

1. Microorganismos y el árbol filogenético de la vida

Los microorganismos son organismos microscópicos, que no se pueden ver a simple vista y por lo tanto se requiere de un microscopio para su observación. Los microorganismos están distribuidos en los diferentes dominios descritos del árbol filogenético de la vida que son Archaea, Bacteria y Eukarya. Todos los microorganismos a excepción de los virus se encuentran clasificados dentro de estos tres dominios. En la figura 1 se pueden apreciar los grandes tipos de organismos vivos clasificados en el árbol filogenético de la vida, en este se pueden observar tanto los macroorganismos como los microorganismos.

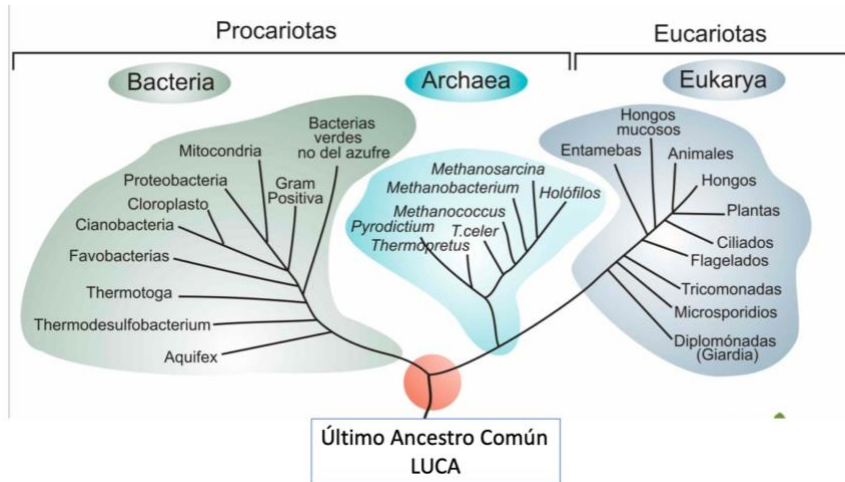


Figura1. árbol filogenético de la vida y dominios de la naturaleza. Tomado de <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/09/arbol-filogenetico.html>

Como se puede evidenciar en la figura 1, los organismos pueden clasificarse en procariotas y eucariotas. Esta clasificación está basada en el tipo de células que conforman el organismo vivo.

Células Procariotas

Las células procariotas son las células evolutivamente más antiguas y estas se caracterizan por tener una pared y membrana celular, así como por tener el material genético (ADN) de la célula distribuido en el citoplasma sin estar envuelto en una membrana nuclear y por no tener organelos especializados. (figura 1). Los únicos organismos vivos que tienen este tipo de estructura celular son las bacterias y arqueobacterias, las cuales se clasifican como microorganismos. Las células procariotas únicamente están presentes en organismos unicelulares, es decir organismos que están compuestos por una única célula y que a partir de esta pueden desarrollar todos sus procesos metabólicos incluidos los mecanismos de nutrición y la reproducción.

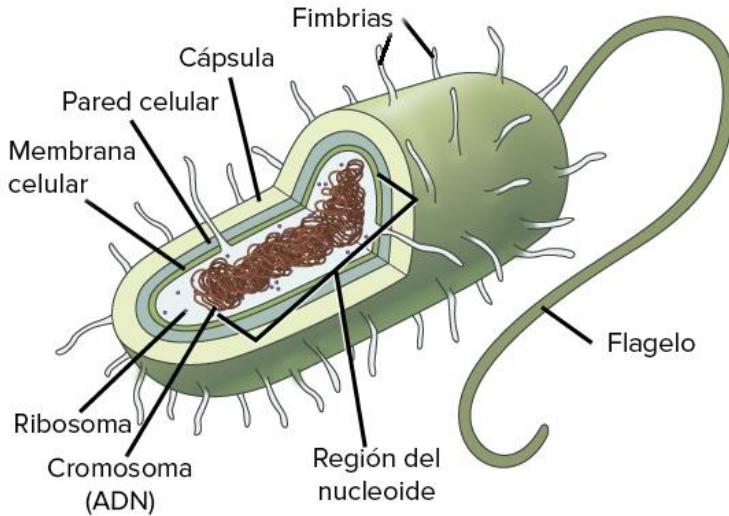


Figura 1. Estructura de una célula procariota. Tomado de <http://onlineedubook.pbworks.com/w/page/132930816/C%C3%A9lulas%20Procariotas%20y%20Eucariotas>

Células Eucariotas

Las células eucariotas a nivel evolutivo son más recientes que las procariotas, por tal razón han desarrollado estructuras más complejas que las células procariotas. La gran diferencia entre células eucariotas y procariotas es que mientras las eucariotas tienen su material genético ADN, separado del resto de la célula mediante una membrana nuclear, las procariotas tienen distribuido el material en el citoplasma; por eso se suele decir que las células eucariotas tienen núcleo verdadero.

Por otra parte las células eucariotas, además del nucleó, poseen otros organelos como mitocondrias o cloroplastos, aparato Golgi y retículo endoplasmático. Así mismo dependiendo del organismo del cual haga parte este tipo de células, estas pueden o no tener pared celular; así como por ejemplo los macroorganismos como las plantas y los microorganismos como los hongos filamentosos, levaduras, microalgas tienen pared celular mientras que los macroorganismos como los animales y microorganismos como los protozoos no poseen esta pared.

