para la producción industrial, como gusanos de harina (*Tenebrio molitor*), para lo cual se estudiaron 11 genes transferibles de AMR; *erm (A)*, *erm (B)*, *erm (C)*, *vanA*, *vanB*, *tet (M)*, *tet (O)*, *tet (S)*, *tet (K)*, *mecA*, *blaz* en insectos como grillos, langostas, larvas de gusano de harina, hormigas negras, termitas, escarabajo rinoceronte, grillos topo, pupas de gusano de seda y escorpiones rojos, siendo *tet (K)* el gen de mayor prevalencia, seguido de *erm (B)*, *tet (S)* y *blaz*. Esto indica un posible riesgo para la salud humana (182). Sin embargo, en el año 2015 la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria evaluó el riesgo sobre el consumo de insectos por

parte de humanos y animales y dedujo que los riesgos son comparables con otros sistemas de producción animal (183).

En Chile se describió la presencia de cepas de *S. enterica* perteneciente a los serotipos *Infantis*, en formas larvianas y adultas de *A. diaperinus*, y se determinó que en su forma adulta presentan el riesgo de portar y propagar *Salmonella* dentro de los ambientes de las aves de corral, como también que transmita *Salmonella* a las aves al ser consumidos por ellas, para luego diseminar las bacterias en el estiércol. El serotipo *Infantis* mostró resistencia a los antimicrobianos y evidencia de ser portador del megaplásmido pESI, donde todos poseían fenotipos multirresistentes, y a través de PCR, se identificaron los genes emergente) *faeAB*, *ipfA*, *mera*, *pemK*, *ccdAB* y *traC*; y el pESI, plásmido para *S. Infantis* (184).

Se caracterizó la dinámica microbiana durante un ciclo de producción industrial de gusanos menores de la harina (larvas de *A. diaperinus*), utilizados para consumo humano, mediante la secuenciación Illumina Miseq, donde no se detectaron patógenos alimentarios como *Salmonella* spp. *Listeria monocitogenes*, *Bacillus cereus*, o *Staphylococcus coagulasa positivo*. Al parecer, algunas especies bacterianas muestran una ventaja competitiva dentro del intestino de la larva y se vuelven dominantes (185). En este estudio se halló *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Veneziana*, esta bacteria inicialmente fue aislada de muestras ambientales, especialmente agua dulce y salada (186), *Salmonella enterica* ha sido caracterizada por estar asociada a las bacterias que se transmiten por alimentos, y epidemiológicamente asociada al consumo de productos avícolas (187), por lo tanto, *A. diaperinus* puede ser vector de *Salmonella* en la producción avícola y, aunque el porcentaje de abundancia reportado en este estudio fue muy bajo (0.1%), no se puede descartar su posible acción como vector.

- ***E. coli***

Su esquema de serotipificación se basa en los antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (K) (188). Tiene la capacidad de adquirir y conservar genes de resistencia transferibles, estas cepas se pueden propagar a través de los alimentos y la comunidad pudiendo actuar como reservorio, incluso las aguas residuales son usadas como un método de detección rápida para detectar cepas resistentes (189), que pueden causar

patologías urinarias, gastrointestinales y septicemia. Las cepas de *E. coli* patógena extra intestinal se subdividen en

E. coli patógena aviar, que causa una enfermedad sistémica en aves, la segunda causante de meningitis neonatal y *E. coli* uropatógena (190). Existe un precedente de mujeres con infecciones urinarias causado por *E. coli* multirresistente, que informaron el consumo frecuente de pollo (191); como también el hecho de que esta bacteria es productora de la toxina Shiga (STEC), que representa un importante problema para todo el mundo, y es que ha llegado a asociarse la carne de pollo a la enfermedad (STEC) (192).

Los principales mecanismos de resistencia a las oximiinocefalosporinas en *E. coli* se basan en la producción de b-lactamasas de espectro extendido (BLEE), estos genes han tenido un mayor porcentaje en aislamientos clínicos humanos en China con un 55%, en comparación con el 3% de los aislados de los animales para el consumo humano (190). En mención al estudio realizado en moscas en África, se obtuvieron 56 cepas productoras de BLEE, de estos 42 aislamientos, el 42.9% portaban genes *bla* CTX-M y el 35.7% portaba genes *bla* SHV. Algunos aislamientos (21.4%) fueron positivos para los 2 tipos de genes (180). En otro estudio en Filipinas, de muestras aisladas de hisopados de cloacales de pollos de engorde y de las botas de los trabajadores en galpones de pollos de engorde, se determinó la prevalencia del genotipo BLEE siendo el más común *bla* CTX-M Y *bla* TEM, llevando a que los plásmidos que codifican BLEE puedan ser transferidos de las cepas de aves de corral de *E. coli* a humanos, a la vez que llevan otros genes de resistencia a antibióticos (193).

En Trinidad y Tobago se aisló *E. coli* de muestras clínicas de humanos y de intestinos de pollos en planta de beneficio. Los aislamientos de *E. coli* recuperados de humanos (88.9%) portaban más genes BLEE que los de los pollos (49.2%), sugiriendo una menor probabilidad de transferencia de genes AMR y los genes TEM eran predominantes en aislamientos de pollo 48.6%, en contraposición de los hallados en humanos 13% (194).

El estudio más reciente en moscas detectó *S. aureus*, *Salmonella spp.* y *E. coli* con resistencia a múltiples antibióticos en la región de Mymensingh, y destacó cinco genes AMR donde *tet A* fue el más común, luego el gen *mcr-3* responsable de la resistencia a

la colistina y el gen *mec(A)* de MRSA (28).

- ***Staphylococcus***

Este género representó una abundancia de 14.20% en total, un valor alto dentro de los Firmicutes, predominando *S. lentus* (4.7%) y *S. gallinarum* (3.2%). Es un microorganismo catalasa positivo, residente de la microbiota humana, produce diferentes factores de virulencia extracelulares como toxinas con propiedades antigénicas, y producción de biopelículas (195).

S. lentus es una bacteria comensal que coloniza la piel de animales usados para la producción, y puede causar de forma inusual infección en humanos (196).

En estudios recientes se aisló *Staphylococcus* de *A. diaperinus* destinadas al consumo humano (185), y también se identificaron cepas patógenas en varios insectos vivos (hormigas, cucarachas, moscas, avispas, polillas y mariposas) en hospitales de Brasil (48). Es importante destacar que aproximadamente 1900 especies de insectos se consumen en el mundo siendo los coleópteros los de mayor demanda en un 31% (197).

Se han encontrado genes de resistencia comunes en *Staphylococcus* spp. como *mec(A)*, *erm(C)*, *tet(K)*, *tet(L)*, *van A*, *vanB*, *vanC* y *tet(O)*, y se han hallado MGE en bacterias de seres humanos, animales y el medio ambiente en África (198). Así mismo, se ha indicado el aislamiento de *S. aureus* de insectos como las hormigas que han sido recolectadas en hospitales, llegando a multiplicarse en sus cuerpos y nido, siendo una fuente de infección para pacientes inmunodeprimidos (195).

Se ha reportado la existencia de *Staphylococcus* de los galpones de pollos destinados a la producción, en especial de *S. xylosus* aislado de muestras de aire, y se ha relacionado con genes *tetK*, *linA*, *ermB* y *blaZ*, (199). Se ha demostrado la capacidad de esta bacteria para convertir residuos agroindustriales en biodiesel (200), sin embargo, su uso debe ser controlado para evitar la propagación de estos genes de resistencia antimicrobiana.

Adicionalmente, se han aislado *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA, por sus siglas en Inglés), de productos de pollo al por menor, junto con la AMR, siendo

la media de *S. aureus* tan alta que sobrepasó los límites posibles de la Organización Egipcia de Normalización y Control de Calidad (198). Las infecciones causadas por esta bacteria suponen un problema importante para la salud pública, llegando a ocasionar brotes epidémicos, con las consecuentes endemias hospitalarias que dificultan su control, disminuyendo las opciones de tratamiento (201).

El estudio más cercano a *A. diaperinus*, consistió en evaluar la distribución de los genes de resistencia a los antibióticos en larvas de *Tenebrio molitor* con fines alimentarios que fueron criadas en laboratorio. En el análisis de su excremento y alimento se detectaron genes *tet (M)* en *Lactobacillus casei*, *tet(K)* *Staphylococcus aureus* y *tet(S)* *Enterococcus italicus*, para bacterias a través de la amplificación con PCR y PCR anidada (5). Como antecedente de este tipo de estudio, se encontró que los géneros *Bacillus* y *Clostridium* han sido los géneros más representativos encontrados en insectos (202).

- ***Klebsiella***

Este género fue hallado con una abundancia de 5.7% en este estudio. Es una bacteria Gram negativa, ureasa, prueba de Voges-Proskauer y descarboxilasa positiva y fermenta lactosa (203). Produce infecciones del tracto urinario, meningitis, diarrea e infecciones de tejido blando (204). Ha sido aislada de larvas del lepidóptero *Bunaea alcinoe*, de larvas del coleóptero picudo de la palma africana o *Rhynchophorus phoenicis* (48). En Irán se capturaron moscas en diferentes ambientes y en las cuatro estaciones, siendo el 11,3% de estos insectos positivos para *K. pneumonie*, estando presente en su parte externa como en su interior. También se demostró que el nivel de AMR fue superior al 23 % para 16 antimicrobianos estudiados, esta identificación de la bacteria se realizó con técnicas fenotípicas y PCR. (205). De tal forma que se considera un patógeno nosocomial con resistencia a los antimicrobianos, siendo relevante su vigilancia para frenar su amenaza (206).

En este estudio se halló *K. aerogenes*, una bacteria asociada a patologías del tracto urinario y los ojos, con alta AMR, y alta capacidad de diseminación clonal albergando diferentes plásmidos con varios genes AMR *bla_{kpc}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMPY}* *bla_{CTX-M}* (207). También se halló la especie *K. oxytoca*, la cual se ha utilizado como probiótico en la

dieta de larvas y adultos de la mosca de la fruta, para acortar el tiempo de latencia de su apareamiento, y una mejor capacidad de sobrevivir bajo privación de alimento (208), pero se ha reportado la KPC “carbapenemasa” transportada en plásmidos que son transferibles entre bacterias Gram negativas (209).

K. quasipneumoniae, identificada en este estudio, tiene forma de varilla y es encapsulada (203). Se identificaron cuatro plásmidos de los cuales uno pTMSNI47-1 albergaba genes de resistencia a fármacos, con una amplia gama de hospedadores y alta transferibilidad a través de HGT, siendo un portador eficiente y agente causante de una resistencia a B-lactámicos de muy amplio espectro con los genes *bla*CTX-M-2, *bla*DHA-1 , *bla*OXA-10 , *bla*KKM-1, siendo este último el responsable de reducir la susceptibilidad a los carbapenémicos (210). Cabe recordar que los carbapenémicos se han considerado por mucho tiempo como último recurso terapéutico para el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias Gram negativas, de forma que los genes de carbapenemasas y ESBL hallados en *K. pneumoniae*, representan un riesgo para la salud pública, debido a que son diseminados a través de sus plásmidos con la alta transferencia genética (HTG) a otras especies (206).

Los géneros y especies de bacterias que no pertenecen al grupo denominado ESKAPE, descritos a continuación, están relacionados con ARG y el papel de los insectos como vectores de transmisión

El género *Proteus*, el más abundante en los adultos de *A. diaperinus* con una abundancia de 21.4%, siendo *P. mirabilis* la especie más destacada en este estudio. Este género pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos móviles, con flagelos peritricos, aerobios y anaerobios facultativos, se caracteriza por la producción de fenilamina desaminasa para desdoblar la urea (211). Un estudio acerca del exoesqueleto de *Blatella germanica* (cucaracha común) realizado en un centro hospitalario en Colombia arrojó un porcentaje de *Proteus mirabilis* de 4.7%, siendo parte de las infecciones asociadas a la atención en salud (212), además de presentar resistencia a diferentes antimicrobianos, reportada en clínicas de Madrid (España) desde el 2005, cuando ya se reportaba la presencia de BLEE (211). Por otro lado, se ha aislado de las glándulas salivales de la larva de la mosca *Lucilia sericata*; al parecer se relaciona con las señales de enjambre y ovoposición (213). En Egipto se aisló *P.*

mirabilis en aves de corral sanas, también en hisopados de materia fecal y órganos internos de aves migrantes de varios órdenes hallados muertas en África; datos que sugieren que la presencia de *Proteus* spp. en las aves no representa un riesgo real de diseminación, ya que parecen ser un miembro en la microflora normal de las aves, sin embargo, se debe tener en cuenta que en esta bacteria aislada de aves de corral se detectó el gen *tet(M)*, que codifica resistencia a la tetraciclina antibiótico de aplicación frecuente en veterinaria (214). *Proteus mirabilis*., sobresale como patógeno oportunista que produce diferentes tipos de infecciones en su mayoría del tracto urinario con varios factores de virulencia como adherencia por presencia de fimbrias, adhesinas afimbriales, motilidad de enjambre, actividad hemolítica, producción de ureasa para generar amoniaco, proteólisis y endotoxicidad, así mismo, puede causar infecciones respiratorias y de heridas, incluso bacteremia (215). Se han detectado genes mediados por plásmidos de B-lactamasas BLEE, siendo los más predominantes el grupo de enzimas CTX-M-1 CTXM-9 y tipo SHV, mientras que el AMPc más común fue el tipo CMY y DHA (216) (217).

El género *Kluyvera* spp. hallado con una abundancia de 1.4% es fenotípicamente similar a *E. coli*, incluye *K. ascorbata*, el agente más infeccioso de este género que produce enfermedades graves en animales y humanos, aislado por primera vez de la sangre del murciélago frugívoro egipcio en Corea (218). *Kluyvera cryocrescens* es una bacteria en forma de bastón, portadora del gen blaNDM-1 transportado por el plásmido incX3 mostrando resistencia a cefalosporinas y carbapenémicos, con resistencia a los B-lactámicos con los genes AMR (*bla* NDM-1, *bla* SHV- 12, *bla* CTX-M-3), quinolonas (*qnr1*) sulfonamidas (*sul1*) fosfomicina (*fosA*) y trimetoprim (*dfrA21*, *dfrA14*) li 2019 También, KLUG-1 y KLUY de *K. georgiana* parecen ser los progenitores de los subgrupos CTX-M-2 (219).

K. ascorbata denominada así por su producción de ácido ascórbico, ha sido relacionada con genes que codifican cefotaximasas grupos CTX-M-1 y CTX-M2, mientras que otras especies como *Kluyvera georgiana* han sido relacionadas con los grupos CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-

25. También se ha descrito la movilización de genes *bla* CTX-M de *K. ascorbata* y *K. greorgiana* a plásmidos (220), incluso, se ha aislado el gen de resistencia *mcr-1* de

resistencia a colistina en *Kuvyera ascorbata* (221)

Corynebacterium ha sido uno de los principales géneros encontrados en la microbiota de las camas de los pollos, seguido por *Enterococcus* que también se han encontrado de manera abundante en materia fecal de los pollos de galpón, y coinciden con las bacterias halladas en adultos de *A. diaperinus* en este estudio; al parecer la divergencia de hallar unas bacterias y otras no depende de la exposición de la microbiota a factores ambientales como el oxígeno, la temperatura y la humedad dentro del galpón de producción avícola, mientras que sí dependería del sustrato y del tipo de piso de la cama (171).

Pantoea dispersa, un cocobacilo Gram negativo, aunque prometía ser un antimicrobiano con propiedades de quelación de metales de suelo, resultó ser un microorganismo MDR oportunista, y en su ambiente natural son patógenos de plantas o insectos (222). Por otro lado, *P. stewartii* se ha detectado en el intestino medio y posterior de la pulga escarabajo *Chaetocnema pulicaria*, tiene un sistema T3SS de Hrp con diferentes funciones en su ciclo de vida para colonizar y persistir en el vector y las plantas, las bacterias permanecen en el tracto alimentario de los vectores e hibernasen el suelo para ser efectiva su transmisión (223). Contrario a las dos especies anteriores *P. eucrina* se aisló de un bote de basura en la universidad de Oklahoma, se discute las implicaciones de sus sistemas secretores y pilli para la patogénesis oportunista (224). Sin embargo se sabe que tiene utilidad en la oxidación de contaminantes orgánicos (225).

Morganella morganii, se considera un patógeno oportunista inusual que causa infecciones de tracto urinario y postoperatorias de heridas, presentando resistencia a múltiples antibióticos portando genes AMR como *blaNDM-1* y *qnrD1* (226). *M. morganii* GDMM86 se recuperó de un frotis fecal de un pollo sano en la provincia de Guangdong en China, detectando los genes *blaNDM-1* y *catA2*, resistente a ampicilina y fencoles (227). También con alto nivel de resistencia en *Leclercia adecarboxylata*, de origen animal, se halló que su genoma codificaba nueve genes de resistencia a antibióticos, de los cuales el gen *floR* es resistente a florfenicol (228). Por otro lado, se encontró que tiene la capacidad de remediación de sedimentos contaminados con plomo (229).

La bacteria *Erwinia candidatus dacicola*, se ha caracterizado como el principal

endosimbionte residente en las poblaciones silvestres de *Bactrocera oleae*, mosca de olivo que se transmite vía vertical materna, (230), mejorando la producción de huevos de la hembra con una dieta pobre en nitrógeno, siendo residentes transitorios ingeridos en la dieta (231).

