

Aplicación de luz UV-C 222 nm como estrategia para el control del biodeterioro en especímenes preservados en líquido

Aplicação de luz UV-C 222 nm como estratégia para o controlo da biodeterioração em espécimes preservados em líquido

Application of UV-C 222 nm light as a strategy for the control of biodeterioration in specimens preserved in liquid

MARÍA ALEJANDRA
GONZALEZ ^{1*} 
NELSY R. PINTO-SANCHEZ ^{1,2}
MARÍA CAMILA PATIÑO
RAMIREZ ³ 

1. Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia

2. Semillero de Evolución y Conservación (SEC), Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia

3. Facultad de Estudios del Patrimonio Cultural, Universidad Externado de Colombia, Bogotá, Colombia

*malejagon14@hotmail.com

Resumen

Las colecciones biológicas son repositorios en los cuales se almacenan registros de biodiversidad. Los procesos de biodeterioro a los que están expuestos los especímenes representan pérdidas de información, por lo tanto, es de crucial importancia evaluar tratamientos para mitigar el daño. El presente estudio evaluó la aplicación de luz UV-C 222 nm como estrategia para el control del biodeterioro microbiano en ejemplares de una colección zoológica en Colombia. Se aislaron microorganismos presentes en la superficie de especímenes y se identificaron mediante la amplificación del gen 16S rDNA y tinción de Gram. Para evaluar la actividad antimicrobiana se indujo el crecimiento de los microorganismos sobre perlas de vidrio expuestas a diferentes tiempos de exposición a luz UV-C 222 nm. Los resultados mostraron una inhibición de hasta 99,68 % en especies de *Bacillus*. Estos hallazgos respaldan el uso de la luz UV-C 222 nm como una alternativa para mitigar el biodeterioro en colecciones biológicas preservadas en líquido.

Resumo

As coleções biológicas são repositórios para armazenar registros de biodiversidade. Os processos de biodeterioração a que os espécimes estão expostos representam uma perda de informação; por isso, é crucial avaliar tratamentos para mitigar estes danos. Este estudo avaliou a aplicação de luz UV-C 222 nm como estratégia para controlar a biodeterioração microbiana em espécimes de uma coleção zoológica na Colômbia. Para tal, os microrganismos presentes na superfície dos espécimes foram isolados e identificados por amplificação do gene 16S rDNA e coloração de Gram. Para avaliar a atividade antimicrobiana, os microrganismos foram colocados em esferas de vidro expostas a diferentes tempos de irradiação com luz UV-C 222 nm. Os resultados mostraram uma inibição de até 99,68 % nas espécies de *Bacillus*. Estes achados apoiam o uso de luz UV-C 222 nm como alternativa para mitigar a biodeterioração em coleções preservadas em líquido.

Abstract

Biological collections are repositories for storing biodiversity records. The biodeterioration processes to which specimens are exposed represent a loss of information; therefore, it is crucial to evaluate treatments to mitigate this damage. This study assessed the application of 222 nm UV-C light as a strategy for controlling microbial biodeterioration in specimens from a zoological collection in Colombia. To this end, microorganisms present on the surface of specimens were isolated and identified by 16S rDNA gene amplification and Gram staining. To evaluate antimicrobial activity, microorganisms were placed on glass beads exposed to different irradiation times with 222 nm UV-C light. The results showed an inhibition of up to 99.68 % in *Bacillus* species. These findings support the use of 222 nm UV-C light as an alternative to mitigate biodeterioration in collections preserved in liquid.

PALABRAS-CLAVE

Colecciones biológicas

Bacillus

Radiación

Preservación

PALAVRAS-CHAVE

Coleções biológicas

Bacillus

Radiação

Preservação

KEYWORDS

Biological collections

Bacillus

Radiation

Preservation

Introducción

Las colecciones biológicas cumplen un papel fundamental como registros de la biodiversidad a nivel mundial. Tales colecciones están almacenadas bajo condiciones que buscan asegurar su integridad [1]. En Colombia, existen más de un millón de ejemplares vertebrados depositados en distintas instituciones, muchos de ellos preservados en soluciones líquidas como el etanol [2]. La técnica de preservación con etanol es efectiva para conservar especímenes recolectados, sin embargo, enfrenta una amenaza denominada biodeterioro.