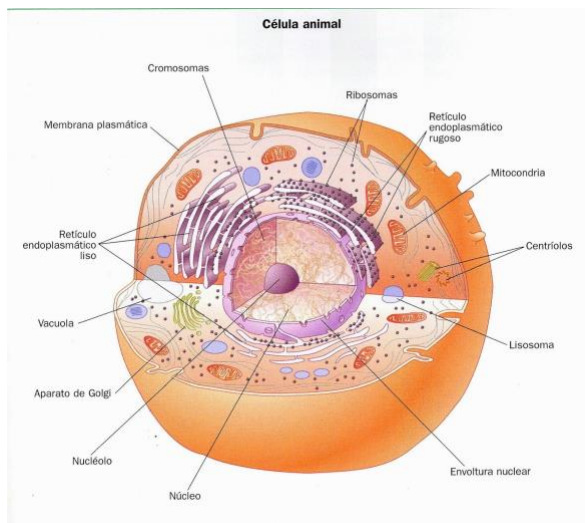


Figura 2. Célula eucariota. Tomado de <https://www.pinterest.cl/pin/594827063266108097/>

2. Diversidad microbiana

Dentro de los microorganismos se pueden contar siete clases diferentes de ellos dentro de los cuales se cuentan las bacterias, las arqueobacterias, las levaduras, los hongos filamentosos o miceliales, las micro algas, los protozoos y los virus. En la figura 4 se presenta la clasificación de estos microorganismos teniendo en cuenta los dominios de la naturaleza a los que pertenecen. Las bacterias son los únicos microorganismos dentro del dominio bacteria y de forma similar las arqueobacterias son el único microorganismo clasificados dentro de el dominio Archaea, mientras que el dominio Eukarya presenta mayor diversidad de microorganismos, en este se encuentran 4 diferentes tipos de microorganismos: las levaduras, los hongos filamentosos, los protozoos y las levaduras. Una vez mas en esta figura 4 se evidencia que los virus no están clasificados a ningún dominio de la naturaleza.

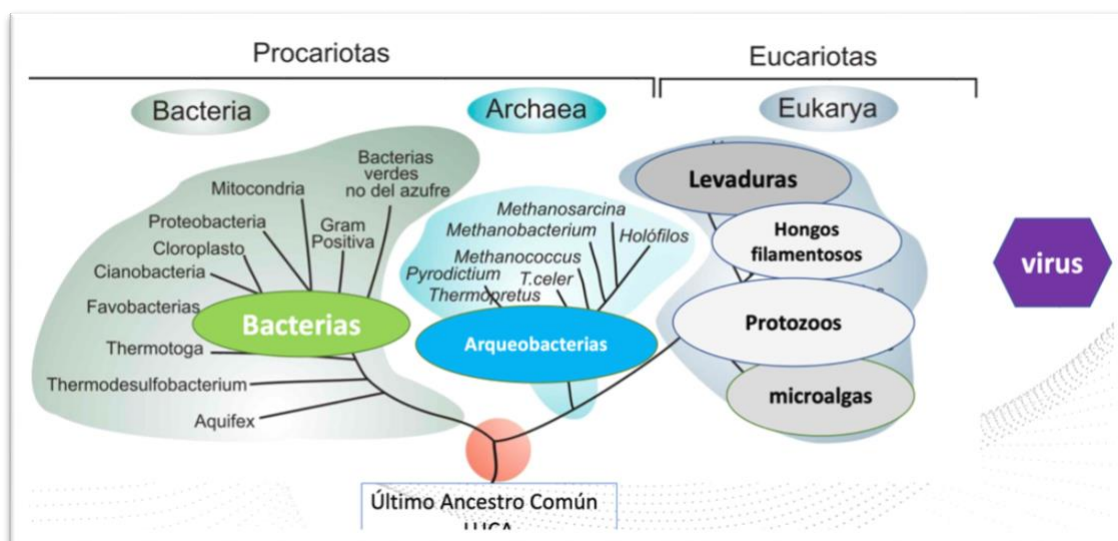


Figura 4. Clasificación de los microorganismos de acuerdo al dominio de la naturaleza y al tipo celular (procariota o eucariota)

2.1 Microorganismos Procariotas

Dentro de los microorganismos procariotas se encuentran las arqueobacterias y las bacterias, estos microorganismos son similares en cuanto a morfología (figura 5), pero a nivel estructural y genético es donde están sus diferencias. De hecho hace más de treinta años, con frecuencia no se hacía distinción entre bacterias y arqueobacterias.

La morfología microscópica de los microorganismos procariotas puede clasificarlos en cocos, bacilos, espirilos y espiroquetas (figura 5).

Algunos microorganismos procariotas poseen una estructura denominada flagelo que proporciona movilidad, esta característica permite clasificarlos como microorganismos móviles o sin movilidad.

Los microorganismos procariotas se reproducen asexualmente mediante el mecanismo de fisión binaria y su tiempo de generación puede variar de 2 a 6 horas aproximadamente obteniéndose cultivos en 24 a 48 horas.

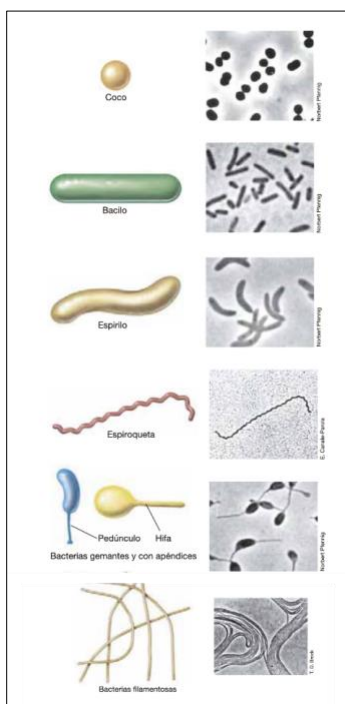


Figura 5. Morfología de bacterias y arqueobacterias, al lado izquierdo se encuentran las formas típicas y al lado derecho se muestra la forma como se ven estos microorganismos al microscopio. Madigan, M. (2015).