Enterobacter spp., son patógenos nosocomiales y con frecuencia MDR, incluida la resistencia a los carbapénemicos que incluye cinco grandes familias carbapenemasas; KPC, NDM, OXA-48, VIM e IMP. Entre estos, *Enterobacter hormaechei*, que pertenece al complejo *enterobacter cloacae*, hasta el momento se detectaron gran número de ARG, como BLEE y carbapenemasas *bla* IMP-26 multirresistente y *bla* SHV-178, con el hallazgo del plásmido IncHI2/2A megaconjugativo (232).

Pluralibacter gergoviae son bacilos rectos anaeróbicos facultativos forma parte del microbioma intestinal se asocia con infecciones humanas y más comúnmente con deterioro cosmético por su adaptación a agentes conservantes (233) Se ha relacionado con la formación de biopelículas causando contaminación crónica de la superficie de los alimentos (234).

El bacilo ácido resistente *Mycobacterium avium* por su pared rica en lípidos, es un patógeno intracelular que puede sobrevivir a condiciones ambientales adversas, y se ha revelado que presenta resistencia a múltiples fármacos, albergando los genes *inh A*, *rpo B*, *rps L*, y *otr B* (235).

Serratia marcescens se encuentra en el ambiente, animales e insectos, muestra una virulencia baja, pero causa infecciones nosocomiales, especialmente en unidades neonatales. Muchos de los aislados clínicos portan determinantes genéticos codificados por plásmidos que confieren resistencia a una amplia variedad de antibióticos como BLEE o la metalo B-lactamasa (236).

Providencia stuartii y *P rettgeri* se aislaron de la orina de pacientes en Japón, resistentes a carbapénemicos albergando genes *bla* IMP-1 *bla* IMP-11 *bla* IMP-70, siendo patógenos potenciales para causar enfermedades graves como meningitis después de cirugía, y endocarditis (237).

Se ha investigado un aumento de aislamientos de *Shigella sonnei* resistente a ESBL que albergaba genes *bla* CTX-M—27 en Australia (238) Se ha reportado que los factores de virulencia duplica el sistema de secreción tipo2 en las cepas resistentes

(239) Por lo general estos aislamientos ESBL son del tipo CTXM y se ha investigado caracterizar los plásmidos MDR portadores *bla CTX-M* (240).

Lactococcus garviae Gram positivo, inmóvil, es un importante patógeno en peces, se ha aislado en rumiantes con mastitis subclínica y cerdos usados para ceba con neumonía (241). Se encontraron genes de resistencia *tet(S)* y *tet (M)* (242) En trucha arco Iris cultivada en Irán se reveló que los aislamientos contenían de uno a tres genes de resistencia a estreptomicina *StrA*, tetraciclina *tet(S)*, y eritromicina *ermB* (243).

Las bacterias del género *Myroides* son Gram negativas aeróbicas, inmóviles, no fermentadores comunes en fuentes ambientales, en especial ambientes acuático, y no hacen parte de la microflora humana normal. Se comportan como patógenos oportunistas de bajo grado causando infección del tracto urinario, endocarditis, ventriculitis e infecciones cutáneas en pacientes inmunodeprimidos. Producen compuestos tensoactivos en entornos biliares, como también biopelículas en entornos clínicos y alimentarios. *M. adoratimimus* ha sido asociada a casos de infecciones urinarias y celulitis por bacteremia.

La experiencia clínica ha sido limitada con esta bacteria (244). Se han identificado múltiples ARG; a la tetraciclina (*tetX*), macrólidos (*ereB*), lincosamidas (*lasE*) sulfonamidas (*sul2 sul3*), B-lactamasa (*bla TUS-1* , *bla SFB-1* , *bla SLB-1* , *bla OXA-209* , *bla OXA-347*) y cloranfenicol (*cat*) (245).

Lactococcus petauri es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo aislado de un absceso facial de un petauro de azúcar (246), y de un intestino de humano sano. El análisis de la isla genómica reveló que contiene fragmentos de genes bacteriostáticos y de resistencia a los antibióticos (247).

Peptoclostridium se identificó en la microbiota fecal de leopardo de norte de China (248).

Incluye

Peptoclostridium difficile, bacteria formadora de esporas, se caracteriza por ser Gram positiva,

anaeróbica y móvil patógeno nosocomial causante de diarrea asociada a antibióticos y colitis pseudomembranosa potencialmente mortal, siendo un posible agente zoonótico; y en esta bacteria se detectaron genes responsables de resistencia a la tetraciclina (*tetM*) y la eritromicina (*ermG*) (249).

Leclercia adecarboxylata es una bacteria móvil Gram negativa, se aisló de muestras ambientales en agua y suelo, y es una bacteria oportunista resistente a la mayoría de betalactámicos, codificando betalactamasas tipo SHV, también albergando ARG *bla*TEM-1, *bla*CTX- M-3 (250).

En este estudio no se identificó el género *Campylobacter*, sin embargo, se considera un microorganismo comensal en aves de corral, aunque les puede causar inflamación crónica del intestino y diarrea (251); se adapta fácilmente a lo largo de la producción avícola, documentado en 2019 como el principal patógeno transmitido por alimentos, asociado al consumo de alimentos de origen animal en todo el mundo. Puede permanecer viable en pollo fresco, y causar gastroenteritis humana (23). Se ha descubierto que organismos como moscas son una ruta de transmisión horizontal a las instalaciones avícolas, y se ha sugerido que adultos y larvas de *Alphitobius diaperinus* podrían ser portadores importantes de *Campylobacter jejuni*, incluso contaminando a las parvadas de los sucesivos ciclos de cría (22).

Los escarabajos mantienen estas bacterias activas en su intestino hasta por 3 días, por lo tanto, pueden ser vectores biológicos al adquirir las bacterias por contacto físico o por consumir heces de las aves de corral, estas bacterias son viables durante 12 horas después de la ingestión, y externamente por 72 horas. Los estudios de campo han demostrado que *Campylobacter* no puede detectarse durante un periodo de una a dos semanas entre parvadas de pollo de engorde

(22) (252). Aunque se ha estudiado si *A. diaperinus* tiene la posibilidad de diseminar la bacteria en las instalaciones avícolas, la detección interna de *Campylobacter* disminuye rápidamente en adultos, no siendo detectable después de 12 horas de su ingestión, lo que haría de *A. diaperinus* un vector menos competente, aunque en este estudio no hay reporte de su abundancia (22).

Con base en la revisión sobre las bacterias potencialmente patógenas identificadas en

este estudio se identificó la posible presencia de genes de resistencia y métodos de transferencia, y se determinó que muchas de ellas poseen resistencia a múltiples fármacos, además de que portan determinantes genéticos codificados por plásmidos que confieren resistencia a una amplia variedad de antibióticos, lo cual sugiere la necesidad de una mayor vigilancia respecto a la presencia de ellas en la producción avícola. (Anexo 2 y 3).

El resultado de la abundancia y diversidad de las especies que conforman el microbioma de *Alphitobus diaperinus* con potencial biotecnológico y con riesgo de patogenicidad se resume en la figura 16.

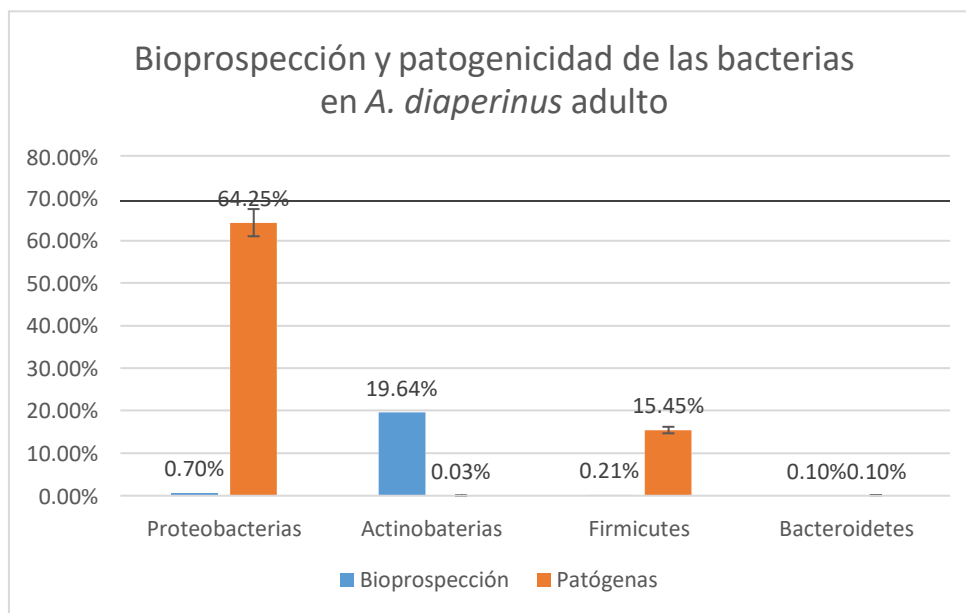


Figura 16. Representación del porcentaje de especies con potencial biotecnológico, y potencial de riesgo de patogenicidad.

Se observa que el filo de actinobacterias, aunque no es el de mayor en abundancia, representa el grupo de especies con mayor potencial biotecnológico y de bioprospección, a diferencia de los demás filios como son la Proteobacterias y Firmicutes con mayor porcentaje de abundancia y diversidad, tienen poca aplicación biotecnológica, pero mayor riesgo de patogenicidad, lo cual demuestra que *Alphitobius diaperinus*, puede ser un vector de enfermedades en avicultura. Por otro lado, el filo de los Bacteroidetes mostró un porcentaje menor de abundancia, aunque se ha reportado

que cepas Bacteroidetes pueden ser utilizadas como probiótico en conejos (327) y se ha relacionado con la microbiota de un individuo sano junto a los Firmicutes (328).

5.5 Hongos identificados en adultos de *A. diaperinus*

En comparación con las bacterias, la abundancia y diversidad de hongos halladas en adultos de *A. diaperinus* fue menor, presentando un porcentaje de abundancia del 79.5% para el filo Ascomycota (*Aspergillus persii*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sclerotiorum*, *Hyphopichia*, *Trichomonascus* sp.) y de 20.5% en el filo Mucoromycota (*Lichtheimia* sp.).

5.5.1 Ascomycota

Dentro de los hongos, Ascomycota es el filo más diverso y rico, comprende 110.000 especies conocidas, se encuentra en diferentes ecosistemas algunos en condiciones ambientales extremas, se ha informado de un gran número en desiertos y zonas de la Antártida, en sitios muy alcalinos, en drenajes de minas con ácido sulfúrico, incluso en áreas volcánicas (253). Este filo posee una estructura en forma de saco (ascus) en la que se producen esporas meióticas (ascosporas). Aunque una gran cantidad de especies presenta solo la fase de levadura unicelular. Los ascomicetos son morfológicamente diversos, incluyen levaduras unicelulares, hongos filamentosos y hongos de copa más complejos (254).

Muchas especies de ascomicetos tienen características morfológicas como son ascas evanescentes y ascosporas que se descargan pasivamente para ser dispersadas por los artrópodos (255). Las levaduras asociadas con insectos incluyen Ascomycota y algunas Basidiomycota. Los escarabajos y las moscas son asociados importantes de los hongos (256); los insectos se benefician del metabolismo de los hongos para obtener carbono, nitrógeno y otros metabolitos, también les sirve para acondicionamiento de su hábitat, incluso los ayuda en la desintoxicación de compuestos

dañinos. Los insectos no pueden producir esteroides, y vitaminas esenciales, son los hongos quienes pueden proporcionárselos, de igual forma atraen a los insectos con los compuestos fúngicos volátiles, y estos son transportados por los insectos a un hábitat adecuado; también se ha observado que algunas levaduras se reproducen dentro del intestino del insecto (256). Los escarabajos que consumen esporas pueden desarrollar modificaciones del maxilar denominadas micangios, una estructura colectora alargada con poros para la obtención de estas; de forma que los hongos son agentes poco infecciosos en los escarabajos (257) (258).

Un estudio realizado en *A. diaperinus* sobre su dinámica microbiana durante el ciclo de producción industrial de las larvas, vendidos para el consumo humano, reveló que la diversidad bacteriana fue menor en la fase larvaria; se determinó que los microorganismos presentes en el pienso con el que se alimentaron, también, estaban presentes en las larvas y viceversa, concluyendo que el alimento es un determinante importante en la comunidad bacteriana de insectos, adicionalmente, en este estudio se recuperaron hongo de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* (185). Sin embargo, se ha investigado la acumulación potencial de micotoxinas en larvas de *A. diaperinus*, alimentadas con piensos con micotoxinas, determinando que no se acumulan en las larvas al ser metabolizadas y no son excretadas (259).

El género *Aspergillus* se encontró con una abundancia del 69,9%, siendo el más representativo, ya que *Hypophycia* presentó una del 5.2%, *Trichomonascus ciferri* una del 4%, y *Litchemia ramosa* una del 20.4%.

Aspergillus es un hongo filamentoso, se utiliza para la fermentación de alimentos y la producción a gran escala de enzimas, ácidos orgánicos y compuestos activos, se utiliza para la producción de ácido cítrico (260). Se conoce que este hongo se encuentra de manera saprófita, pero puede causar infección respiratoria. En la industria avícola la cama de cascarilla de arroz en condiciones húmedas junto con desechos orgánicos, proporciona las condiciones para el desarrollo de hongos patógenos como *A. flavus* y *A. fumigatus*, que pueden causar micotoxicosis debido a la liberación de aflatoxinas (261) (tabla 12).

Tabla 12. Características generales de *Aspergillus* sp.

<i>Aspergillus</i>	Características	Referencia
Morfología	Filamentoso hialino, formado por hifas hialinas, septadas Textura, aterciopelada, granular, algodonosa.	
Reproducción	Sexual (Con formación de ascosporas) y asexual (formación de conidios)	(262)
Temperatura	Termotolerante , vive entre 12°C y 57°C, las esporas sobreviven hasta 70°C	
Metabolismo	Principal productor de micotoxinas como mecanismo de defensa contra otros microorganismos; participa en el proceso de degradación de materia orgánica	

En este estudio se encontraron *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus perssi*, *Aspergillus sclerotiorum*, con unas abundancias de 8.7%, 43.6%, y 17.6%, respectivamente.

Aspergillus oryzae produce la micotoxina citrinina, que puede tener efecto nefrotóxico (262). Es una especie importante en las industrias tradicionales de fermentación y procesamiento de alimentos, tiene la capacidad de secretar enzimas hidrolíticas (263), Los micelios tienen un alto poder de degradar formaldehído (264) y se ha utilizado en la producción de L-malato como conservante alimentario y compuesto aromatizante (265). A nivel industrial produce el metabolito de ácido Kójico (266), y tiene la acción potencial de degradar plástico biodegradable a través de la cutinasa responsable de la acción degradadora del plástico (267); produce daidzeina, una isoflavona de soja con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (268). Se ha descrito su efectividad en el biocontrol de *Dermanynsus gallinae*, un ácaro hematófago encontrado en aves de corral (269).

Un ensayo del efecto de harina de soja fermentada con *Aspergillus oryzae*, demostró que los pollos de engorde tuvieron una mayor tasa de conversión, debido a que las aves no producen enzimas como celulasa y xilanasas, necesarias para la digestión de polisacáridos no solubles, además de inhibir la tripsina contenida en la soja (270).

Hay escasos reportes de *Aspergillus persii*, estudios han revelado una fuerte actividad antibacteriana con ácido penicílico como compuesto activo especialmente contra varias bacterias patógenas de plantas especialmente *Xanthomonas arboricola* pv. pruni, lo que sugiere que el ácido penicílico se puede utilizar para el desarrollo de agroquímicos sintéticos para controlar enfermedades bacterianas de las plantas; actúa como inhibidor de detección de quórum, no puede usarse como agente de control biológico

directamente por su fitotoxicidad. Sin embargo, puede ser una molécula líder en el desarrollo de nuevos antibióticos para el control de enfermedades bacterianas en plantas (271); una identificación de este agente correspondió a la descripción clínica de onicomycosis (272).

Aspergillus sclerotiorum de origen marino, tiene un buen potencial como cepa alternativa para producir lovastatina a partir del sustrato de lodo de soja, suplementado con aceite de palma como fuente de carbono (273). También se identificaron alcaloides secundarios con la capacidad de inhibir selectivamente el crecimiento de *Candida albicans* (274). De manera importante, se ha reportado el aislamiento de ácido penicílico con actividad *in vitro* contra especies patógenas vegetales del género *Phytophthora* spp. (275).

Hyphopichia es un tipo de levadura micelial, implicada en el deterioro de alimentos al producir estireno que genera sabores desagradables en la fermentación de productos horneados con alto contenido de azúcar. Este hongo ha sido aislado de excremento de insectos en Sudáfrica, Hungría y Francia (276). Se ha asociado con escarabajos ambrosia y termitas que usan los hongos para alimentar a sus larvas (277) (278). Se ha aislado *Hypopichia paragoi* del intestino de larvas de escarabajos no identificados de muestras de madera descompuesta de alcornoque en China, aunque la función de levaduras asociadas a los insectos no son claras, se presume que desempeñan funciones de desintoxicación de los materiales que consumen y sirven como suministro de nutrientes esenciales (279). En cuanto a su aplicación biotecnológica, se describió su elevada acción de α -amilasa y glucoamilasa con la capacidad de producir bioetanol a partir de almidón (280).

Cabe tener en cuenta que las enzimas fúngicas se comercializan por su potencial biotecnológico en varios campos industriales, sin embargo, el alto costo de producción de estas y su baja eficiencia limitan su aplicación, por eso se exige que sean más estables, activas y económicas (281).

A continuación, se describen las características principales de *Trichomonascus* sp. en la tabla 13.

Tabla 13. Características principales de *Trichomonascus* sp.