2.1.1 Arqueas o arqueobacterias

Las arqueobacterias son microorganismos unicelulares que pertenecen al dominio Archaea. Algunos de estos microorganismos son reconocidos por ser capaces de habitar ambientes extremos por sus temperaturas, pH, disponibilidad de oxígeno, o agua. Así por ejemplo, algunos de ellos se caracterizan por vivir en aguas termales o en lava de volcán, otros viven en ambientes con alta concentración de sal, llamados microorganismos halófilos.

Algunos ejemplos de arqueobacterias son: *Sulfolobus sp.*, *Desulforococcus sp.*, *Pyrodictium sp.*, *Thermoproteus sp.*, *Thermofilum sp.*, *Halobacterium sp.* y *Methanobacterium* entre otros



Figura 6. Ejemplo de la arqueobacteria *Methanobacterium thermoautotrophicum*. Tomado de http://web.mst.edu/~djwesten/MoW/BIO221_2002/Methanobacterium_thermoautotrophicum.htm

2.1.2 Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas unicelulares pertenecientes al dominio Bacteria que habitan la mayoría de los ecosistemas. Dentro de estos microorganismos se encuentran patógenos ampliamente conocidos como la *Escherichia coli* y microorganismos inocuos que incluso son utilizados en la fabricación de alimentos, dentro de estos se puede referenciar a *Lactobacillus bulgaricus* usados en la fabricación de yogurt.

Las bacterias tienen una amplia diversidad a nivel morfológico, nutricional y metabólico. Estas pueden obtener su energía a partir de la Luz y dióxido de carbono es decir son fotosintéticas como por ejemplo las Cianobacterias; otras son quimiorganotrófas es decir que obtienen energía a partir de compuestos orgánicos como la glucosa, o quimiolitotrofas que se nutren de compuestos inorgánicos como el azufre.

El tamaño de las bacterias es de 0.5 a 5 μm , similar al de las arqueobacterias.

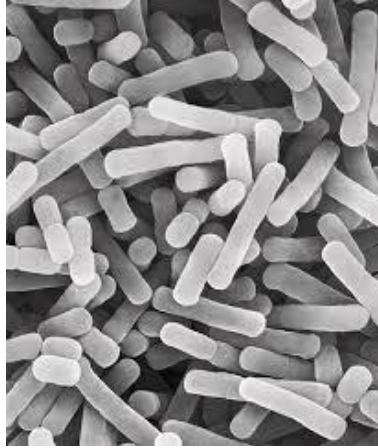


Figura 7. *Lactobacillus bulgaricus* vista en un microscopio electrónico de barrido.
Tomado de <https://fineartamerica.com/featured/3-lactobacillus-bulgaricus-dennis-kunkel-microscopyscience-photo-library.html>

Teniendo en cuenta la estructura de la pared celular y su reacción a la tinción diferencial de Gram, se pueden clasificar en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas.

Las bacterias Gram positivas poseen una pared celular conformada en su mayoría por un 90% de peptidoglicano y cuando son teñidas con la tinción de Gram (cristal violeta, lugol, alcohol acetona y safranina) presentan una coloración morada.

Las bacterias Gram negativas poseen una pared celular con una capa externa de lípidos y una capa interna de 10 % de peptidoglicano. Cuando estas bacterias son teñidas con la coloración de Gram presentan un color rosado.

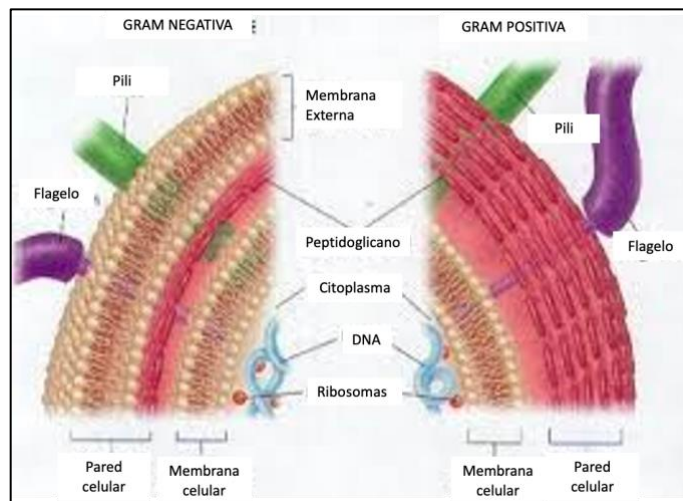


Figura 8. Estructura de la pared celular de las bacterias Gram negativas (izquierda) y de las bacterias Gram positivas.

Tomado de <https://biotechmind.wordpress.com/2015/04/01/la-tincion-de-gram-stain/>

2.2 Microorganismos Eucariotas

Dentro de los microorganismos eucariotas se encuentran las levaduras, los hongos filamentosos, las microalgas y los protozoos.

2.2.1 Hongos

Los hongos microscópicos se clasifican en dos grandes grupos, en uno de ellos están los hongos unicelulares dentro de los cuales se encuentran las levaduras y en el otro están los hongos multicelulares dentro de los que se encuentran aquellos conocidos como mohos o hongos filamentosos.

Levaduras

Son microorganismos eucariotas unicelulares del dominio Eukarya. Tienen la facultad de reproducir asexualmente por gemación y sexualmente mediante sus esporas. Estos microorganismos son capaces de crecer en aproximadamente 24 horas. Dentro de las levaduras se encuentran algunas patógenas como *Candida albicans* y otras que son aplicadas en procesos de fermentación como la *Sacharomyces cerevisiae* utilizada comúnmente en la producción del vino y la cerveza.

Las levaduras usualmente pueden llegar a tener un tamaño aproximado de $10\text{--}5\text{ }\mu\text{m}$, son organismos quimiorganotrofos y están asociados a ambientes ricos en azúcares como frutas y vegetales.

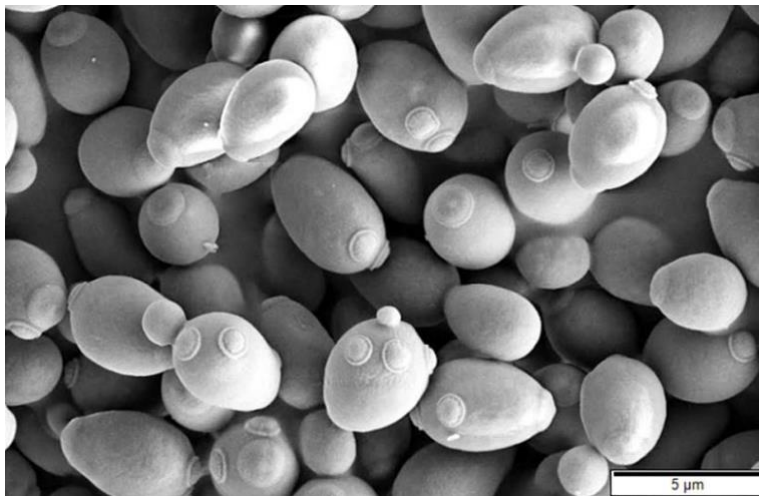


Figura 9. *Sacharomyces cerevisiae* vista en microscopio de barrido. Tomado de https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Saccharomyces_cerevisiae_SEM.jpg

Hongos Filamentosos

Estos son microorganismos eucariotas multicelulares, también son conocidos como mohos o hongos miceliares debido a la capacidad que tienen para formar micelio. Básicamente la estructura de estos hongos está conformada por hifas, cuerpos fructíferos y esporas. Las hifas pueden ser septadas o no septadas (cenocíticas), la reunión de muchas hifas se les conoce como micelio.

Estos microorganismos pueden tener un ciclo de reproducción sexual y otro asexual.

Los hongos miceliares tienen un tiempo de reproducción mayor que los microorganismos procariotas y que las levaduras. Se requieren de 3 a 5 días para evidenciar su crecimiento en cultivos a nivel de laboratorio. La mayoría de estos microorganismos se reproducen mejor en la oscuridad.

Dentro de los mohos filamentosos mas conocidos se encuentra el *Penicillium* sp. Debido a su uso en la obtención de la penicilina.

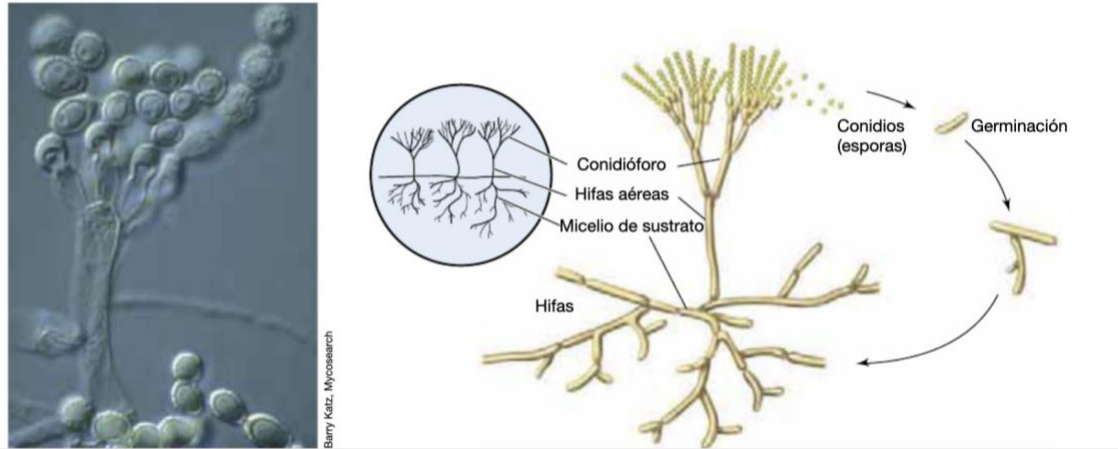


Figura 10. Morfología microscópica de los hongos filamentosos. Madigan, M. (2015).

2.2.2 Microalgas

Las microalgas son organismos eucariotas, unicelulares, fotosintéticos que pueden obtener su energía a partir de la luz y el CO₂. Su temperatura de crecimiento está entre 28° y 35°C , aunque con algunas variaciones entre las especies. El hábitat característico de estos microorganismos son los cuerpos de agua. Las microalgas son utilizadas como indicadores de la calidad del agua, ya que usualmente se desarrollan ecosistemas acuáticos ricos en nutrientes como el fosforo o nitrógeno. Así mismo, algas como *Chlorella* sp. o *Scenedesmus* .sp

Son empleadas en procesos de biorremediación de aguas residuales para la disminución de nitrógeno, fósforo, metales pesados y bacterias y virus patógenos. Las microalgas también son aplicadas a nivel industrial por ejemplo para la obtención biocombustibles a partir de *Chlamydomonas* sp.

Algunas amicroalgas pueden ser patógenas debido a que son capaces de producir toxinas como por ejemplo las ciguatoxinas, producidas por *Gambierdiscus toxicus*, que se acumulan en los pescados y mariscos que al ser consumidos pueden ocasionar intoxicaciones alimentarias.