<i>Trichomonascus</i>	Características	Referencia
Morfología	Hifas producen cadenas cortas de blastoconidios que se forman simpodialmente. Las hifas pueden proliferar por ramificación simple o producir blastoconidios. Las hifas verdaderas suelen tener tabiques rectos y refractivos	
Reproducción	asexual (gemación multilateral) y formación de pseudohifas e hifas verdaderas. Heterotálica u homotálica	(282)
Temperatura	2°C a 8°C	
Metabolismo	Utiliza citrato	

Trichomonascus ha sido un género recuperado entre los de mayor frecuencia en hormigas que cultivan hongos y ayudan a la detoxificación ambiental (283); es un grupo taxonómicamente único, *T.ciferri* (sin. *Candida rugosa*), considerada como levadura ascomicota muy rara, patógena y oportunista con una incidencia menor a 1%, presenta niveles elevados de concentración mínima inhibitoria para azoles, equinocandinas (284), y fluconazol, por lo cual se asocia al fracaso clínico (285).

5.5.2 Mucoromycota

Recién formalizado, este grupo estaba antes dentro de Zygomycota, la reproducción sexual se realiza por medio de zigosporas prototípicas y la asexual con la producción de esporangios; han sido aislados de suelo, estiércol y plantas ricas en azúcares (286), y se han reportado asociadas a plantas por relaciones endofíticas (287).

A continuación, se describen las características principales de *Lichtheimia* sp. (tabla 14)

Tabla 14. Características principales de Mucoromycota sp.

<i>Lichtheimia</i>	Características	Referencia
Morfología	Hifas anchas irregulares no septadas, y fragmentadas, los esporangióforos ramificados circinados, de forma hialina y piriforme	(288)
Reproducción	Sexual (Con formación de zigosporas) y asexual (formación de esporangios)	
Temperatura	Crecimiento óptimo 30°C a 37°C	(289)
Metabolismo	Productor de xilanasa y carboximetilcelulosa y productor de B-glucosidasa.	

Lichtheimia antes conocido (como *Absidia*) (sin. *Mycocladius*, *Absidia pro parte*) es un género de hongos mucoromicetos saprófitos, habitan en el suelo o material vegetal muerto (290). Es un hongo filamentoso inferior que pertenece al orden Mucorales, produce mucormicosis, infecciones de seis formas: rinocerebral, pulmonar, cutánea, gastrointestinal, diseminadas y presentaciones infrecuentes, siendo uno de los géneros más aislados de muestras clínicas en Europa y Estados Unidos (291) (292) (293). El género *Litcheimia* está conformado por *L. corymbifera*, *L. ornata*, *L. ramosa*, *L. hyalospora* y *L. sphareocystis*. Las tres primeras especies tienen importancia clínica (294); *L. corymbifera* se ha aislado de feto y placenta de bovino abortado, esto posiblemente ocasionado por el consumo de heno en condiciones que promueve el crecimiento ambiental de hongos (295). También ha producido infección pulmonar en pollos (296). *Lichtheimia ramosa* cuya forma de espora es globosa elipsoidal, crece con velocidad en todas las temperaturas, se presenta como un agente infeccioso primario en lesiones por quemadura, y puede causar infecciones fulminantes en pacientes con inmunidad deteriorada (288).

De manera similar a *Aspergillus*, *Lichtheimia* produce xilanasa, que podría ser utilizado para la digestión de polisacáridos no solubles (270), fermentación en estado sólido, hidrolización de la pared celular, clarificación de jugos y vinos, extracción de aromas y pigmentos y el blanqueo de pulpa, se estima que sus enzimas pueden tener aplicaciones biotecnológicas (297) (289).

La especie de *Lichtheimia* representa un contaminante importante del material agrícola como heno y paja (298).

Según la descripción de los hongos, el género *Aspergillus* es potencialmente productor de micotoxinas como afltoxinas y ocratoxinas, relevantes, ya que representan un riesgo

en la salud humana, al afectar la inocuidad alimentaria y, la mala calidad de los granos puede afectar la economía de un país o región. Las aflatoxinas en las aves de producción, se acumulan en hígado disminuyendo la capacidad de transformación de alimento en carne y las ocratoxinas afectan más especies como perro, cerdo y pollo; causando una atrofia tubular y fibrosis peritubular y se postula como carcinógeno en humanos (299).

La presencia de estos hongos en el adulto de *A diaperinus* puede atribuirse a que a través de su metabolismo el escarabajo pueda obtener carbono, nitrógeno y otros metabolitos, también le sirve para acondicionamiento de su hábitat, incluso lo ayuda en la desintoxicación de compuestos dañinos.

5.6 Virus

Se han realizado muchos estudios sobre la presencia de virus en insectos y su relación en la salud pública, pero son pocas las investigaciones de estos microorganismos en insectos comestibles, los virus están intrínsecamente asociados con el metabolismo, la supervivencia y el comportamiento del insecto haciendo parte de su microbioma normal

- **ECB2 virus de Escherichia (*Kuravirus*)**

Kuravirus (anteriormente denominado PhiEco32virus) (300) es un género de virus perteneciente a la familia *Podoviridae*, cuyo genoma es lineal de dsADN, que se encuentra generalmente creciendo en enterobacterias Gram negativas, incluyendo la *Escherichia coli* (301). Se estima que los bacteriófagos son las entidades biológicas más abundantes en la Tierra, lo que los convierte en actores de diferentes procesos ecológicos como los ciclos biogeoquímicos, desarrollando un papel importante en la biología molecular moderna. Es posible que el fago ECB2 virus de *Escherichia coli* recuperado en la muestra de *Alphitobius diaperinus* AD1, no haya sido reportado por ICTV Comité Internacional de Taxonomía de virus (por sus siglas en inglés), ya que solo clasifica los fagos que muestran >95% de identidad de secuencia de ADN, entonces parece ser que es huérfano genómico de las bases de datos. El hallazgo de

este fago podría ofrecer una posibilidad de terapia con fagos para tratar infecciones por *E. coli*, ya que su aislamiento en una zona donde permanecen aves de producción, y donde existe la evidencia de la presencia de *E. coli* con una prevalencia media, podría ser una solución alternativa para tratar uno de los principales agentes causantes de la colibacilosis en pollos de engorde, ya que es una de las bacterias productoras de BLEE (302). Actualmente los bacteriófagos líticos se han utilizado como agentes naturales para matar patógenos, y son potencialmente aplicables en acuicultura con la administración intramuscular de fagos *Miyoviridae*, constituyendo una acción prometedora para el tratamiento de enfermedades bacterianas (303).

5.7 Relación con otros estudios

En este trabajo se han detectado bacterias que coinciden con las reportadas en estudios de muestras de instalaciones avícolas, como es el caso del análisis a través de la secuenciación genómica de muestras de los desechos del polvo generado durante la producción de los pollos de engorde; en común se han encontrado las bacterias *Staphylococcus lentus*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Brevibacterium* sp, y *Brachybacterium* sp. sugiriendo que la variación en los resultados corresponde a la diversidad en cada ecosistema microbiano (304). Anteriores trabajos se basaron en análisis de cultivos, reportando bacterias mencionadas en este estudio, como lo muestra la tabla 15.

Tabla 15. Bacterias en instalaciones avícolas que son comunes a las halladas en adultos de *A. diaperinus*.

Bacterias aisladas de aerosoles en instalaciones avícolas	Referencias
<i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>S. lentus</i> <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> <i>Brevibacterium sp.</i> y <i>Brachybacterium spp</i>	(305)
<i>Escherichia</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i>	(306)
<i>Staphylococcus</i> , <i>Brachybacterium</i> <i>Enterococcus</i> , <i>Erwinia</i> <i>Klebsiella</i> , <i>Streptomyces</i> <i>Lactococcus</i> , <i>Pedobacter</i> <i>Pantoea</i> <i>Klebsiella</i> , <i>Pseudomona</i>	(307)
<i>Staphylococcus lentus</i> , <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> , <i>Brevibacterium sp.</i> y <i>Brachybacterium</i>	(304)
<i>Escherichia</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Aspergillus</i>	(308)

El material particulado liberado en los procesos de producción avícola ha tenido impacto negativo en la salud de los trabajadores y animales, encontrándose principalmente en el análisis microbiológico bacterias patógenas como *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, y hongos nocivos como *Aspergillus*. Se ha determinado que el carbono orgánico (OC), el carbono elemental (EC), Na⁺, K⁺ y NH₄⁺ pueden tener fuertes correlaciones con *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* y *Escherichia*. Se ha señalado que el

alimento, las heces y el tipo de cama contribuyen al aumento en la concentración de material particulado (306).

En relación a otro tipo de vectores en las instalaciones avícolas, investigaciones recientes detectaron las bacterias *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* en la superficie de arañas que habitan en estos lugares (309). La Fauna peridoméstica que incluye musarañas, ratas, cucarachas y aves también se han señalado como portadoras de *Salmonella*, incluso cucarachas infectadas en un 25% (310).

Las moscas que habitan en las áreas de producción intensiva de pollos de engorde pueden ser vectores de bacterias ARG, encontrando que la resistencia a los antibióticos corresponde a los usados no solo en producción avícola, sino que son usados en la medicina humana (tabla 16) (311).

Tabla 14. Bacterias con ARG aisladas en moscas domésticas de instalaciones avícolas que coinciden con las halladas en *A. diaperinus*

Reporte de bacterias en artrópodos que habitan galpones	Bacterias aisladas	Número de bacterias aisladas	Genes de resistencia	Referencia
Mosca doméstica	<i>S. xylosum</i> , <i>S. epidermidis</i>	29 <i>Staphylococcus</i>	<i>erm(A) erm(B)</i> <i>msr(A/B)</i>	(311)
	<i>E. faecalis</i>	36 <i>Enterococcus</i>	<i>erm(B)</i>	
	<i>E. faecium</i>		<i>erm(A) erm(B)</i> , <i>vat(E), msr(C)</i>	

Adicionalmente, se hizo una revisión de artículos relacionados con los ARG presentes en artrópodos y se seleccionaron los ARG con mayor prevalencia hasta el momento (tabla 15).

Tabla 15. ARG más frecuentes en artrópodos.

Genes AMR en artrópodos	Hallazgo de genes	Bacteria	Referencia
<i>tet(A)</i>	Mosca doméstica	<i>Salmonella spp</i>	(28)
<i>tet(B)</i>	Mosca doméstica		

<i>mcr-1</i>	Mosca doméstica	<i>E. coli</i>	(312)
<i>tet(B)</i>	Abeja	<i>Lactobacillus casei/ paracasei ILC2279</i>	(313)
<i>tet(C)</i>			
<i>tet(W)</i>	Abeja		
<i>tet(M)</i> Protección Ribosómica, gen RP	<i>Tenebrio molitor</i>		(5)
<i>tet (K) efflux gene</i>	<i>Tenebrio molitor</i> o gusano de harina, grillo, langosta, hormiga, escarabajo rinoceronte	<i>Staphylococcus aureus</i> COL. a	
<i>tet(S)</i>	gusano de harina grillo		
<i>blaz</i>	Hormigas termita <i>Hyboschema contractum</i> (escarabajo)		

Los genes *tet* (de resistencia a tetraciclina) son los de mayor presencia en artrópodos, predominando en *Tenebrio molitor*, especie de coleóptero cercana a *A. diaperinus*, y en el cual se han reportado los genes *tet(M)* y *tet(K)* (313) (5). El análisis de los contenidos intestinales de pollos de engorde en Egipto reveló que el gen *tet(W)* se expresaba en todas las muestras intestinales, mientras que el gen *tet(M)* se detectó en un 17%. Es posible que los excrementos de la cama de las aves de corral que contienen residuos de tetraciclina, y determinantes de resistencia de los genes *tet*, sean transferidos cuando la cama es descartada del galón y utilizada como abono en suelos de cultivo, y así podrían ser fuente de AMR y afectar humanos, animales y el medio ambiente (314). Los escarabajos *Tenebrio molitor* y *A. diaperinus* han sido aceptados como una fuente importante de proteína y otros nutrientes (315), para lo cual se pretende utilizar subproductos de cereales en la alimentación de la cría de *A. diaperinus* (316) con la intención de evitar el posible riesgo debido a la presencia de los ARG encontrados en los artrópodos.

Un estudio realizado en Colombia, en la zona de Fusa, demostró que las bacterias *Salmonella entérica* y *Escherichia coli* de la familia *Enterobacteracea* predominan en *A. diaperinus*, sin importar el tipo de piso de la instalación avícola usado en la producción, tanto cemento como tierra (317).

Haciendo una relación del microbioma de adultos de *A. diaperinus* con los hallazgos de Galindo (317), se observó que la comunidad microbiana asociada a los *A. diaperinus* es mucho más diversa en cama con piso de tierra que la presente en cama de piso de cemento como la del actual estudio. Adicionalmente, se observó que en las formas larvarias las bacterias de la familia *Enterobacteracea* estaba en mayor abundancia que en adultos de *A. diaperinus* según los dos estudios, similar a lo planteado por (318), quien hizo una correlación de especies bacterianas en los artrópodos *A. diaperinus* y el sustrato de la cama, siendo las enterobacterias las más predominantes en ambos.

En este estudio las enterobacterias, *Klebsiella aerogenes*, tuvo la mayor una abundancia con un 15.8%, mientras en el estudio de Galindo, *Salmonella enterica* fue la de mayor abundancia con 81315 lecturas en larva, y *Pragia fontium* con 234481 lecturas en adultos, según su presentación de resultados, donde la cama también correspondía a un sustrato de cascarilla de arroz con piso en cemento. En el estudio de Galindo, *Lactococcus garvieae* presentó gran abundancia tanto en larvas como adultos (317), a diferencia de lo hallado en los adultos de *A. diaperinus* con una abundancia del 0,2% de este estudio, siendo este un microorganismo señalado como patógeno reportado en peces (243), hallazgo que podría estar relacionado con la presencia de harina de pescado en el concentrado con el que se alimentan los pollos de engorde. También se encontraron varias especies del género *Brevibacterium* en ambos estudios, las cuales han sido encontradas en el sustrato de las camas y en patas de pollos en granjas avícolas (319); adicionalmente, en este estudio se identificó *B. aurianticum*, la cual se ha utilizado en la industria alimenticia para producir pigmentación naranja, además de degradar la metionina para inhibir patógenos alimentarios, sin embargo, esta especie no ha sido reportada en avicultura.

Se encontró a *Salmonella enterica* y, aunque en muy baja abundancia, se ha demostrado que la larva de *Alphitobius diaperinus* actúa como vector de ésta (320). En

un estudio la transmisión de *Salmonella* a los Pollos de engorde fue mayor por larvas contaminadas que por adultos de

A. diaperinus, siendo mayor la prevalencia en la tercera semana de edad de los pollos (26). Se ha demostrado que los insectos son otra forma de persistencia de *Salmonella* en las granjas, donde las moscas representan un 15% y *A. diaperinus* 9,5%, determinando tres veces más abundancia de *Salmonella* en el intestino de la mosca que en su superficie, aunque no se había reportado la abundancia de *Salmonella* en el intestino de adultos de *A. diaperinus*, en este estudio la abundancia de *Salmonella* fue de 0,32% en el interior del artrópodo, un valor muy bajo en comparación con lo descrito para otros insectos.

En Brasil se aislaron las bacterias *Providencia rettgeri*, *Echerichia coli* y *Proteus mirabilis* de los ciegos de aves de corral (161), coincidiendo con las bacterias halladas en *A. diaperinus* en este estudio, destacándose la abundancia de *Proteus mirabilis* y *Escherichia coli*, coincidiendo con lo descrito por otras investigaciones (321) (322), abundancia que podría estar relacionada con la capacidad de estas bacterias de degradar la urea a partir de la enzima fenilamina deaminasa(323).

Otra similitud planteada (17), demostró que no se halló en adultos de *A. diaperinus*, debido a que las larvas infectadas son más eficientes que los insectos adultos en la transmisión de *Salmonella enteritidis* a polluelos debido a la ingestión de estas. Sin embargo, se ha sugerido que la forma adulta de *A. diaperinus* presenta el riesgo de portar y propagar *Salmonella* dentro de los ambientes de las aves de corral, como también que puede transmitirla a las aves si estas las consumen, para luego diseminarlas en el estiércol (184), y se ha mencionado que *A. diaperinus* representa un reservorio residual de dispersión de patógenos como *Salmonella enterica* a través de sus heces y a lo largo de todo su ciclo de vida (27), determinando que cualquier escarabajo que porte *Salmonella* en su intestino sirve como reservorio bacteriano. Al parecer no se ha concretado el hecho de que *Alphitobius* adulto sea vector de *Salmonella*, en lo que sí coinciden los autores es que esta bacteria hace parte de un ciclo en las instalaciones avícolas, dentro del ambiente, en la cama que contiene un

sustrato donde permanecen heces de las aves, en los ciegos de los pollos destinados para producción y los artrópodos en su forma larvaria o adulta. El momento de la toma de la muestra parece indicar la abundancia de la bacteria, la ventaja competitiva en el intestino de la larva para ser dominantes (185). Se conoce que las larvas de *A. diaperinus* excretan *Salmonella* durante 6 a 12 días luego de su exposición a ser contaminadas (solo 2 horas) con esta bacteria, resultó que solo hasta el 10% de las larvas arrojaron *Salmonella* entre el día 9 y 12, esto indicó que las variables que facilitaban esta contaminación fueron el sustrato, la densidad larvaria o la etapa larvaria en la que ocurre el evento de contaminación, y de que las larvas más jóvenes pueden provocar una menor resistencia a la colonización por microorganismos extraños (324). De acuerdo con lo mencionado, las enfermedades transmitidas por vectores, como son los insectos, tienen un impacto potencial en salud pública y animal, la economía y el medio ambiente. De forma que la diversidad del microbioma descrita en adultos de *A. diaperinus*, en abundancia de bacterias potencialmente patógenas, representa un riesgo en la diseminación de genes con AMR (325). Es importante destacar en este estudio a *Klebsiella* sp., una enterobacteria, que ocupó el segundo lugar en mayor abundancia, y se ha descrito que tiene una alta capacidad de diseminación clonal albergando diferentes plásmidos con varios genes AMR, lo cual pone en alerta para mejorar el control de vigilancia de enfermedades transmitidas por vectores. Aunque *Salmonella enterica* tuvo poca abundancia en este estudio y que se ha reportado que su transmisión es más efectiva en la forma larvaria de *A. diaperinus*, se considera de importancia, ya que se le conoce como una bacteria causante de zoonosis transmitida por alimentos en el mundo con un patrón XRD, resistente a uno o más agentes de todas las categorías de antimicrobianos (326).