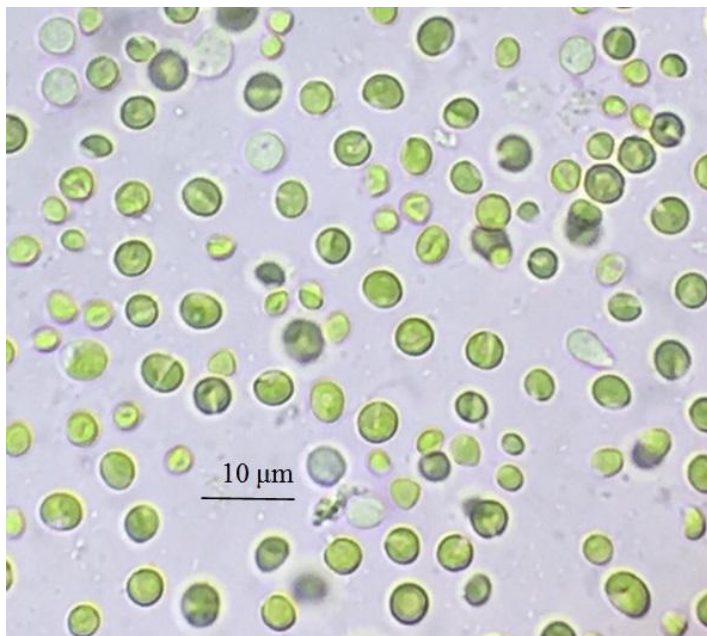


Figura 11. *Chlorella vulgaris* bajo el microscopio. Tomado de https://www.researchgate.net/figure/Chlorella-vulgaris_fig2_300505269

2.2.3 Protozoos

Los protozoos son microorganismos eucariotas unicelulares, pertenecen al dominio Eukarya y presentan un tamaño entre 3 a 1000 μm . Estos microorganismos pueden ser de vida libre como es el caso de *Naegleria fowleri*, *Hartmannella vermiformis*, *Acanthamoeba griffini*, *A. culbertsoni*, *A. castellanii* y *Vahlkampfia* spp. O pueden ser parásitos como *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli*, *Chilomastix mesnili*, *Blastocystis hominis*. Los protozoarios representan gran importancia a nivel de salud pública ya que muchos de estos pueden causar enfermedades transmitidas por el consumo de agua. *Giardia* sp. y el *Cryptosporidium* sp. son los protozoarios patógenos de mayor importancia en cuanto a la calidad del agua para diversos usos (consumo, recreación y riego de cultivos).

Cryptosporidium sp. presenta varios estadios en su ciclo de vida, el ooquiste, es una etapa latente de este parásito resistente a condiciones ambientales con capacidad para sobrevivir por largos períodos de tiempo bajo condiciones favorables. Este microorganismo es el responsable de infecciones intestinales tanto en humanos como en animales sin requerir de huéspedes intermediarios.

Giardia lamblia es un protozoo flagelado que tiene dos fases en su ciclo de vida el trofozoito y el quiste. Los quistes salen con las heces al ambiente, a 10°C pueden sobrevivir 77 días, a 20°C disminuye su viabilidad hasta 3 días. Se encuentra en el intestino delgado de varios animales y del hombre y se transmite en forma de quiste. Causa dolores estomacales, diarrea, náuseas, y otros síntomas compatibles con úlcera o gastritis.

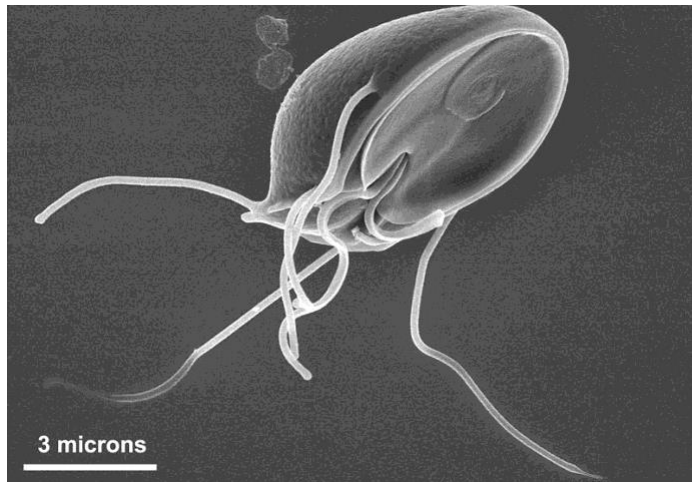


Figura 12. Trofozoito de *Giardia* sp visto al microscopio electrónico de barrido. Tomado de https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Giardia_muris_trophozoite_SEM_11643.jpg

2.2.4 Virus

Los virus son microorganismos que no se encuentran clasificados dentro de ningún dominio de la naturaleza. Son parásitos intracelulares conformados por un ácido nucleico (ADN o ARN), rodeado de una estructura proteica de nominada cápside, algunos virus tienen una capa lipídica, tomada de la célula huésped, que envuelve la capa proteica. Los virus tienen un tamaño de aproximadamente 20 a 100 nm.

Los virus se clasifican en DNA virus o RNAvirus de acuerdo con el ácido nucleico que estos contienen. También se pueden clasificar en virus envueltos (aquellos que tienen capa lipídica) o virus desnudos (los virus que no tienen capalipídica).

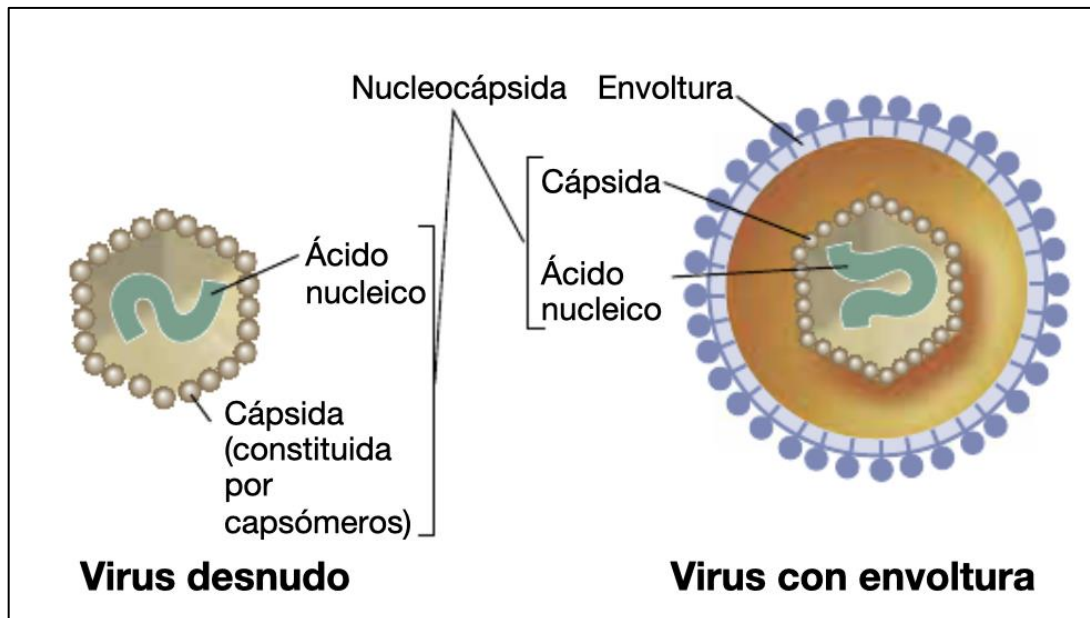


Figura 11. Estructura de un virus. Madigan, M. (2015).

3. Factores de crecimiento de los microorganismos

Los microorganismos requieren unas condiciones específicas para su crecimiento dentro de las cuales se encuentran, el pH, la temperatura, el oxígeno, la humedad, nutrientes y en algunas ocasiones luz.

3.1 Temperatura de crecimiento

De acuerdo con la temperatura a la cual crecen los microorganismos, estos se pueden clasificar en

- **Psicrófilos:** son microorganismos que crecen en un rango de temperatura por debajo de 0 hasta 12 °C, con una temperatura óptima de crecimiento de 4°C.
- **Mesófilos:** son microorganismos que crecen en un rango de temperatura por debajo de aproximadamente 10 °C hasta 45 °C, con una temperatura óptima de crecimiento entre 37°C y 39°C. La mayoría de los microorganismos patógenos pertenecen a esta clasificación.
- **Termófilos:** son microorganismos que crecen en un rango de temperatura por debajo de aproximadamente 10 °C hasta 45 °C, con una temperatura óptima de crecimiento entre 37°C y 39°C.
- **Hipertermófilos:** son microorganismos que crecen en un rango de temperatura de aproximadamente 70 °C hasta 110 °C, con una temperatura óptima de crecimiento variable de acuerdo con la especie del microorganismo.

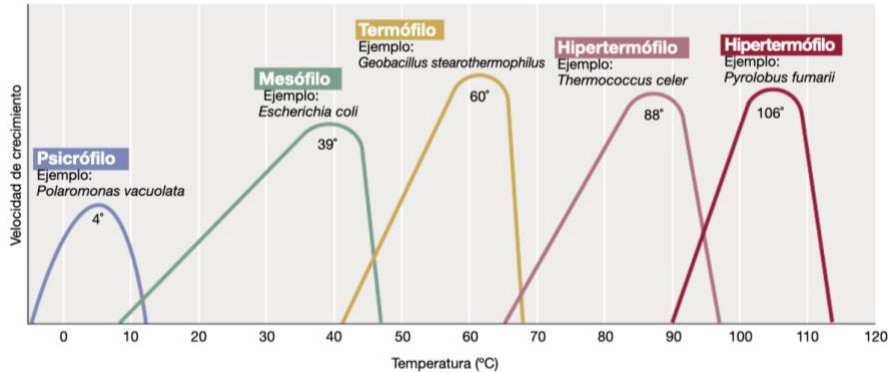


Figura 12. Clasificación de los microorganismos de acuerdo con la temperatura óptima de crecimiento. Madigan, M. (2015).

3.2 pH de crecimiento

Los microorganismos requieren de un valor específico de pH para poder crecer. De acuerdo con el valor óptimo de pH los microorganismos se pueden clasificar en:

Acidófilos: microorganismos que crecen a pH por debajo de 6.

Neutrófilos: son los microorganismos que crecen a un pH entre 6 y 8. La mayoría de los microorganismos patógenos se encuentran en este rango.

Basófilos: son los microorganismos que crecen a pH por encima de 8.

Aunque algunos microorganismos crecen a pH muy altos o bajos, el interior de la célula se mantiene en la neutralidad para poder realizar sus procesos metabólicos. En la siguiente figura se ejemplifica la escala de pH respecto al tipo de microorganismos.