6 Recomendaciones para futuros estudios

Este estudio abre la posibilidad de ver las instalaciones avícolas como un ecosistema donde se puede analizar la diversidad de los microorganismos en relación con la bioprospección para darle utilidad a las larvas y adultos de *A. diaperinus*, como también puede ofrecer una guía a los avicultores para mejorar las condiciones ambientales y sanitarias, con la posibilidad de una mayor producción y confort de las aves.

Aunque los Bacteroidetes tuvieron una menor representación en este estudio, es importante reconocer que pueden tener una aplicación como probióticos.

De igual forma, es necesario relacionar las fases de producción de las aves de corral con la ecología de los artrópodos, principalmente la de *A. diaperinus* en su forma larvaria y de adulto. Además de determinar los diferentes tipos de artrópodos que pueden ser posibles vectores de enfermedad en las instalaciones avícolas, y los genes de resistencia asociados a los antibióticos que se manejan en la producción avícola.

También es importante establecer la diferencia entre la microbiota externa y la interna de *A. diaperinus* adultos y sus fases larvarias, para precisar a *A. diaperinus* como vector mecánico. Por último, se recomienda la posibilidad de abrir un espacio para el estudio de los bacteriófagos y su aplicación biotecnológica, ya que no hay registro de ello en *A. diaperinus* en la literatura.

Se recomienda que al realizar un estudio de microbioma basado en 16S y secuenciación metagenómica de escopeta, se realice la inclusión de una comunidad simulada (Comunidades comerciales) con un estudio de evaluación multicéntrico para detectar problemas que ocurren en algunos taxones y validar el agrupamiento.

Los resultados del presente estudio recomiendan algunas de las bacterias recuperadas de *Alphitobius diaperinus* como una fuente potencial para aplicaciones de la industria química, textil, alimentaria, farmacéutica, útiles en medicina para modificar estructuras

de medicamentos de uso racional, incluso en el sector agrícola en la biorremediación de suelos y mejora de cultivos; siendo las actinobacterias las de mayor predominio, entre las que se destaca *Nocardioopsis* sp. representado un mayor recurso para la industria, ya que este género se considera ecológicamente versátil y biotecnológicamente muy importante.

7 Conclusiones

- El análisis del microbioma de adultos de *A. diaperinus* mediante secuenciación *shotgun* determinó la presencia del filo Proteobacteria con una abundancia del 64.95%, el filo Actinobacteria con 19.60%, el filo Firmicutes con 15.66% y el filo Bacteroidetes con 0.20%.
- Dentro del filo Proteobacteria, se encontró solamente representación de bacterias de la clase Gammaproteobacteria, y dentro de ésta, la especie *Proteus mirabilis*, que presentó el mayor porcentaje de abundancia con 20.8%, seguido de *Klebsiella aerogenes* con 15% y, en una menor proporción, *Escherichia coli* con 6.6%, *Salmonella enterica* con 0.3%, contrario a lo que podría esperarse de estas dos últimas.
- El filo Actinobacteria, estuvo representado por *Brevibacterium linens* con 3.2%, *Glutamicibacter creatinolyticus* con 2.2%, *Brevibacterium epidermidis* con 1.8% y *Brachybacterium EE-P12* con 1.7%. En su mayoría, la aplicación de estas bacterias tiene proyección para su uso biotecnológico.
- El filo Firmicutes, representado por bacterias potencialmente patógenas, tuvo una gran abundancia en *Staphylococcus xylosus* con 4%, seguido de *Staphylococcus lentus* 3.9% y *Staphylococcus gallinarum* con 3.2%.
- Este trabajo permitió un acercamiento para conocer los ARG que pueden existir en *A. diaperinus* como vector, y su implicación en la avicultura y la salud pública.
- La abundancia de enterobacterias como *Salmonella*, *E. coli* y *Klebsiella*; pertenecientes al filo de Proteobacterias, y *Enterococcus* y *Staphylococcus* del filo Firmicutes evidencia la posible presencia de ARG en *A. diaperinus*.
- El porcentaje del filo Bacteroidetes fue muy bajo, se encontró representado tan solo por los géneros *Myroides* con 0.1% y *Pedobacter* con 0.1%.

- En comparación con las bacterias, la abundancia y diversidad de hongos en adultos de *A. diaperinus* fue menor, presentando entre ellos un porcentaje de abundancia del 79.5% para el filo Ascomycota y de 20.5% en el filo Mucoromycota. Estos hongos, participan en el metabolismo para obtener carbono, nitrógeno y otros metabolitos, también les sirve para acondicionamiento de su hábitat, incluso los ayuda en la desintoxicación de compuestos nocivos.
- De las bacterias identificadas, las actinobacterias representan un potencial biotecnológico, en contraste con las proteobacterias que poseen mayor diversidad y poco potencial de bioprospección.
- Los compuestos bioactivos de los hongos, especialmente de *Aspergillus persii*, que presentó mayor abundancia, pueden proporcionar un recurso importante en bioprospección.
- El hallazgo del virus *Kuravirus*, un bacteriófago para *E. coli* es el primero reportado en *A. diaperinus*, y se sugiere un estudio más profundo para su aplicabilidad biotecnológica.
- *Alphitobius diaperinus* tiene la capacidad de ser un vector, por portar bacterias patógenas con posibles genes de resistencia de importancia clínica.

8 Referencias

1. Moreno Gonzalo (FENAVI). avicultores 2019 cuales seran las perspectivas para la avicultura.avicultores. 2019;268.
2. Moreno Gonzalo (FENAVI). 2021, un año de grandes retos. Avicultores [Internet]. 2021;286:52.Disponible en: <https://fenavi.org/wp-content/uploads/2019/09/revista-274.pdf>
3. Cecco C, Franceschi D. Determination of growth stages of *Alphitobius diaperinus* in broiler chickens farm Resumen Resumen Resumen Resumen. Rev Argentina Prod Anim. 2005;25:93-9.
4. Nhung NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ. Antimicrobial resistance in bacterial poultrypathogens: A review. Front Vet Sci. 2017;4(AUG):1-17.
5. Osimani A, Milanović V, Cardinali F, Garofalo C, Clementi F, Ruschioni S, et al. Distribution of transferable antibiotic resistance genes in laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.). Front Microbiol. 19 de noviembre de 2018;9(NOV).
6. Crippen TL. PT. Conjugative Transfer of Plasmid-Located Antibiotic Resistance Genes Within theGastrointestinal Tract. 2009;6(7).
7. Esquivel JF, Crippen TL, Ward LA. Improved visualization of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)-Part I: Morphological features for sex determination of multiplestadia. Psyche (London). 2012;2012.
8. Trevor Lambkin. Darkling Beetles. 2006;
9. Vergara C, Gazani R. Biología de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae).Vol. 39, Revista Peruana de Entomología. 1996. p. 1-5.
10. Dunford JC, Kaufman PE. Lesser Mealworm , Litter Beetle , *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Insecta : Coleoptera : Tenebrionidae) 1. 2007;(February):1-10.
11. Kolasa M, Ścibior R, Mazur MA, Kubisz D, Dudek K, Kajtoch Ł. How Hosts Taxonomy, Trophy, and Endosymbionts Shape Microbiome Diversity in Beetles. Microb Ecol. 2019;78(4):995-1013.
12. Kaczmarczyk-Ziemia et al. First Insight into Microbiome Profiles of Myrmecophilous Beetles andTheir Host , Red Wood. MDPI journal}. 2020;1-19.
13. Kajtoch Ł, Kolasa M, Kubisz D, Gutowski JM, Ścibior R, Mazur MA, et al. Using host species traits to understand the *Wolbachia* infection distribution across terrestrial beetles. Sci Rep. 2019;9(1):1-15.
14. Silver A, Perez S, Gee M, Xu B, Garg S, Will K. Persistence of the ground beetle (Coleoptera :Carabidae) microbiome to diet manipulation. 2020;
15. Wan. Divergence in Gut Bacterial Community Structure between Male and Female Stag Beetles*Odontolabis*. MDPI. 2020;1-10.
16. Engel P, Moran NA. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. 2013;37:699-735.
17. Leffer AM, Kuttel J, Martins LM, Pedroso AC, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira F, et al. Vectorial competence of larvae and adults of *alphitobius diaperinus* in the transmission of salmonella enteritidis in poultry. Vector-Borne Zoonotic Dis. 2010;10(5):481-7.

18. Tschinkel WR. A comparative study of the chemical defensive system of tenebrionid beetles III. Morphology of the glands. *J Morphol.* 1975;145(3):355-70.
19. Retamales J, Vivallo F, Robeson J. Insects associated with chicken manure in a breeder poultry farm of Central Chile *Insectos asociados a fecas de pollo en una avícola de Chile Central.* *Arch Med Vet.* 2011;43:79-83.
20. Casas ED Las, Harein PK, Deshmukh DR, Pomeroy BS. The Relationship Between the Lesser Mealworm 1 and Avian Viruses. 1. Reovirus 24 2. *Environ Entomol.* 1973;2(6):1043-7.
21. McAllister JC, Steelman CD, Skeeles JK, Newberry LA, Gbur EE. Reservoir Competence of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Escherichia coli* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). *J Med Entomol.* 1996;33(6):983-7.
22. Strother KO, Dayton Steelman C, Gbur EE. Reservoir competence of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Campylobacter jejuni* (Campylobacterales: Campylobacteraceae). *J Med Entomol.* 2005;42(1):42-7.
23. Hakeem MJ, Lu X. Survival and Control of *Campylobacter* in Poultry Production Environment. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;10(January):1-18.
24. Goodwin MA, Waltman WD. Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. *J Appl Poult Res.* 1996;5(1):51-5.
25. Huber K, Gouilloud L, Zenner L. A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcocystidophora). *Avian Pathol.* 2007;36(4):279-82.
26. Roche AJ, Cox NA, Richardson LJ, Buhr RJ, Cason JA, Fairchild BD, et al. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Poult Sci.* 2009;88(1):44-8.
27. Crippen TL, Zheng L, Sheffield CL, Tomberlin JK, Beier RC, Yu Z. Transient gut retention and persistence of *Salmonella* through metamorphosis in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Appl Microbiol.* 2012;112(5):920-6.
28. Akter S, Sabuj AAM, Haque ZF, Rahman MT, Kafi MA, Saha S. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes from houseflies. *Vet World.* 2020;13(2):266-74.
29. Ahmad A, Ghosh A, Schal C, Zurek L. Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community. *BMC Microbiol* [Internet]. 26 de enero de 2011 [citado 18 de febrero de 2020];11(1):23. Disponible en: <http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-11-23>
30. Zurek L, Gorham JR. *Insects As Vectors Of Foodborne Pathogens.* Wiley Handb Sci Technol Homel Secur. 2008;1-15.
31. Zurek L, Ghosh A. Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits. Vol. 80, *Applied and Environmental Microbiology.* American Society for Microbiology; 2014. p. 3562-7.
32. Neupane S, White K, Thomson JL, Zurek L. Environmental and Sex Effects on Bacterial Carriage. *Insect.* 2020;
33. Pai HH. Multidrug resistant bacteria isolated from cockroaches in Pai, H. H. (2013). Multidrug resistant bacteria isolated from cockroaches in long-term care facilities and nursing homes. *Acta Tropica,* 125(1), 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.08.0>

Acta Trop [Internet]. 2013;125(1):18-22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.08.016>

34. Moges F, Eshetie S, Endris M, Huruy K, Muluye D, Feleke T, et al. Cockroaches as a Source of High Bacterial Pathogens with Multidrug Resistant Strains in Gondar Town, Ethiopia. *Biomed ResInt*. 2016;2016(January).
35. Jensen LB, Frimodt-Møller N, Aarestrup FM. Presence of erm gene classes in Gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. *FEMS Microbiol Lett*. 1999;170(1):151-8.
36. Channaiah LH, Subramanyam B, McKinney LJ, Zurek L. Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent enterococci. *FEMS Microbiol Ecol*. 2010;74(2):464-71.
37. Garces Leah. Reemplazar la carne de res con pollo no es tan bueno para el planeta como crees - Vox [Internet]. Vox. 2019 [citado 3 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.vox.com/future-perfect/2019/12/4/20993654/chicken-beef-climate-environment-factory-farms>
38. Blaak H, Van Hoek AHAM, Hamidjaja RA, Van Der Plaats RQJ, Kerkhof-De Heer L, De Roda Husman AM, et al. Distribution, numbers, and diversity of ESBL-producing *E. coli* in the poultry farm environment. *PLoS One*. 2015;10(8):1-23.
39. Hayashi W, Ohsaki Y, Taniguchi Y, Koide S, Kawamura K, Suzuki M, et al. High prevalence of blaCTX-M-14 among genetically diverse *Escherichia coli* recovered from retail raw chicken meat portions in Japan. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2018;284(March):98-104. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.003>
40. Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2011;17(6):873-80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03497.x>
41. Vogt D, Overesch G, Endimiani A, Collaud A, Thomann A, Perreten V. Occurrence and genetic characteristics of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in Swiss retail meat. *Microb Drug Resist*. 2014;20(5):485-94.
42. Falgenhauer L, Imirzalioglu C, Oppong K, Akenten CW, Hogan B, Krumkamp R, et al. Detection and characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* from humans and poultry in Ghana. *Front Microbiol*. 2019;10(JAN):1-8.
43. Yang Y, Ashworth AJ, Willett C, Cook K, Upadhyay A, Owens PR, et al. Review of Antibiotic Resistance, Ecology, Dissemination, and Mitigation in U.S. Broiler Poultry Systems. *Front Microbiol*. 2019;10(November):1-10.
44. Armbruster WJ, Roberts T. Food Safety Economics. *Food Saf Econ*. 2018;293-322.
45. Amann S, Neef K, Kohl S. Antimicrobial resistance (AMR). *Eur J Hosp Pharm*. 2019;26(3):175-7.
46. He yin Llang. Dissemination of Antibiotic Resistance Genes in Representative Broiler Feedlots Environments: Identification of Indicator ARGs and Correlations with Environmental Variables. 2014;(8620).
47. Wallmann J, Schröter K, Wieler LH, Kroker R. National antibiotic resistance monitoring in veterinary pathogens from sick food-producing animals: The German programme and results from the 2001 pilot study. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;22(4):420-8.

48. Garofalo C, Osimani A, Milanović V, Taccari M, Cardinali F, Aquilanti L, et al. The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiol* [Internet]. 2017;62:15-22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.09.012>
49. Septimus EJ. Antimicrobial Resistance: An Antimicrobial/Diagnostic Stewardship and Infection Prevention Approach. Vol. 102, *Medical Clinics of North America*. 2018. p. 819-29.
50. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr*. 2018;6(2).
51. Snneringer Stacy, McDonald James KNMBW. MK. Economics of Antibiotic Use in U . S . Swine and Poultry Production. *Choices* [Internet]. 2015;30(1):1-11. Disponible en: http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/197166/2/cmsarticle_404.pdf%5Cnhttp://www.choic e smagazine.org/choices-magazine/theme-articles/theme-overview/economics-of-antibiotic-use-in-us-swine-and-poultry-production
52. Sarmah AK, Meyer MT, Boxall ABA. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*. 2006;65(5):725-59.
53. Li Dan. Water Disinfection Byproducts Induce Antibiotic Resistance Role of Environmental Pollutants in Resistance Phenomena. *Env Sci Technol*. 2016;176(1):139-48.
54. Neill JO'. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations The Review on Antimicrobial Resistance Chaired. 2014;(December).
55. de Kraker MEA, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016;13(11):1-6.
56. Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet Heal*. 2017;1(8):e316-27.
57. Góchez D, Raicek M, Ferreira JP, Jeannin M, Moulin G, Erlacher-Vindel E. OIE annual report on antimicrobial agents intended for use in animals: Methods used. *Front Vet Sci*. 2019;6(SEP).
58. Rivera I and. No Title Metagenomics for microbiology. 2015.
59. Uribe Vélez D. Metagenómica ¿Una oportunidad para el estudio de la diversidad microbiana en Colombia? *Rev Colomb Biotecnol*. 2009;XI(2):4-7.
60. Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chem Biol*. 1998;5(10).
61. Woese C et al. Bacterial evolution. *Can J Microbiol*. 1988;34(4):547-51.
62. Pace NR, Stahl DA, Lane DJ, Olsen GJ. The Analysis of Natural Microbial Populations by Ribosomal RNA Sequences. 1986;1-55.
63. Handelsman J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2004;69(1):195-195.
64. Roumpeka DD, Wallace RJ, Escalettes F, Fotheringham I, Watson M. A review of bioinformatics tools for bio-prospecting from metagenomic sequence data. *Front Genet*. 2017;8(MAR):1-10.

65. Valenzuela-González F, Casillas-Hernández R, Villalpando E, Vargas-Albores F. El Gen aRNR 16s en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias Mar.* 2015;41(4):297-313.
66. Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(16):6241-6.
67. Pérez-Cobas AE, Gomez-Valero L, Buchrieser C. Metagenomic approaches in microbial ecology: An update on whole-genome and marker gene sequencing analyses. *Microb Genomics.* 2020;6(8):1-22.
68. Sharpston TJ. An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Front Plant Sci.* 2014;5(JUN):1-14.
69. DeLong EF. Oceans of Archaea. *ASM News.* 2003;69(10):503-11.
70. Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. 1977;74(2):560-4.
71. Sanger F, Nicklen S, Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977;74(12):5463-7.
72. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am.* 1990;262(4):56-65.
73. Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, et al. Fluorescence detection in automated DNA sequence analyses. *Nature.* 1986;321:674-9.
74. Schmidt TM, DeLong EF, Pace NR. Analysis of a marine picoplankton community by 16S rRNA gene cloning and sequencing. *J Bacteriol.* 1991;173(14):4371-8.
75. Breitbart M, Salamon P, Andresen B, Mahaffy JM, Segall AM, Mead D, et al. Genomic analysis of uncultured marine viral communities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(22):14250-5.
76. Wicker T, Schlagenhauf E, Graner A, Close TJ, Keller B, Stein N. 454 sequencing put to the test using the complex genome of barley. 2006;11:1-11.
77. Ansorge WJ. Next-generation DNA sequencing techniques. *N Biotechnol.* 2009;25(4):195-203.
78. Rhoads A, Au KF. PacBio Sequencing and Its Applications. *Genomics, Proteomics Bioinforma* [Internet]. 2015;13(5):278-89. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gpb.2015.08.002>
79. Bowden R, Davies RW, Heger A, Pagnamenta AT, Cesare M De, Oikkonen LE, et al. Sequencing of human genomes with nanopore technology. *Nat Commun* [Internet]. 2019;1-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-09637-5>
80. Dijk V. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet.* 2014;30(9):418-26.
81. Dijk EL Van, Jaszczyszyn Y, Thermes C. Library preparation methods for next-generation sequencing: Tone down the bias. *Exp Cell Res* [Internet]. 2014;322(1):12-20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.01.008>
82. Moreno-Indias, I., & Tinahones FJ. Metagenomics. En: *Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics.* 2019.
83. Bronner IF, Quail MA. Best Practices for Illumina Library. 2019;102:1-48.

84. Fakhrai-rad H, Pourmand N, Ronaghi M. Pyrosequencing [™]: An Accurate Detection Platform for Single Nucleotide Polymorphisms. 2002;485:479-85.
85. Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. Trends Genet. 2008;24(3):133-41.
86. Lahens NF, Ricciotti E, Smirnova O, Toorens E, Kim EJ, Baruzzo G, et al. A comparison of Illumina and Ion Torrent sequencing platforms in the context of differential gene expression. BMC Genomics. 2017;18(1):602.
87. Farage Dosantos D, Istvan P, Quirino BF. Functional Metagenomics as a Tool for Identification of New Antibiotic Resistance Genes from Natural Environments. Microb Ecol [Internet]. 2016; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-016-0866-x>
88. Berglund F, Österlund T, Boulund F, Marathe NP, Larsson DGJ, Kristiansson E. Identification and reconstruction of novel antibiotic resistance genes from metagenomes. Microbiome. 2019;7(1):1-14.
89. Arango-Argoty G, Garner E, Pruden A, Heath LS, Vikesland P, Zhang L. DeepARG: A deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data. Microbiome. 2018;6(1):1-15.
90. Tan MP, Wong LL, Razali SA, Afiqah-Aleng N, Mohd Nor SA, Sung YY, et al. Applications of Next- Generation Sequencing Technologies and Computational Tools in Molecular Evolution and Aquatic Animals Conservation Studies: A Short Review. Evol Bioinforma. 2019;15.
91. Malacrino A. et al. Meta-Omics Tools in the World of Insect-Microorganism Interactions. 2018;
92. Grünwald S, Pilhofer M, Höll W. Microbial associations in gut systems of wood- and bark-inhabiting longhorned beetles [Coleoptera: Cerambycidae]. Syst Appl Microbiol. 2010;33(1):25-34.
93. Mohammed WS, Ziganshina EE, Shagimardanova EI, Gogoleva NE, Ziganshin AM. Comparison of intestinal bacterial and fungal communities across various xylophagous beetle larvae (Coleoptera: Cerambycidae). Sci Rep. 2018;8(1):1-12.
94. Esposti MD, Romero EM. The functional microbiome of arthropods. 2017;1-26.
95. McKenna DD, Scully ED, Pauchet Y, Hoover K, Kirsch R, Geib SM, et al. Genome of the Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*), a globally significant invasive species, reveals key functional and evolutionary innovations at the beetle-plant interface. Genome Biol [Internet]. 2016;17(1):1-18. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-016-1088-8>
96. Andújar C, Arribas P, Motyka M, Bocek M, Bocak L, Linard B, et al. New mitochondrial genomes of 39 soil dwelling Coleoptera from metagenome sequencing. Mitochondrial DNA Part B Resour [Internet]. 2019;4(2):2447-50. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1637289>
97. Mason CJ, Campbell A, Scully ED, Hoover K. Bacterial and fungal midgut community dynamics and transmission between life stages in an invasive xylophage. Microb Ecol. 2018;
98. Pauchet Y, Wilkinson P, Chauhan R, Richard H. Diversity of Beetle Genes Encoding Novel Plant Cell Wall Degrading Enzymes. 2010;5(12).
99. Cucini C, Leo C, Vitale M, Frati F, Carapelli A, Nardi F. Bacterial and fungal diversity in the gut of polystyrene-fed *Alphitobius diaperinus* (Insecta: Coleoptera). Anim Gene [Internet]. 2020;17- 18(October):200109. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.angen.2020.200109>

100. Crippen TL, Sheffield C. External surface disinfection of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Med Entomol.* 2006;43(5):916-23.
101. Bancoadn. Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. Banco Nacional de ADN Carlos III (Universidad de Salamanca). Banco ADN [Internet]. 2020;1-10. Disponible en: www.bancoadn.org
102. Kim D, Song L, Breitwieser FP, Salzberg SL. Centrifuge: Rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome Res.* 2016;26(12):1721-9.
103. Fatahi-bafghi M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum. 2019;(c).
104. Anandan et al. An introduction to Actinobacteria. Intech [Internet]. 2016;13. Disponible en: [file:///C:/Users/usuario/Desktop/ANANDAN 2016 Introduction actinobacteria.pdf](file:///C:/Users/usuario/Desktop/ANANDAN%20Introduction%20actinobacteria.pdf)
105. Lewin et al. Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *Physiol Behav.* 2016;176(1):139-48.
106. Latha S, Dhanasekaran D. Research Article Antibacterial and extracellular enzyme activities of gut actinobacteria isolated from *Gallus gallus domesticus* and *Capra hircus*. 2013;5(11):379-85.
107. Onraedt A, Soetaert W, Vandamme E. Industrial importance of the genus *Brevibacterium*. 2005;527-33.
108. Buczolits S, Busse HJ. *Brachybacterium*. *Bergey's Man Syst Archaea Bact.* 2015;1-10.
109. Lehmann; Neumann. *Corynebacterium*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.* 2010. 1-70 p.
110. Li J, Zhao GZ, Zhang YQ, Klenk HP, Pukall R, Qin S, et al. *Dietzia schimae* sp. nov. and *Dietzia cercidiphylli* sp. nov., from surface-sterilized plant tissues. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008;58(11):2549-54.
111. Crovadore J, Calmin G, Chablais R, Cochard B. Whole-Genome Sequence of *Enteractinococcus helveticum* sp. nov. Strain UASWS1574 Isolated from Industrial Used Waters. 2016;4(4):4-5.
112. Das L, Deb S, Das SK. *Glutamicibacter mishrai* sp. nov., isolated from the coral *Favia veroni* from Andaman Sea. *Arch Microbiol* [Internet]. 2019;(0123456789). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01783-0>
113. Jürgen. and Wieser M. *Glutamicibacter*. 2016;
114. Arenskötter M, Bröker D, Steinbüchel A. Biology of the metabolically diverse genus *Gordonia*. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(6):3195-204.
115. Lee SD. *Labeledella gwakjiensis* gen. nov., sp. nov., a novel actinomycete of the family Microbacteriaceae. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007;57(11):2498-502.
116. Serrano JS. Identificación y diagnóstico de Actinomycetales patógenos. 2005.
117. Collins et al. Genus Species Subspecies Author *Brachybacterium faecium* Collins et al. 1988 Reclassification Status Type species Schefferle 6-10 Hazard group Author (s) Title Volume Page (s) Year Collins M. D., J. Brown and D. Jones. *bacterium from poultry deep.* 1988;
118. Lapidus A, Pukall R, LaButtii K, Copeland A, del Rio TG, Nolan M, et al. Complete genome sequence of *Brachybacterium faecium* type strain (schefferle 6-10 T). *Stand Genomic Sci.*

2009;1(1):3-11.

119. Takeuchi M, Yokota A. Taxonomic Study of the Genus *Brachybacterium*: Proposal of 1995;(13):160-8.
120. Ziganshina EE, Mohammed WS, Shagimardanova EI, Ziganshin AM. Draft genome sequence data and analysis of *Brachybacterium* sp. strain EE-P12 isolated from a laboratory-scale anaerobic reactor. *Data Br* [Internet]. 2018;21:2576-80. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.11.104>
121. Forquin M, Weimer BC. *Brevibacterium*. 2014;1.
122. Plociniczak T et al. Rhizospheric Bacterial Strain *Brevibacterium casei* MH8a Colonizes Plant Tissues and Enhances Cd , Zn , Cu Phytoextraction by White Mustard. 2016;7(February):1-10.
123. Bonavilla Juan C, Michelena Bengoechea A, Zubeltzu Sese B, Goenaga Sánchez MÁ. Recurrent endocarditis due to *Brevibacterium casei*: case presentation and a review of the literature. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;35(2):127-8.
124. Rodriguez H, Reveron I, Doria F, Costantini A, De Las Rivas B, Muñoz R, et al. Degradation of ochratoxin a by *brevibacterium* species. *J Agric Food Chem*. 2011;59(19):10755-60.
125. Elahi A, Rehman A. Comparative behavior of two gram positive Cr 6+ resistant bacterial strains *Bacillus aerius* S1 and *Brevibacterium iodinum* S2 under hexavalent chromium stress. *Biotechnol Reports* [Internet]. 2019;21(2018):e00307. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00307>
126. Schefferle HE. Coryneform Bacteria in Poultry Deep Litter. *J Appl Bacteriol*. 1966;29(1):147-60.
127. Kokcha S, Ramasamy D, Lagier JC, Robert C, Raoult D, Fournier PE. Non-contiguous finished genome sequence and description of *Brevibacterium senegalense* sp. nov. *Stand Genomic Sci*. 2012;7(2):233-45.
128. Kumar A, Agah I, Kati A, Chakraborty R. *Brevibacterium siliguriense* sp . nov ., a facultatively oligotrophic bacterium isolated from river water. 2013;511-5.
129. Anast JM, Dzieciol M, Schultz DL, Wagner M, Mann E, Schmitz-Esser S. *Brevibacterium* from Austrian hard cheese harbor a putative histamine catabolism pathway and a plasmid for adaptation to the cheese environment. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1-12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-42525-y>
130. Hohmann HP, Stahmann KP. Biotechnology of riboflavin production. *Compr Nat Prod II Chem Biol*. 2010;7:115-39.
131. Walter F, Albersmeier A, Kalinowski J, Rückert C. Complete genome sequence of *Corynebacterium casei* LMG S-19264 T (= DSM 44701 T), isolated from a smear-ripened cheese. *J Biotechnol* [Internet]. 2014;189:76-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.08.038>
132. Al-Dilaimi A, Bednarz H, Lömker A, Niehaus K, Kalinowski J, Rückert C. Revisiting *Corynebacterium glyciniphilum* (ex Kubota et al., 1972) sp. nov., nom. rev., isolated from putrefied banana. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2015;65(1):177-82.
133. Ruiz-Aguilar GML. Biodegradación de Bifenilos Policlorados (BPCs) por Microorganismos. *Acta Univ*. 2005;15(2):19-28.
134. Schröder J, Maus I, Trost E, Tauch A. Complete genome sequence of *Corynebacterium*

- variabile DSM 44702 isolated from the surface of smear-ripened cheeses and insights into cheese ripening and flavor generation. *BMC Genomics* [Internet]. 2011;12(1):545. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/545>
135. Crovadore J, Calmin G, Chablais R, Cochard B. Whole-Genome Sequence of. 2016;4(4):4-5.
136. Khan N, Yilmaz S, Aksoy S, Uzel A, Tosun Ç, Kirmizibayrak PB, et al. Polyethers isolated from the marine actinobacterium *Streptomyces cacaoi* inhibit autophagy and induce apoptosis in cancer cells. *Chem Biol Interact*. 2019;307(February):167-78.
137. Jin D, Kong X, Jia M, Yu X, Wang X, Zhuang X, et al. *Gordonia phthalatica* sp. nov., a di-n-butyl phthalate-degrading bacterium isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2017;67(12):5128-33.
138. Su X, Liu Y, Hashmi MZ, Hu J, Ding L, Wu M, et al. *Rhodococcus biphenylivorans* sp. nov., a polychlorinated biphenyl-degrading bacterium. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol*. 2015;107(1):55-63.
139. Wicke C, Hüners M, Wray V, Nimtz M, Bilitewski U, Lang S. Production and structure elucidation of glycolipids from a marine sponge-associated *Microbacterium* species. *J Nat Prod*. 2000;63(5):621-6.
140. Ibrahim AH, Desoukey SY, Fouad MA, Kamel MS, Gulder TAM, Abdelmohsen UR. Natural product potential of the genus *Nocardiopsis*. *Mar Drugs*. 2018;16(5):1-12.
141. Khopade A, Biao R, Liu X, Mahadik K, Zhang L, Kokare C. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardiopsis* sp. B4. *Desalination* [Internet]. 2012;285:198-
204. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2011.10.002>
142. Bennur T, Kumar AR, Zinjarde S, Javdekar V. *Nocardiopsis* species: Incidence, ecological roles and adaptations. *Microbiol Res* [Internet]. 2015;174:33-47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.03.010>
143. Shutsrirung A, Chromkaew Y, Pathom-Aree W, Choonluchanon S, Boonkerd N. Diversity of endophytic actinomycetes in mandarin grown in northern Thailand, their phytohormone production potential and plant growth promoting activity. *Soil Sci Plant Nutr*. 2013;59(3):322-30.
144. Parkes RJ, Sass H. Deep Sub-Surface. *Encycl Microbiol*. 2009;64-79.
145. Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*. 2020;8(11):1-16.
146. Hashmi I, Bindschedler S, Junier P. Firmicutes. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. 2020. 363-396 p.
147. Wadud S, Michaelsen A, Gallagher E, Parcsi G, Zemb O, Stuetz R, et al. Bacterial and fungal community composition over time in chicken litter with high or low moisture content. *Br Poult Sci*. 2014;53(5):561-9.
148. Shewmaker PL, Steigerwalt AG, Morey RE, Carvalho M da GS, Elliot JA, Joyce K, et al. *Vagococcus carniphilus* sp. nov., isolated from ground beef. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54(5):1505-10.
149. Lam MQ, Nik Mut NN, Thevarajoo S, Chen SJ, Selvaratnam C, Hussin H, et al.

- Characterization of detergent compatible protease from halophilic *Virgibacillus* sp. CD6. 3 Biotech [Internet]. 2018;8(2):1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1133-2>
150. Nigam PS. Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*. 2013;3(3):597-611.
 151. Whitehead et al. *Atopostipes*. *Man Bergey's*. 2015;
 152. Sharma P, Dutta J, Thakur D. Future Prospects of Actinobacteria in Health and Industry [Internet]. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Actinobacteria: Diversity and Biotechnological Applications*. Elsevier B.V.; 2018. 305-324 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63994-3.00021-7>
 153. Bagher M, Nobandegani J, Saud HM, Yun WM. Phylogenetic Relationship of Phosphate Solubilizing Bacteria according to 16S rRNA Genes. 2015;2015.
 154. Othoum G, Bougouffa S, Bokhari A, Lafi FF, Gojobori T, Hirt H, et al. Mining biosynthetic geneclusters in *Virgibacillus* genomes. *BMC Genomics*. 2019;20(1):1-10.
 155. Kersters K, Vos PDE, Gillis M, Swings J, Vandamme P. Introduction to the Proteobacteria. 2006. 3-37 p.
 156. Williams KP, Gillespie JJ, Sobral BWS, Nordberg EK, Snyder EE, Shallom JM, et al. Phylogeny of gammaproteobacteria. *J Bacteriol*. 2010;192(9):2305-14.
 157. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. The prokaryotes. Vol. 7. Proteobacteria: delta and epsilon subclasses, deeply rooting bacteria: a handbook on the biology of bacteria. 2006. 408 p.
 158. Bowman. The genus *Psychrobacter*. *B prokaryotes*. 2006;42(1):44-57.
 159. Camardella L, Di R, Antignani A, Ciardiello MA, Coleman JK, Buchon L, et al. The Antarctic *Psychrobacter* sp. TAD1 has two cold-active glutamate dehydrogenases with different cofactor specificities. Characterisation of the NAD^q-dependent enzyme. 2002;131:559-67.
 160. Nara S, Kandpal R, Jaiswal V, Augustine S, Wahie S, Sharma JG, et al. Exploring *Providencia rettgeri* for application to eco-friendly paper based microbial fuel cell. *Biosens Bioelectron* [Internet]. 2020;165:112323. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112323>
 161. Vieira VR, Pinheiro V, Borsoi A, Ruschel L. Número mais provável (NMP) de *Salmonella* sp. em cecos de frangos de corte e correlação com a população linfocitária bursal *. 2007;35(December2006):49-53.
 162. Guerfali MM, Djobbi W, Charaabi K, Hamden H, Fadhl S, Marzouki W, et al. Evaluation of *Providencia rettgeri* pathogenicity against laboratory Mediterranean fruit fly strain (*Ceratitis capitata*). *PLoS One*. 2018;13(5):1-18.
 163. Xu B, Sun QJ, Lan JCW, Chen WM, Hsueh CC, Chen BY. Exploring the glyphosate-degrading characteristics of a newly isolated, highly adapted indigenous bacterial strain, *Providencia rettgeri* GDB 1. *J Biosci Bioeng* [Internet]. 2019;128(1):80-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.01.012>
 164. Rattanasuk S, Songsaeng A, Sriwarom T. *Pseudomonas stutzeri* cm1, novel thermotolerant cellulase-producing bacteria isolated from forest soil. *Pakistan J Biol Sci*. 2020;23(10):1345-50.
 165. Larsbrink J, McKee LS. Bacteroidetes bacteria in the soil: Glycan acquisition, enzyme secretion, and gliding motility [Internet]. 1.^a ed. Vol. 110, *Advances in Applied Microbiology*.