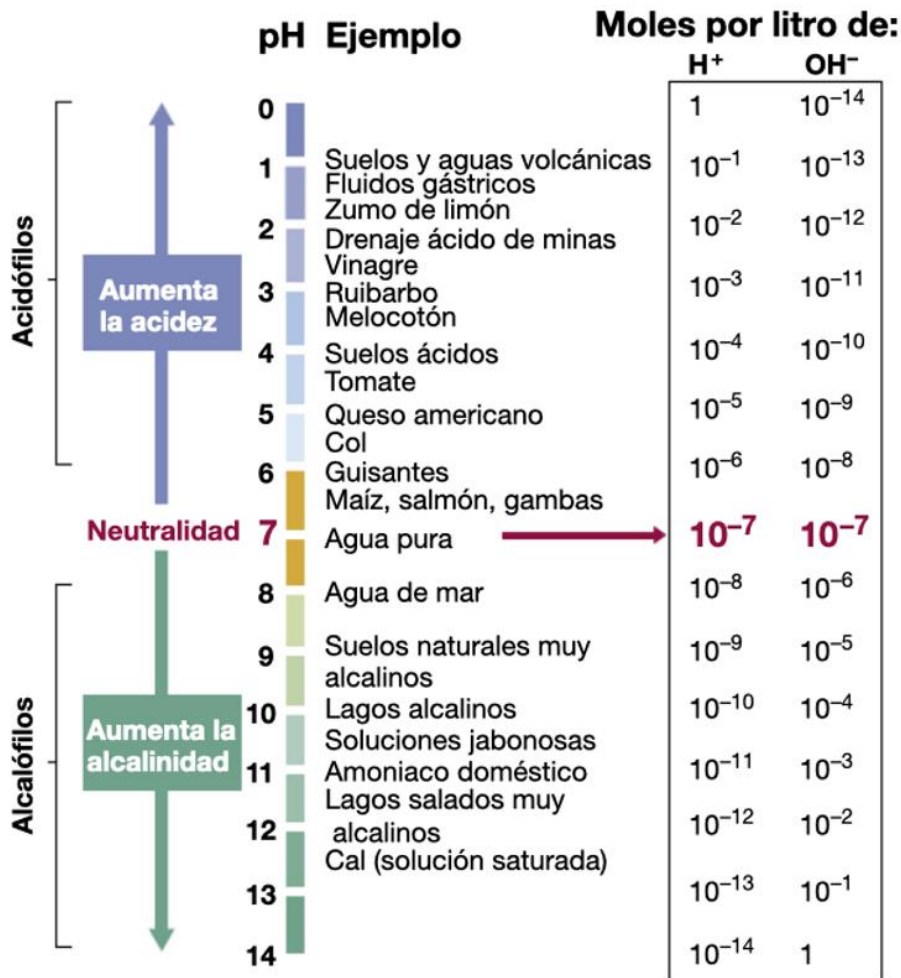


Figura 13. Escala de pH y tipos de microorganismos. Madigan, M. (2015).

3.3 Disponibilidad de Oxígeno

Los microorganismos varían de acuerdo a la disponibilidad o no de oxígeno requerida para desarrollar sus procesos metabólicos. Algunos requieren oxígeno mientras que para otros este resulta innecesario o tóxico. De acuerdo con los requerimientos de oxígeno los microorganismos se pueden clasificar en:

- **Aerobios:** son microorganismos que usan el oxígeno como aceptor final de electrones y por lo tanto requieren que este elemento este presente en el ambiente para crecer. Existen microorganismos aerobios estrictos que en ambientes con baja disponibilidad de oxígeno pueden morir.

- Anaerobios: Son microorganismos que utilizan un elemento diferente al oxígeno como aceptor de electrones y por lo tanto no requieren de este elemento para crecer. En algunos casos existen microorganismos anaerobios estrictos que en ambientes con disponibilidad de oxígeno pueden morir.
- Facultativos: son los microorganismos que tienen la facultad de crecer en ambientes con disponibilidad de oxígeno o en ausencia de este.

3.4 Humedad.

La disponibilidad de agua es un factor importante para asegurar el crecimiento de los microorganismos, la mayoría de ellos crece en ambientes con alta disponibilidad de agua, pero algunos de ellos son capaces de crecer en ambientes muy secos como por ejemplo algunos hongos. En la siguiente figura se muestran algunos ejemplos de los microorganismos de acuerdo con la disponibilidad de agua requerida.

<i>Actividad de agua (a_w)</i>	<i>Material</i>	<i>Ejemplos de organismos^a</i>
1,000	Agua pura	<i>Caulobacter</i> , <i>Spirillum</i>
0,995	Sangre humana	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i>
0,980	Agua de mar	<i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i>
0,950	Pan	La mayoría de los bacilos grampositivos
0,900	Jarabe de arce, jamón	Cocos grampositivos como <i>Staphylococcus</i>
0,850	Salami	<i>Saccharomyces rouxii</i> (levadura)
0,800	Pastel de fruta, mermelada	<i>Saccharomyces baillii</i> , <i>Penicillium</i> (hongo)
0,750	Lagos salinos, pescado en salazón	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
0,700	Cereales, caramelos, frutos secos	<i>Xeromyces bisporus</i> y otros hongos xerófilos

^aEjemplos seleccionados de procariotas y hongos capaces de crecer en medios de cultivo ajustados a la actividad de agua indicada.

Figura 14. Actividad de agua de varias sustancias y los microorganismos que pueden encontrarse en estas. Madigan, M. (2015).

3.5 Nutrición microbiana

Los microorganismos requieren nutrientes para obtener su energía, reproducirse y crecer. Dentro de los nutrientes se encuentran los macronutrientes, que son requeridos en grandes concentraciones y los micronutrientes requeridos en menor concentración. La mayoría de

microorganismos quimiorganotrofos requieren de una fuente de carbono y nitrógeno para su crecimiento los cuales usualmente son proporcionadas en forma de macronutrientes. Los microorganismos son capaces de obtener estos nutrientes de sus hábitats naturales, pero para lograr su crecimiento en laboratorio es necesario proporcionar estos nutrientes a través de medios de cultivo.