- Elsevier Inc.;2019. 63-98 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.11.001>
166. Moran NA, Tran P, Gerardo NM, Moran NA, Tran P, Gerardo NM. Symbiosis and Insect Diversification : an Ancient Symbiont of Sap-Feeding Insects from the Bacterial Phylum Bacteroidetes Symbiosis and Insect Diversification : an Ancient Symbiont of Sap-Feeding Insects from the Bacterial Phylum Bacteroidetes. 2005;71(12).
167. Shivaji S, Chaturvedi P, Reddy GSN, Suresh K. *Pedobacter himalayensis* sp. nov., from the Hamta glacier located in the Himalayan mountain ranges of India. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2005;55(3):1083-8.
168. Song M, Jiang L, Zhang D, Luo C, Yin H, Li Y, et al. Identification of biphenyl-metabolising microbes in activated biosludge using cultivation-independent and -dependent approaches. *J Hazard Mater* [Internet]. 2018;353(2010):534-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.028>
169. Moral S, Ramírez-coutiño LP, García-gómez MDJ. Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de los alimentos. *Rev Iberoam Ciencias*. 2015;2(3):87-102.
170. Pérez SA, Niño ZM, Hernández V, Hernández C. Uso de enzimas de tipo ureasa en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido en nitrógeno orgánico. *Inf Tecnol*. 2007;18(5):41-8.
171. Liu Y, Dyal-Smith M, Marena M, Hu H-W, Browning G, Billman-Jacobe H. Antibiotic Resistance Genes in Antibiotic-Free Chicken Farms. *Antibiotics*. 2020;9(3):120.
172. Donado-godoy P, Byrne BA, León M, Castellanos R, Vanegas C, Coral A, et al. Prevalence, resistance patterns, and risk factors for antimicrobial resistance in bacteria from retail chicken meat in Colombia. *J Food Prot*. 2015;78(4):751-9.
173. Poudel A, Kang Y, Mandal RK, Kalalah A, Butaye P, Hathcock T, et al. Comparison of microbiota, antimicrobial resistance genes and mobile genetic elements in flies and the feces of sympatric animals. *FEMS Microbiol Ecol*. 2020;96(4):1-13.
174. Franz CMAP, Huch M, Abriouel H, Holzappel W, Gálvez A. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2011;151(2):125-40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.014>
175. Osman KM, Badr J, Orabi A, Elbehiry A, Saad A, Ibrahim MDS, et al. Poultry as a vector for emerging multidrug resistant *Enterococcus* spp.: First report of vancomycin (van) and the chloramphenicol-florfenicol (cat-fex-cfr) resistance genes from pigeon and duck faeces. *Microb Pathog* [Internet]. 2019;128:195-205. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.006>
176. O'Dea M, Sahibzada S, Jordan D, Laird T, Lee T, Hewson K, et al. Genomic, antimicrobial resistance, and public health insights into *Enterococcus* spp. From Australian chickens. *J Clin Microbiol*. 2019;57(8).
177. Monticelli J, Knezevich A, Luzzati R, Di Bella S. Clinical management of non-faecium non-faecalis vancomycin-resistant enterococci infection. Focus on *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus/flavescens*. *J Infect Chemother*. 2018;24(4):237-46.
178. Fine RL, Manfredo Vieira S, Gilmore MS, Kriegel MA. Mechanisms and consequences of gut commensal translocation in chronic diseases. *Gut Microbes* [Internet]. 2020;11(2):217-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1629236>
179. Knodler LA, Effenbein JR. *Salmonella enterica*. *Trends Microbiol* [Internet]. 2019;27(11):964-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.05.002>

180. Songe MM, Hang'ombe BM, Knight-Jones TJD, Grace D. Antimicrobial resistant enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In houseflies infesting fish in food markets in Zambia. *Int J Environ Res Public Health*. 1 de enero de 2017;14(1).
181. Sobur A, Hasan M, Haque E, Mridul AI, Noreddin A, El Zowalaty ME, et al. Molecular detection and antibiotyping of multidrug-resistant *Salmonella* isolated from houseflies in a fish market. *Pathogens*. 2019;8(4).
182. Melanovic. et al. Getting insight into the prevalence of antibiotic resistance genes in specimens of marketed edible insect. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2016; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.018>
183. Wade, M., Hoelle J. Environmental Research Letters A review of edible insect industrialization: Scales of production and implications for sustainability A review of edible insect industrialization: Scales of production and implications for sustainability 4 5 6. *Environ Res Lett*[Internet]. 2020; Disponible en: <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0>
184. Donoso A, Paredes N, Retamal P. Detection of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Strains in Larval and Adult Forms of Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) From Industrial Poultry Farms. 2020;7(October):1-6.
185. Wynants E, Crauwels S, Verreth C, Gianotten N, Lievens B, Claes J, et al. Microbial dynamics during production of lesser mealworms (*Alphitobius diaperinus*) for human consumption at industrial scale. *Food Microbiol* [Internet]. 2018;70:181-91. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.012>
186. Usera MA, Aladueña A, Díez R, De la Fuente M, Cerdán P, Gutiérrez R, et al. Análisis de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de muestras de origen no humano en España en el año 2000. *Bol Epidemiol Sem*. 2001;6:9(27): 281-286.
187. Borie C, Zurita P, Rojas V, Santander J, Robeson J. Prevención de la infección por *Salmonella enterica* subespecie enterica serotipo Prevention of *Salmonella enterica* subespecie enterica serotype Enteritidis (*Salmonella Enteritidis*) infection in chickens using a bacteriophage. 2005;201:197-201.
188. Hakim AS, Omara ST, Syame SM, Fouad EA. Serotyping, antibiotic susceptibility, and virulence genes screening of *Escherichia coli* isolates obtained from diarrheic buffalo calves in Egyptian farms. *Vet World*. 2017;10(7):769-73.
189. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, et al. Extended-spectrum β - lactamase-producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(1):211-5.
190. Sun Y, Zeng Z, Chen S, Ma J, He L, Liu Y, et al. High prevalence of blaCTX-M extended-spectrum β -lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(9):1475-81.
191. Manges AR, Smith SP, Lau BJ, Nuval CJ, Eisenberg JNS, Dietrich PS, et al. Retail meat consumption and the acquisition of antimicrobial resistant *Escherichia coli* causing urinary tract infections: A case-control study. *Foodborne Pathog Dis*. 2007;4(4):419-31.
192. Devleeschauwer B, Pires SM, Young I, Gill A, Majowicz SE. Associating sporadic, foodborne illness caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* with specific foods: A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Epidemiol Infect*. 2019;147.
193. Gundran RS, Cardenio PA, Villanueva MA, Sison FB, Benigno CC, Kreausukon K, et al. Prevalence and distribution of bla CTX-M, bla SHV, bla TEM genes in extended- spectrum β - Lactamase- producing *E. coli* isolates from broiler farms in the Philippines. *BMC Vet Res*.

2014;15(1):1-8.

194. Ashiboe-Mensah S, Dziva F, Akpaka PE, Mlambo C, Adesiyun AA. Characterization of Multidrug Resistant & Escherichia coli& Isolates Recovered from Humans and Chickens, Trinidad and Tobago. *Adv Infect Dis*. 2016;06(04):145-56.
195. Oliveira, Souza DS, Araújo SPF, Ferreira LP, Santos VM, Amorim AT, Santos AMOG, et al. Original article Isolation , pathogenicity and disinfection of Staphylococcus aureus carried by insects in two public hospitals of Vitória. *Brazilian J Infect Dis [Internet]*. 2014;18(2):129-36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2013.06.008>
196. Hernandez Sarmiento R, Álvarez Olmos M, Aguilera Martínez S. Meningitis por Staphylococcus lentus resistente a meticilina asociado a derivación ventriculoperitoneal en lactante menor. *Pediatría (Santiago)*. 2019;52(3):118-21.
197. FAO. La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente. *Fao [Internet]*. 2018;1-4. Disponible en: <http://www.fao.org/edible-insects/en/>
198. Osei Sekyere J, Mensah E. Molecular epidemiology and mechanisms of antibiotic resistance in Enterococcus spp., Staphylococcus spp., and Streptococcus spp. in Africa: a systematic review from a One Health perspective. *Ann N Y Acad Sci*. 2020;1465(1):29-58.
199. Vela J, Hildebrandt K, Metcalfe A, Rempel H, Bittman S, Topp E, et al. Characterization of Staphylococcus xylosus isolated from broiler chicken barn bioaerosol. *Poult Sci*. 2012;91(12):3003-12.
200. Marques R V., Duval EH, Corrêa LB, Corrêa ÉK. Increase of Unsaturated Fatty Acids (Low Melting Point) of Broiler Fatty Waste Obtained Through Staphylococcus xylosus Fermentation. *Curr Microbiol*. 2015;71(5):601-6.
201. Padilla Ortega B. Staphylococcus aureus resistente a meticilina y personal sanitario. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(8):497-9.
202. Osimani A, Garofalo C, Milanovic V, Aquilanti L, Pasquini M, Mozzon M, et al. Insight into the proximate composition and microbial diversity of edible insects marketed in the European Union. 2016;
203. Brisse S, Passet V, Grimont PAD. Description of Klebsiella quasipneumoniae sp. nov., Isolated from human infections, With two subspecies, Klebsiella quasipneumoniae subsp. quasipneumoniae subsp. nov. and Klebsiella quasipneumoniae subsp. similipneumoniae subsp. nov., And demonstration th. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2014;64:3146-52.
204. Ishiguro T, Uozumi R, Yoshioka H, Nishida T, Takayanagi N. Comparison between Patients with Chest Infection due to Klebsiella spp. And Streptococcus pneumoniae. *Intern Med*. 2020;59(5):611-8.
205. Ranjbar R, Izadi M, Hafshejani TT, Khamesipour F. Molecular detection and antimicrobial resistance of Klebsiella pneumoniae from house flies (Musca domestica) in kitchens, farms, hospitals and slaughterhouses. *J Infect Public Health [Internet]*. 2016;9(4):499-505. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2015.12.012>
206. Effah CY, Sun T, Liu S, Wu Y. Klebsiella pneumoniae: An increasing threat to public health. *Ann Clin Microbiol Antimicrob [Internet]*. 2020;19(1):1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0343-8>
207. Bispo Beltrão EM, de Oliveira ÉM, dos Santos Vasconcelos CR, Cabral AB, Rezende AM, Souza Lopes AC. Multidrug-resistant Klebsiella aerogenes clinical isolates from Brazil

- carrying IncQ1 plasmids containing the blaKPC-2 gene associated with non-Tn4401 elements (NTEKPC-IIId). *J Glob Antimicrob Resist* [Internet]. 2020;22:43-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.05.001>
208. Gavriel S, Jurkevitch E, Gazit Y, Yuval B. Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies. *J Appl Entomol*. 2011;135(7):564-73.
 209. Rapp RP, Urban C. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases in enterobacteriaceae: History, evolution, and microbiology concerns. *Pharmacotherapy*. 2012;32(5):399-407.
 210. Suzuki Y, Ida M, Kubota H, Ariyoshi T, Murakami K, Kobayashi M, et al. Multiple B-Lactam Resistance Gene-Carrying Plasmid Harbored by *Klebsiella quasipneumoniae* Isolated from Urban Sewage in Japan. 2019;4(5).
 211. Cantón R, Sánchez-Moreno MP, Reilly MIM. *Proteus penneri*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24(SUPPL.1):8-13.
 212. Jaramillo GI, Pavas NC, Cárdenas JC, Gutiérrez P, Oliveros WA, Pinilla MA. *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) como potencial vector mecánico de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) en un centro hospitalario de Villavicencio (Meta-Colombia). *Nova*. 2016;14(25):19.
 213. Yuan Y, Zhang Y, Fu S, Crippen TL, Visi DK, Benbow ME, et al. Genome sequence of a *Proteus mirabilis* strain isolated from the salivary glands of larval *Lucilia sericata*. *Genome Announc*. 2016;4(4):16-7.
 214. Drzewiecka D. Significance and Roles of *Proteus* spp. *Bacteria in Natural Environments*. *Microb Ecol* [Internet]. 2016;72(4):741-58. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6>
 215. Wang J, Chen P, Chang S, Shiau Y, Wang H, Lai J. Antimicrobial susceptibilities of *Proteus mirabilis*: a longitudinal nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program. 2014;(35):1-10.
 216. Tamma PD, Sharara SL, Pana ZD, Amoah J, Fisher SL, Tekle T, et al. Molecular Epidemiology of Ceftriaxone-Nonsusceptible Enterobacteriales Isolates in an Academic Medical Center in the United States. *scopus*. 2019;1-5.
 217. Girlich D, Bonnin RA, Dortet L, Naas T. Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. *Front Microbiol*. 2020;11(February):1-21.
 218. Han JE, Gomez DK, Kim JH, Choresca CH, Shin SP, Park SC. Isolation of a zoonotic pathogen *Kluyvera ascorbata* from Egyptian fruit-bat *Rousettus aegyptiacus*. *J Vet Med Sci*. 2010;72(1):85-7.
 219. Poirel L, Ka P, Nordmann P. Chromosome-Encoded Ambler Class A B-Lactamase of *Kluyvera georgiana*, a Probable Progenitor of a Subgroup of CTX-M. 2002;46(12):4038-40.
 220. Hernandez M. crossm First Report of an OXA-48- and CTX-M-213-Producing *Kluyvera*. 2018;62(11):1-10.
 221. Zhao F, Zong Z. *Kluyvera ascorbata* strain from hospital sewage carrying the mcr-1 colistin resistance gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(12):7498-501.
 222. Panditrao M, Panditrao M. *Pantoea dispersa*: Is it the Next Emerging «Monster» in our Intensive Care Units? A Case Report and Review of Literature. *Anesth essays Res*. 2018;12(4):963-6.
 223. Correa VR, Majerczak DR, Ammar ED, Merighi M, Pratt RC, Hogenhout SA, et al. the

- bacterium *Pantoea stewartii* uses two different type III secretion systems to colonize its plant host and insect vector. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(17):6327-36.
224. Moghadam F, Couger MB, Russ B, Ramsey R, Hanafy RA, Budd C, et al. Draft genome sequence and detailed analysis of *Pantoea eucrina* strain Russ and implication for opportunistic pathogenesis. *Genomics Data* [Internet]. 2016;10:63-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gdata.2016.09.006>
225. Sun Y, Zhang Y, Li W, Zhang W, Xu Z, Dai M, et al. Combination of the endophytic manganese-oxidizing bacterium *Pantoea eucrina* SS01 and biogenic Mn oxides: An efficient and sustainable complex in degradation and detoxification of malachite green. *Chemosphere* [Internet]. 2021;280(April):130785. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130785>
226. Liu H, Zhu J, Hu Q, Rao X. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2016;50:10-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2016.07.006>
227. Xiang R, Li M. Identification of Tn6835 and a novel genomic Island, MMGI-1, in a pan-resistant *Morganella morganii* strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(4):7-10.
228. Cheng C, Ying Y, Zhou D, Zhu L, Lu J, Li A, et al. RamA, a transcriptional regulator conferring florfenicol resistance in *Leclercia adecarboxylata* R25. *Folia Microbiol (Praha).* 2020;65(6):1051-60.
229. Zhang K, Teng Z, Shao W, Wang Y, Li M, Lam SS. Effective passivation of lead by phosphate solubilizing bacteria capsules containing tricalcium phosphate. *J Hazard Mater* [Internet]. 2020;397(March):122754. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122754>
230. Nobre. Symbiosis in Sustainable Agriculture : Can Olive Fruit Fly Bacterial Microbiome Be Useful in Pest Management ? 2019;
231. Ben-Yosef M, Pasternak Z, Jurkevitch E, Yuval B. Symbiotic bacteria enable olive flies (*Bactrocera oleae*) to exploit intractable sources of nitrogen. *J Evol Biol.* 2014;27(12):2695-705.
232. Gou JJ, Liu N, Guo LH, Xu H, Lv T, Yu X, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacter hormaechei* ST1103 with IMP-26 carbapenemase and ESBL gene *bla_{SHV-178}*. *Infect Drug Resist.* 2020;13:597-605.
233. Davin-Regli A, Chollet R, Bredin J, Chevalier J, Lepine F, Pagès JM. *Enterobacter gergoviae* and the prevalence of efflux in parabens resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(4):757-60.
234. Chan KG, Tee KK, Yin WF, Tan JY. Complete genome sequence of *Pluralibacter gergoviae* FB2, an N-acyl homoserine lactone-degrading strain isolated from packed fish paste. *Genome Announc.* 2014;2(6):2013-4.
235. Algammal AM, Hashem HR, Al-otaibi AS, Alfifi KJ, El-dawody EM, Mahrous E, et al. Emerging MDR-*Mycobacterium avium* subsp. *avium* in house-reared domestic birds as the first report in Egypt. *BMC Microbiol.* 2021;21(1):1-11.
236. Cristina ML, Sartini M, Spagnolo AM. *Serratia marcescens* infections in neonatal intensive care units (NICUs). *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(4).
237. Iwata S, Tada T, Hishinuma T, Tohya M, Oshiro S, Kuwahara-arai K, et al. crossm Emergence of Carbapenem-Resistant *Providencia rettgeri* and. 2020;(October).

238. Victoria C-, Ingle DJ, Andersson P, Valcanis M, Barnden J, Horan KA, et al. crossm Prolonged Outbreak of Multidrug-Resistant *Shigella sonnei*. 2020;
239. Zhu Z, Wang L, Qian H, Gu F, Li Y, Zhang H, et al. Comparative genome analysis of 12 *Shigella sonnei* strains: virulence, resistance, and their interactions. *Int Microbiol*. 2020;24(1):83-91.
240. Campos-Madueno EI, Bernasconi OJ, Moser AI, Keller PM, Luzzaro F, Maffioli C, et al. Rapid increase of CTX-M-Producing *shigella sonnei* isolates in switzerland due to spread of common plasmids and international clones. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(10):1-12.
241. Gibello A, Galán-Sánchez F, Blanco MM, Rodríguez-Iglesias M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. The zoonotic potential of *Lactococcus garvieae*: An overview on microbiology, epidemiology, virulence factors and relationship with its presence in foods. *Res Vet Sci* [Internet]. 2016;109:59-70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.010>
242. Karami E, Alishahi M, Molayemraftar T, Ghorbanpour M, Tabandeh MR, Mohammadian T. Study of pathogenicity and severity of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Kohkilooh and Boyerahmad province. *Fish Aquat Sci*. 2019;22(1):1-7.
243. Raissy M, Moumeni M. Detection of antibiotic resistance genes in some *Lactococcus garvieae* strains isolated from infected rainbow trout. *Iran J Fish Sci*. 2016;15(1):221-9.
244. Benedetti P, Rasso M, Pavan G, Sefton A, Pellizzer G. Septic shock, pneumonia, and soft tissue infection due to *Myroides odoratimimus*: Report of a case and review of *Myroides* infections. *Infection*. 2011;39(2):161-5.
245. Ming D song, Chen Q qing, Chen X tin. Analysis of resistance genes in pan-resistant *Myroides odoratimimus* clinical strain PR63039 using whole genome sequencing. *Microb Pathog* [Internet]. 2017;112:164-70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.012>
246. Goodman LB, Lawton MR, Franklin-Guild RJ, Anderson RR, Schaan L, Thachil AJ, et al. *Lactococcus petauri* sp. nov., isolated from an abscess of a sugar glider. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2017;67(11):4397-404.
247. Ou YJ, Ren QQ, Fang ST, Wu JG, Jiang YX, Chen YR, et al. Complete Genome Insights into *Lactococcus petauri* CF11 Isolated from a Healthy Human Gut Using Second- and Third- Generation Sequencing. *Front Genet*. 2020;11(February):1-9.
248. Hua Y, Cao H, Wang J, He F, Jiang G. Gut microbiota and fecal metabolites in captive and wild North China leopard (*Panthera pardus japonensis*) by comparison using 16 s rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics. *BMC Vet Res*. 2020;16(1):1-11.
249. Pereira FL, Oliveira Júnior CA, Silva ROS, Dorella FA, Carvalho AF, Almeida GMF, et al. Complete genome sequence of *Peptoclostridium difficile* strain Z31. *Gut Pathog*. 2016;8(1):1-7.
250. Alosaimi RS, Muhmmmed kaaki M. Catheter-Related ESBL-Producing *Leclercia adcarboxylata* Septicemia in Hemodialysis Patient: An Emerging Pathogen? . *Case Rep Infect Dis*. 2020;2020:1-3.

251. Humphrey S, Chaloner G, Kemmett K, Davidson N, Williams N, Kipar A, et al. *Campylobacter jejuni* is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects bird welfare. *MBio*. 2014;5(4):1-7.
252. Templeton JM, De Jong AJ, Blackall PJ, Miflin JK. Survival of *Campylobacter* spp. in darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae in Australia. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(12):7909-11.
253. Wijayawardene NN, Hyde KD, Dai D. Outline of Ascomycota [Internet]. Vol. 1, Encyclopedia of Mycology. Elsevier Ltd.; 2021. 95 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-819990-9.00064-0>
254. Bennett RJ, Turgeon BG. *Fungal Sex : The Ascomycota*. 2016;
255. Schoch CL, Sung GH, López-Giráldez F, Townsend JP, Miadlikowska J, Hofstetter V, et al. The ascomycota tree of life: A phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *Syst Biol*. 2009;58(2):224-39.
256. Blackwell M. Minute mycological mysteries : the influence of arthropods on the lives of fungi. 2018;5514.
257. Murrin F. *18 Fungi and Insects*. 1996;
258. Klepzig. *Bark Beetle-Fungal Symbiosis : Context Dependency in Complex Associations*. 2004;37:189-205.
259. Camenzuli L, Dam R Van, Rijk T De, Andriessen R, Schelt J Van. Article Tolerance and Excretion of the Mycotoxins Aflatoxin B1, Zearalenone, Deoxynivalenol, and Ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from Contaminated Substrates. 2018;
260. Park HS, Jun SC, Han KH, Hong SB, Yu JH. Diversity, Application, and Synthetic Biology of Industrially Important *Aspergillus* Fungi. *Adv Appl Microbiol*. 2017;100:161-202.
261. Bucheli et al. *Aspergillosis en aves, revisión sistemática y meta-análisis*. 2018;1-37.
262. Brochard G. *Mycotoxines en milieu de travail*. 2009;299-323.
263. Jin F, Hu S, Wang B, Jin L. *Advances in Genetic Engineering Technology and Its Application in the Industrial Fungus Aspergillus oryzae*. 2021;12(February):1-14.
264. Minemura A, Kitamura R, Sano M, Osawa S. Degradation of formaldehyde by *Aspergillus oryzae*. 2015;51(3):69-74.
265. Chen X, Chen X, Zhou J, Ding Q, Luo Q, Liu L. Morphology engineering of *Aspergillus oryzae* for l-malate production. 2019;0-2.
266. Feng W, Liang J, Wang B, Chen J. Improvement of kojic acid production in *Aspergillus oryzae* AR-47 mutant strain by combined mutagenesis. *Bioprocess Biosyst Eng* [Internet]. 2019;0(0):0. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-019-02079-9>
267. Indumathi A, Gayathri T, Biotechnology E, Nadu T, Nadu T. Plastic Degrading ability of *Aspergillus oryzae* isolated from the garbage dumping sites of Thanjavur , India. 2016;3(3):8-13.
268. Chen Y, Ugiyama YS, Irota AH. Isolation of a New Metabolite from Biotransformation of Daidzein by *Aspergillus oryzae*. 2009;73(8):1877-9.
269. Wang C, Huang Y, Zhao J, Ma Y, Xu X, Wan Q, et al. *Veterinary Parasitology* First record of *Aspergillus oryzae* as an entomopathogenic fungus against the poultry red mite

- Dermanyssusgallinae. 2019;271(March):57-63.
- 270.Saleh AA. THE EFFECT OF FEEDING ASPERGILLUS ORYZAE ON GROWTH PERFORMANCE , CARCASS PARAMETERS AND SOME BIOCHEMICAL TRAITS THE EFFECT OF FEEDING ASPERGILLUS ORYZAE ON GROWTH PERFORMANCE , CARCASS PARAMETERS AND SOME BIOCHEMICAL TRAITS OF BROILERS. 2014;(December 2012).
- 271.Nguyen HT, Yu NH, Jeon SJ, Lee HW, Bae CH, Yeo JH, et al. Antibacterial activities of penicillic acid isolated from *Aspergillus persii* against various plant pathogenic bacteria. *Lett Appl Microbiol.* 2016;62(6):488-93.
- 272.Zotti M, Machetti M, Perotti M, Barabino G, Persi A. A new species , *Aspergillus persii* , as an agent of onychomycosis. 2010;(October 2009):656-60.
- 273.lawkittayakorn J, Kuechoo K, Sukpondma Y, Rukachaisirikul V. Lovastatin Production by *Aspergillus sclerotiorum* Using Agricultural Waste. 2020;58(2).
- 274.Zheng J, Xu Z, Wang Y, Hong K, Liu P, Zhu W. Cyclic Tripeptides from the Halotolerant Fungus *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. 2010;62:1133-7.
- 275.Kang SW, Kim SW. New antifungal activity of penicillic acid against *Phytophthora* species. 2004;695-8.
- 276.Brysch-Herzberg M, Groenewald M, Dlačny D, Seidel M, Péter G. *Hyphopichia lachancei*, f.a., sp. nov., a yeast species from diverse origins. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol.* 2020;113(6):773-8.
- 277.Groenewald M, Smith MT. Re-examination of strains formerly assigned to *Hyphopichia burtonii*, the phylogeny of the genus *Hyphopichia*, and the description of *Hyphopichia pseudoburtonii* sp.nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010;60(11):2675-80.
- 278.Deak T. Handbook of Food Spoilage Yeasts. *Handb Food Spoilage Yeasts.* 2007;
- 279.Ren YC, Liu ST, Li Y, Hui FL. *Pichia dushanensis* sp. nov. and *Hyphopichia paragotii* sp. nov., two sexual yeast species associated with insects and rotten wood. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65(9):2875-81.
- 280.Hossain T, Miah AB, Mahmud SA, Mahin A Al. Enhanced Bioethanol Production from Potato Peel Waste Via Consolidated Bioprocessing with Statistically Optimized Medium. *Appl Biochem Biotechnol.* 2018;186(2):425-42.
- 281.Gutiérrez-Rojas I, Moreno-Sarmiento N, Montoya D. Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Rev IberoamMicol.* 2015;32(1):1-12.
- 282.Woo PCY, Leung S, Ngan AHY, Lau SKP, Woo PCY, Leung S, et al. A significant number of reported *Absidia corymbifera* (*Lichtheimia corymbifera*) infections are caused by *Lichtheimia ramosa* (syn . *Lichtheimia hongkongensis*): an emerging cause of mucormycosis A significant number of reported *Absidia corymbifera* (*Lich.* 2019;1751. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/emi.2012.11>
- 283.Bizarria R, Pagnocca FC, Rodrigues A. Yeasts in the attine ant–fungus mutualism: Diversity, functional roles, and putative biotechnological applications. *Yeast.* 2021;(August):1-15.
- 284.Kurtzman CP, Robnett CJ. Multigene phylogenetic analysis of the *Trichomonascus*, *Wickerhamiella* and *Zygoascus* yeast clades, and the proposal of *Sugiyamaella* gen. nov. and 14 new species combinations. *FEMS Yeast Res.* 2007;7(1):141-51.

285. Pérez-Hansen A, Lass-Flörl C, Lackner M, Aigner M, Alastruey-Izquierdo A, Arikan-Akdagli S, et al. Antifungal susceptibility profiles of rare ascomycetous yeasts. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(9):2649-56.
286. Spatafora JW, Chang Y, Benny GL, Lazarus K, Smith E, Berbee ML, et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. 2017;5514.
287. Desiro et al. Rapid report Endogone , one of the oldest plant-associated fungi , host unique. 2014;
288. Alastruey-izquierdo A, Hoffmann K, Hoog GS De, Rodriguez-tudela JL, Voigt K, Bibashi E, et al. Species Recognition and Clinical Relevance of the Zygomycetous Genus Lichtheimia (syn . Absidia Pro Parte , Mycocladus) □. 2010;48(6):2154-70.
289. Aparecida C, Silva DA, Priscila M, Lacerda F, Simões R, Leite R. Production of enzymes from Lichtheimia ramosa using Brazilian savannah fruit wastes as substrate on solid state bioprocessess. 2013;16.
290. Schwartz et al. Lichtheimia Species Exhibit Differences in Virulence Potential. 2012;7(7).
291. Petrikos G, Skiada A, Lortholary O, Roilides E, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis. 2012;54(Suppl 1):23-34.
292. Chibucos MC, Etienne KA, Orvis J, Lee H, Daugherty S, Lockhart SR, et al. The genome sequence of four isolates from the family Lichtheimiaceae. 2015;(February):1-5.
293. Wagner L, Hoog S De. A Revised Species Concept for Opportunistic Mucor Species Reveals Species-Specific Antifungal Susceptibility Profiles. 2019;63(8):1-8.
294. Cruz R. Lichtheimia corymbifera. *Rev Chil Infectol* [Internet]. 2014;31(3):339-40. Disponible en: <http://www.genome-resource.de/html/lcorymbifera/lcorymbifera.html>
295. Piancastelli C, Ghidini F, Donofrio G, Jottini S, Taddei S, Cavirani S, et al. Isolation and characterization of a strain of Lichtheimia corymbifera (ex Absidia corymbifera) from a case of bovine abortion. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:1-7.
296. Christon L. Understanding Terrestrial Microbial Communities - Google Libros [Internet]. 2019 [citado 9 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?id=aCePDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=g_bs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
297. Gonçalves FA, Simões R, Leite R, Rodrigues A, Janet E, Argandoña S, et al. Isolation, identification and characterization of a novel high level β -glucosidase2 producing Lichtheimia ramosa strain. *Biocatal Agric Biotechnol* [Internet]. 2013; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2013.06.006>
298. Schwartz VU, Jacobsen ID. Mucormycoses caused by Lichtheimia species. 2014;57:73-8.
299. Arrúa A, Alejandra, Arrúa, Moura Méndez J, Ríos DF, Casal Martínez C. Aspergillus y micotoxinas RESUMEN. *Rev UN Med.* 2013;2(1):141-69.
300. Koonjan S, Cooper CJ, Nilsson AS. Complete Genome Sequence of ν B _ EcoP _ SU7 , a Podoviridae Coliphage with the Rare C3 Morphotype. 2021;1-11.
301. Ren H, Li Z, Xu L, Li X, Wang L, Xu Y. Genome sequence analysis of Vibrio parahaemolyticus lytic phage Vp _ R1 with a C3 morphotype. 2019;(0123456789).
302. Korf IHE, Meier-koltho JP, Adriaenssens EM, Kropinski AM, Nitz M, Rohde M, et al. Still Something to Discover : Novel Insights into Escherichia coli Phage Diversity and Taxonomy. 2019;1-29.

303. Sieiro C, Areal-hermida L, Pichardo-gallardo Á, Almuiña-gonz R, Miguel T De, Sandra S, et al. A Hundred Years of Bacteriophages : Can Phages Replace Antibiotics in Agriculture and Aquaculture ? 2020;
304. O'Brien KM, Chimenti MS, Farnell M, Tabler T, Bair T, Bray JL, et al. High throughput genomic sequencing of bioaerosols in broiler chicken production facilities. *Microb Biotechnol.* 2016;9(6):782-91.
305. Nonnenmann MW, Bextine B, Dowd SE, Gilmore K, Levin JL. Culture-independent characterization of bacteria and fungi in a poultry bioaerosol using pyrosequencing: A new approach. *J Occup Environ Hyg.* 2010;7(12):693-9.
306. Dai P, Shen D, Tang Q, Huang K, Li C. PM2.5 from a broiler breeding production system: The characteristics and microbial community analysis. *Environ Pollut [Internet].* 2020;256(xxx):113368. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113368>
307. Madsen AM, Zervas A, Tendal K, Nielsen JL. Microbial diversity in bioaerosol samples causing ODS compared to reference bioaerosol samples as measured using Illumina sequencing and MALDI-TOF. *Environ Res [Internet].* 2015;140:255-67. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.027>
308. Schefferle H. Coryneform Bacteria in Poultry Deep Litter [Internet]. [citado 24 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2672.1966.tb03462.x>
309. Voloshyn V, Tymchuk K, Symochko L, Kacaniova M, Fedoriak M. Spiders and Other Arthropods of Chernivtsi Poultry Farm (Ukraine) and the Preliminary Data About Bacteria Inhabiting Their External Surfaces. *Int J Ecosyst Ecol Sci.* 2017;7(3):587-96.
310. Tessier C, Parama Atiana L, Lagadec E, Le Minter G, Denis M, Cardinale E. Wild fauna as a carrier of Salmonella in Reunion Island: Impact on pig farms. *Acta Trop [Internet].* 2016;158:6-12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.027>
311. Graham JP, Price LB, Evans SL, Graczyk TK, Silbergeld EK. Antibiotic resistant enterococci and staphylococci isolated from flies collected near confined poultry feeding operations. *Sci Total Environ [Internet].* 2009;407(8):2701-10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.056>
312. Zurek L, Gorham JR. Insects As Vectors Of Foodborne Pathogens. *Wiley Handb Sci Technol Homel Secur.* 2008;1-15.
313. Tian B, Fadhil NH, Powell JE, Kwong WK, Moran NA. Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. *MBio.* 2012;3(6).
314. Mahmoud MAM, Abdel-Mohsein HS. Hysterical tetracycline in intensive poultry farms accountable for substantial gene resistance, health and ecological risk in Egypt- manure and fish. *Environ Pollut [Internet].* 2019;255:113039. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113039>
315. Siemianowska E, Kosewska A, Aljewicz M, Skibniewska KA, Polak-Juszczak L, Jarocki A, et al. Larvae of mealworm (&i&tTenebrio molitor&i&t; L.) as European novel food. *Agric Sci.* 2013;04(06):287-91.
316. Rumbos CI, Bliamplias D, Gourgouta M, Michail V, Athanassiou CG. Rearing *Tenebrio molitor* and *Alphitobius diaperinus* Larvae on Seed Cleaning Process Byproducts. 2021;1-12.