4. Medios de cultivo

Los medios de cultivo son soluciones que contienen los nutrientes y pH necesarios para el crecimiento de los microorganismos. Estos se pueden clasificar de acuerdo con su consistencia, composición y uso.

De acuerdo con su consistencia los medios de cultivo pueden ser:

- Líquidos: también denominados caldos de cultivo, estos medios no tienen en su composición ninguna sustancia gelificante.
- Sólidos: Estos medios también se conocen como agares debido a que contienen el 1.5% de agar-agar que es una sustancia gelificante. Estos medios generalmente se sirven en cajas de Petri.
- Semisólidos: estos medios tienen el 0.75% de agar-agar usualmente se utilizan para pruebas de movilidad o para el mantenimiento de los microorganismos

De acuerdo con su composición los medios de cultivo pueden ser:

- Complejos: son medios que están constituidos por sustancias cuya fórmula química no está definida por tal razón no se puede conocer la cantidad exacta de elementos como carbono, nitrógeno, fósforo entre otros. Estos medios utilizan para su formulación sustancias naturales como extractos de carne, extractos de levadura, peptonas de carne entre otros.
- Sintéticos: Estos medios de cultivo están compuestos por sustancias químicas definidas, razón por la cual se puede conocer la concentración exacta de carbono, nitrógeno, fósforo entre otros. Es decir su composición exacta es conocida o definida.

De acuerdo con su uso los medios de cultivo se pueden clasificar en:

- Medios comunes o generales: Son aquellos que contienen los nutrientes necesarios para que crezca la mayoría de los microorganismos. Dentro de los medios más comunes se encuentra el medio nutritivo.
- Medios enriquecidos: Son medios de cultivo que además de contener los nutrientes esenciales, contienen sustancias que favorecen el crecimiento de microorganismos exigentes a nivel nutricional. Uno de los más comunes es el medio Agar sangre.
- Medios selectivos: son medios de cultivo que dentro de su composición se incluyen sustancias que inhiben el crecimiento de algunos microorganismos específicos, favoreciendo el desarrollo de un microorganismo de interés.
- Medios diferenciales: son medios que además de los nutrientes esenciales, contienen sustancias indicadoras de pH o cromógenos que permiten evidenciar características

bioquímicas específicas de un o un grupo de microorganismos, permitiendo diferenciar estos de otros que no tengan dichas características.

Para poder utilizar los medios de cultivo para el crecimiento de los microorganismos es necesario someterlos a procesos de esterilización para asegurar cultivos puros, libres de contaminación.

5. Esterilización

La esterilización es un mecanismo por el que se consigue la muerte o eliminación de todos los microorganismos vivos y cualquier forma de vida como las esporas termo resistentes de una muestra, medio, materiales o superficies. Un objeto o medio estéril esta libre de microorganismos.

La esterilización se consigue generalmente por métodos físicos y químico. Dentro de los métodos físicos se encuentran la esterilización por calor seco, esterilización por calor húmedo, la filtración y las radiaciones. La esterilización química se puede conseguir mediante la aplicación de oxido de etileno, formaldehído o glutaraldehído.

5.2 Esterilización por calor seco

Esta esterilización se realiza en un horno a temperaturas entre 160 y 180°C durante 30 minutos a 3 horas, dependiendo de el tipo de material y la temperatura seleccionada. Este método se utiliza normalmente para esterilizar material de vidrio.

5.3 Esterilización por calor húmedo

Esta esterilización se realiza en un equipo denominado autoclave, el cual permite obtener altas temperaturas y presión atmosférica mediante la generación de vapor de agua. En este equipo la esterilización se logra a 121°C, 1 atmosfera de presión durante 15 minutos. Este método es comúnmente utilizado para la esterilización de medios de cultivo.

5.4 Filtración

En este método de esterilización los microorganismos son retenidos o adsorbidos en los filtros de acuerdo al tamaño del poro del microorganismo, para lograr la esterilización normalmente se usan filtros de un tamaño de poro de 0.22 μm que tiene un tamaño menor al de la mayoría de las bacterias, hongos y protozoos, sin embargo los virus o bacterias como los micoplasmas pueden atravesar estos filtros. La filtración se puede utilizar para esterilizar líquidos, aire o gases. Los medios de cultivo termo sensibles pueden ser esterilizados mediante filtración.

Referencias bibliográficas

- Institute, N. H. (s.f.). *Talking Glossary of Genetic Terms*. Obtenido de The Forefront of Genomics: <https://www.genome.gov/genetics-glossary>
- Lifeder. (2019). *Hongos filamentosos: estructuras, ciclo de vida y nutrición*. Obtenido de Lifeder: <https://www.lifeder.com/hongos-filamentosos-estructuras-ciclo-de-vida-y-nutricion/>
- lifeder. (2019). *Hongos unicelulares: funciones, usos, reproducción*. Obtenido de lifeder: <https://www.lifeder.com/hongos-unicelulares/>
- Lifeder. (2019). *Microalgas: características, clasificación y aplicaciones*. Obtenido de Lifeder: <https://www.lifeder.com/microalgas/>
- Madigan, M. (2015). Brock. *Biología de los microorganismos*. (14a. ed.) Pearson Educación. Tomado de <http://www.ebooks7-24.com.bdigital.sena.edu.co/?il=5285>
- Pérez-Uz, B., de Silóniz, M. I., Torralba, B., & Vázquez, C. (2011). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología)*, 3(5). Consultado en <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/818>
- Solarte, Y., Peña, M., & Madera, C. (2006). Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colombia médica*, 37(1), 74-82.
- Universidad de carolina del sur , instituto politecnico Nacional. (Enero de 2017). *Virología*. Obtenido de Microbiología e Inmunología: <http://www.microbiologybook.org/Spanish-Virology/spanish-chapter1.htm>