317. Galindo. Identificación molecular por medio del Gen COI de escarabajos de importancia sanitaria en la región avícola de Fusagasugá, Cundinamarca. 2021;
318. Chernaki L. Isolation of enteric and litter organisms from *Alphitobius diaperinus* in brooder chickens houses in west of Parana State , Brazil Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius Diaperinus* e na Cama de Aviários no Oeste do Estado do Paraná , Brasil Isolation. Rev Bras CiencAvícola. 2002;(February).
319. Levesque S, De Melo AG, Labrie SJ, Moineau S. Mobilome of *Brevibacterium aurantiacum* sheds light on its genetic diversity and its adaptation to smear-ripened cheeses. Front Microbiol. 2019;10(JUN):1-17.
320. Ethèves MA, Choisis N, Alvarez S, Dalleau F, Hascoat J, Gallard V, et al. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* persistence in broiler-chicken flocks on Reunion Island. Heliyon. 2021;7(3).
321. Velázquez. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ Tema : 2012;1-103.
322. García B, Instituto D, Animal DC. Síndrome de Mala Absorción en aves - Malabsorption síndrome in poultry. Redvet. 2010;11(12):165-72.
323. Fernández-Olmos A, García C, Sáez-Nieto JA, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Vol. 29, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011. 601-608 p.
324. Wynants E, Froominckx L, Van Miert S, Geeraerd A, Claes J, Van Campenhout L. Risks related to the presence of *Salmonella* sp. during rearing of mealworms (*Tenebrio molitor*) for food or feed: Survival in the substrate and transmission to the larvae. Food Control [Internet]. 2019;100:227-34. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.026>
325. Messens W, Hugas M, Afonso A, Aguilera J, Berendonk TU, Carattoli A, et al. Advancing biological hazards risk assessment. EFSA J. 2019;17(S1):1-10.
326. Abd El-Aziz NK, Tartor YH, Gharieb RMA, Erfan AM, Khalifa E, Said MA, et al. Extensive Drug- Resistant *Salmonella enterica* Isolated From Poultry and Humans: Prevalence and Molecular Determinants Behind the Co-resistance to Ciprofloxacin and Tigecycline. Front Microbiol. 2021;12(November).
327. Pérez de Rosas AM. Utilización de cepas de *Bacteroides* spp. como probiótico en conejos. 2014;1-181.
328. **García Alonso A. Trabajo fin de Grado: Microbiota intestinal y diabetes. 2017;1-20. Disponible en: [https://eprints.ucm.es/51326/1/ANTONIO BELTRAN MARTIN.pdf](https://eprints.ucm.es/51326/1/ANTONIO%20BELTRAN%20MARTIN.pdf)**

3. Anexos

Anexo 1. Extracción de ADN

La extracción de ADN del artrópodo *A. diaperinus* se realizó con el kit de extracción ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep (ZymoResearch, CA, USA), puesto que está diseñado para purificar el ADN de una amplia gama de muestras para el análisis de microbioma o metagenoma.

La muestra fue vertida en los tubos ZR Bashingbead lysis, a esta se le agregó 750 µl de solución de lisis *ZymoBiomics lysis solution*. Los tubos fueron sometidos a vortex por 45 minutos a máxima velocidad. Luego se centrifugó a 10.000 g/min. Al terminar se transfirió 400 µl del sobrenadante al tubo Zymo Spin III-F filter, para ser filtrado. Enseguida se llevó a centrifugar a 8000 g por minuto, descartando el excedente de la columna Zymo spin III-Filter.

Al filtrado del tubo de recolección del paso anterior se añadió 800 µl *ZymoBiomics DNA Binding buffer* y 400 µl de etanol al 95% y se mezcló muy bien.

De la mezcla resultante se vertió 800 µl al tubo *Zymo Spin II C-Z* y se centrifugó a 10000 g por minuto, para luego descartar el filtrado. Se repitió este paso dejando el mismo tubo de recolección. Esta columna se colocó en un tubo de recolección nuevo y se añadió 400 µl de *ZymoBiomics DNA Wash buffer 1*, y se centrifugó a 10.000 g minuto descartando el filtrado. Luego se agregó 700 µl de *ZymoBiomics DNA Wash Buffer 2*, y de nuevo se centrifugó a 10000 g minuto descartando el filtrado, y se repitió esta operación.

Se transfirió la columna *Zymo Spin IIC-Z* a un tubo Eppendorf de 1,5 ml estéril y se añadió 600 µl de *ZymoBiomics DNase- RNase free water*, directamente sobre la matriz de la columna, de inmediato se incubó a temperatura ambiente 10 minutos y se centrifugó a 10.000 g por minuto. Este tubo se reservó.

Por otro lado, se colocó un tubo de *Zymo Biomics - Spin III HCR filter* a un tubo de recolección nuevo y se añadió 600 µl de *Zymo Biomics HCR solución* y se centrifugó a 8000 g por minuto, y retomando el tubo reservado, se transfirió su contenido a la columna *Zymo Biomics spin III-HRC* que debe de estar en un tubo nuevo Eppendorf de 1,5 ml, este se dejó incubar por un minuto y se centrifuga por 3 minutos a 16.000 g. Luego el producto centrifugado con el contenido del ADN requerido se sometió a PCR.

Anexo 2. Reporte de Especies con genes de resistencia en bacterias encontradas en *A. diaperinus*.

Géneros reportados en *A. diaperinus*, como vector de enfermedad en avicultura; en la primera columna, especies identificadas en adultos *A. diaperinus* en este estudio, junto al porcentaje de abundancia, en las columnas 3 y 4, los genes de resistencia a los antibióticos que han llegado a ser reportados en estas especies bacterianas.

Géneros reportados en <i>A. diaperinus</i>	Referencia	Especies identificadas en este estudio en adultos de <i>A. diaperinus</i>	Abundancia	Genes de resistencia reportados en especies identificadas	Referencia
<i>Enterococcus</i>	(Lyons 2021)	<i>E. faecalis</i>	0.40%	<i>vanA, vanB, vanC, catA, catB, fexA, fexB</i> y <i>cf</i>	(Selleck. et al, 2019)
		<i>E. faecium</i>	0.01%	vanC	(Monticelli et al., 2018)
		<i>E. gallinarum</i>	0.20%		
<i>Staphylococcus</i>	(Agabou 2010)	<i>S. lentus</i>	4.7%	<i>mec (A) erm(C),</i>	(Osei Sekyere & Mensah, 2020)
	(Godwin 1996)	<i>S. gallinarum</i>	3.2%	<i>tet(K), tet(L), van A, vanB, vanC</i> y <i>tet(O)</i>	
		<i>S. xylosus</i>	0.30%	<i>tet(K), lin(A), erm(B), bla</i>	
<i>Salmonella</i>	(Leffer et al., 2010)	<i>S. enterica</i>	0.30%	<i>erm(A) erm(B) vanA, vanB, tet(M), tet(O) tet(S), tet(K), mecA, bla</i>	(Melanovic et al 2016)
	(Scov et al., 2004)				
<i>Klebsiella</i>	(Chernaki 2002)	<i>K. aerogenes</i>	15.8%	<i>bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{IMPY}, bla_{CTX}</i>	(Bispo Beltrão et al., 2020)
		<i>K. oxytoca</i>	0.30%	KPC	
	(Galindo 2021)	<i>K. quapsipneumoniae</i>	0.20%	<i>bla_{CTX-M-2}, bla_{DHA-1}, bla_{oxa-10}</i>	(Suzuki et al., 2019)
<i>Escherichia</i>	(McAllister et al., 1996)	<i>E. coli</i>	6.60%	<i>bla_{CTXM}, bla_{SHV}</i>	(Gundran et al., 2014)

Anexo 3. Especies bacterianas identificadas en artrópodos con ARG, en su mayoría corresponde a resistencia tipo BLEE. La primera columna muestra la abundancia de las bacterias que coincide con otras investigaciones.

Patógeno	Organismo	Transmisión	Consecuencias en la salud	Referencia
Bacteria	<i>Salmonella sp.</i>	Larvas más eficientes	Anorexia y diarrea en aves jóvenes, disminución de la producción, aunque las aves pueden ser asintomáticas.	ffer et al., 2010)
	<i>Yersinia sp.</i>	Fuentes ambientales	Diarrea llegando a infección sistémica (bazo, hígado, sangre corazón)	(Strother et al., 2005)
		Adultos menos competentes		(Hakeem Lu, 2021)
	<i>Staphylococcus sp.</i>	Adulto y larva transmisión directa	Osteomielitis, abscesos	(McAllister et al., 1996)
	<i>E. coli</i>		Enteritis, lesiones fibropurulentas de sacos aéreos, pericarditis, perihepatitis, existe transmisión vertical	
<i>Streptococcus</i>	Miocarditis, tendosinovitis			
Hongo	<i>Aspergillus, Penicillium</i>	Directa (contaminación ambiental)	Enfermedad respiratoria	(Casas et al., 1973)
	<i>Fusarium, Candida</i>		Diarrea y enteritis	
	<i>Eimeria</i>		Coccidiosis intestinal	

Protozoo	<i>Histomona meliagridis</i>	Larva	áticas y cecales enaves	(Huber et al., 2007)
----------	------------------------------	-------	-------------------------	----------------------

Anexo 4. *Alphitobius diaperinus* como vector de enfermedades avícolas, nótese la capacidad de transmisión de larva y adulto de *A. diaperinus* en cada microorganismo.

Patógeno	Microorganismo	Transmisión	Consecuencias en la salud	Referencia
Virus	<i>Reovirus</i>	A / reservorio L / ineficaz	Tendosinovitis en aves	(Casas et al., 1973)
	<i>Alpharetrovirus</i>	A / reservorio	Leucosis aviar (Ostoepeptosis)	(Divev 2013)
	<i>Birnavirus aviar</i>	A / reservorio L / se replica	Dilatación del ventrículo y déficit neurológico en aves	(McAllister et al., 1996)

Anexo 5. Especies de bacterias en *A. diaperinus* que producen enzimas con aplicación biotecnológica a nivel industrial, alimenticio y farmacéutico.

Corynebacterium variabile

Resolución biocatalítica de productos farmacéuticos
Beta oxidación de lípidos



Corynebacterium ammoniagenes

Elaboración de ácido L-málico (Industria alimentaria y cosmética).
(Yonghong et al., 2010)



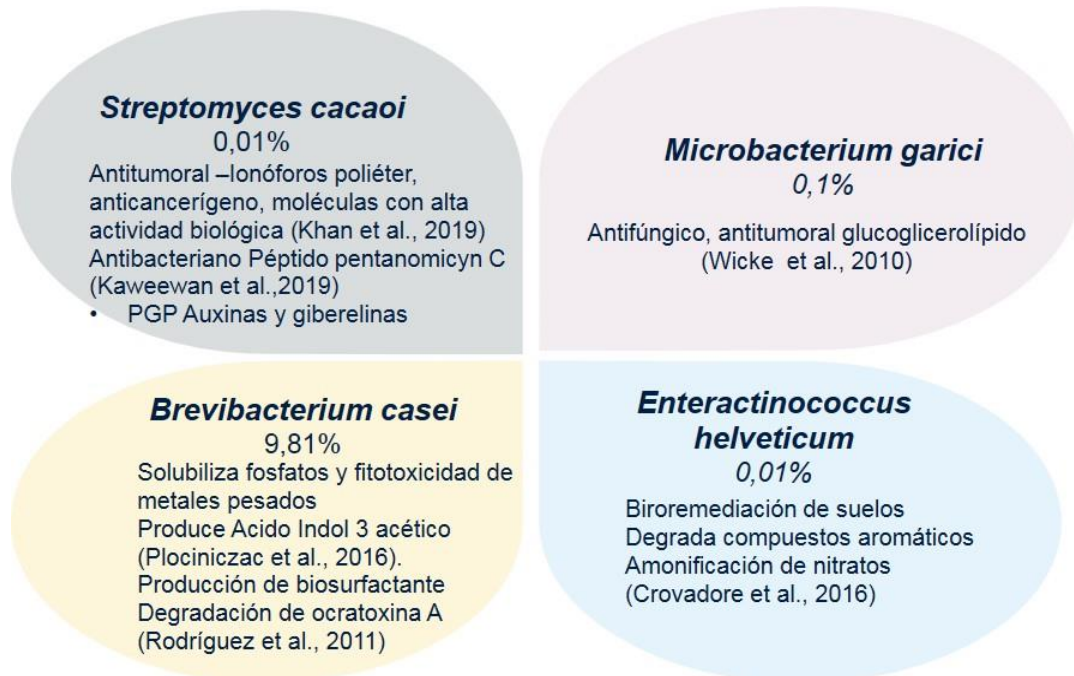
Nocardiopsis

Estabilidad en procesamiento de alimentos con pasteurización
(Bannur et al., 2015)



Degrada esterres de ftalato (vehículos de herbicidas, productos de flexibilidad a plástico)
(Yonghong et al., 2010)





Bioprospección de Actinobacterias en *A. diaperinus* adultos

Corynebacterium variabile

Resolución biocatalítica de productos farmacéuticos
Beta oxidación de lípidos



Corynebacterium ammoniagenes

Elaboración de ácido L-málico (Industria alimentaria y cosmética).
(Yonghong et al., 2010)



Nocardioopsis

Estabilidad en procesamiento de alimentos con pasteurización
(Bannur et al., 2015)



Degrada esterres de ftalato (vehículos de herbicidas, productos de flexibilidad a plástico)
(Yonghong et al., 2010)



Nocardiopsis sp.

Antifúngico
(*C. albicans*)
Antibacteriano
(Griseusinas)
Antitumoral
(Anguciclinonas)
Inmunomodulador
(Ibrahim et al., 2018)
(Romer et al., 2007)

Inhibe producción de
biofilm (Bakshi et
al., 2020)

PGP
Fitohormona
(auxinas) IAA

**Control de
Fitopatógenos**
Colletotrichum
Pythium myriotylum
(Bakshi et al., 2020)

α -amilasa
Quitinasa
Queratinasa
Proteasa
(Bennur et al., 2015)

Biosurfactante- estable
Biodegradación de
hidrocarburos
(Khopade et al., 2012)

Bioprospección de Firmicutes en *A. diaperinus* adultos

Atopostipes suiclacales

Xilanasa
(Nigam et al., 2013)

Antiaglomerante (hidrólisis
de gluten).
Blanqueamiento del papel
Degradación de lignina.

Beta
glucosidasa
(Herrera 2018)

Producción de etanol
(degradación de celulosa-
glucosa y etanol) mediante
Hidrólisis de oligosacáridos
de celulosa.

Liberación de aromas

Virgibacillus LJ137

Proteasa
(Quan Lam et al.,
2018)

Estabilidad ante iones metálicos,
pH (10)
Disolventes orgánicos,
inhibidores y detergentes.

Vagococcus carniphilus

Fosfatasa
(Nobandegani 2015)

Biodisponibilidad de fósforo

Z

Bioprospección de Bacteroidetes en *A. diaperinus* adultos



Aplicación biotecnológica de los hongos

Mucoromycota

Especie	Enzimas fúngicas	Referencia
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	Producción de lovastatina. Alcaloides secundarios con la capacidad de inhibir selectivamente el crecimiento de <i>Candida albicans</i> . Ácido penicílico con actividad <i>in vitro</i> contra especies patógenas vegetales del género <i>Phytophthora</i> spp.	lewittayakorn et al., 2020) (Zheng et al., 2010) (Kang & Kim, 2004).
<i>Aspergillus oryzae</i>	Degradación de gluten Enzimas hidrolíticas para fermentación. Micelios con alto poder de degradar formaldehído. L-malato como conservante alimentario y compuesto aromatizante. Acción biodegradable de plástico a través de la cutinasa. Biocontrol de <i>Dermanysus gallinae</i> .	(F. Jin et al., 2021) (X. Chen et al., 2019). (Indumathi et al., 2016)

Especie	Enzimas fúngicas	Referencia
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	Producción de lovastatina. Alcaloides secundarios con la capacidad de inhibir selectivamente el crecimiento de <i>Candida albicans</i> . Ácido penicílico con actividad <i>in vitro</i> contra especies patógenas vegetales del género <i>Phytophthora</i> spp.	lew Kittayakorn et al., 2020) (Zheng et al., 2010) (Kang & Kim, 2004).
<i>Aspergillus oryzae</i>	Degradación de gluten Enzimas hidrolíticas para fermentación. Micelios con alto poder de degradar formaldehído. L-malato como conservante alimentario y compuesto aromatizante. Acción biodegradable de plástico a través de la cutinasa. Biocontrol de <i>Dermanyssus gallinae</i> .	(F. Jin et al., 2021) (X. Chen et al., 2019). (Indumathi et al., 2016)

Ascomycota

Especie	Enzimas fúngicas/aplicación biotecnológica	Referencia
<i>Hypopichia burtoni</i>	α -amilasa y glucoamilasa con la capacidad de producir bioetanol a partir de almidón. Asocio a insectos desintoxicación	(Hossain et al., 2018) (Y. C. Ren et al., 2015)