El fenómeno del biodeterioro es causado por la actividad metabólica de microorganismos que, en condiciones favorables, causan alteraciones en las propiedades del espécimen, como el color, estructura y caracteres externos [3]. El mecanismo de acción de los microorganismos consiste en la degradación de los lípidos y proteínas que componen los tejidos de los especímenes zoológicos [4]. El biodeterioro es favorecido por múltiples factores, entre ellos, la contaminación durante la manipulación, la calidad del líquido conservante y la resistencia inherente de ciertos microorganismos al etanol.

Frente a esta situación, se han planteado diversas estrategias para mitigar el biodeterioro microbiano, entre ellas se destacan el uso de agentes químicos como biocidas tradicionales, la incorporación de aceites esenciales con propiedades antimicrobianas y métodos físicos como el choque térmico [5]. No obstante, estas alternativas suelen ser nocivas y no lograr erradicar por completo los microorganismos, lo que resulta en la persistencia de trazas latentes, aumentando así el riesgo de una posterior colonización de los ejemplares tratados [6].

Por lo mencionado, el uso de la luz UV-C 222 nm es una alternativa novedosa para mitigar el biodeterioro en colecciones. La luz UV-C 222 nm como método de desinfección ha sido ampliamente estudiado mostrando resultados efectivos en la inhibición de la actividad bacteriana, sin inducir lesiones mutagénicas en el tejido tratado [7]. En contraste, longitudes de onda convencionales como la de 254 nm han demostrado causar lesiones en la piel [8]. Sin embargo, la evidencia sobre los efectos a largo plazo de la radiación UV-C 222 nm en materiales de conservación orgánica es limitada, lo cual podría representar una restricción importante para su aplicación en especímenes preservados.

Por ende, este trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la aplicación de luz UV-C 222 nm como estrategia para el control del biodeterioro microbiano en ejemplares pertenecientes a una colección zoológica en Colombia. De manera complementaria, otro estudio relacionado [9] abordó la aplicación directa de esta radiación sobre especímenes preservados en líquido, mientras que el presente trabajo se centra en la evaluación de su efecto antimicrobiano bajo condiciones controladas. En conjunto, ambos enfoques contribuyen al desarrollo de nuevas estrategias para la conservación de colecciones biológicas preservadas en líquido y a la protección de los registros de biodiversidad que representan.

Materiales y métodos

Revisión, selección y diagnóstico de especímenes

Inicialmente, se realizó una revisión de los 645 especímenes conservados en etanol que conforman la colección. A partir de esta revisión, se seleccionaron aquellos ejemplares que presentaban posibles indicadores de crecimiento microbiano, según criterios de observación visual entre los cuales destacaban cambios en el color y turbidez del líquido presevante, así como la presencia de crecimiento microbiano visible en la superficie de los especímenes (capas lisas de colores claros). De los especímenes seleccionados, se tomaron muestras tres muestras por individuo mediante la técnica de hisopado, con el fin de evaluar la presencia de microorganismos sobre su superficie [10]. Posteriormente, las muestras obtenidas se sembraron en Agar Nutritivo a 37 °C y Agar Sabouraud a 25 °C durante 7 días, ya que estas

condiciones favorecen el crecimiento de bacterias mesófilas y hongos ambientales, respectivamente.

El Agar Sabouraud se incluyó con el fin de verificar la posible presencia de hongos, dado que este medio favorece su crecimiento. Sin embargo, no se evidenció desarrollo fúngico en las muestras, observándose únicamente crecimiento bacteriano. Es importante mencionar, que todas las siembras se realizaron por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados. Una vez obtenido crecimiento bacteriano, las colonias fueron purificadas mediante técnicas de dilución seriada y siembra por agotamiento, y se caracterizaron tanto macroscópica como microscópicamente, esta última mediante la tinción de Gram. Análisis molecular de microorganismos aislados de los ejemplares.

Tras el aislamiento de los microorganismos puros, estos fueron almacenados a una temperatura de 3,5 °C para su posterior transporte al Laboratorio Instrumental de Alta Complejidad (LIAC) de la Universidad de La Salle, entidad externa responsable del proceso de identificación molecular.

Como paso inicial, se llevó a cabo la extracción del ADN bacteriano utilizando un kit comercial (QIAGEN), siguiendo los protocolos estándar del LIAC. Este proceso incluyó la lisis celular para liberar el ADN y su posterior purificación. Es importante mencionar, que antes de la amplificación, la concentración y calidad del ADN fueron verificadas mediante espectrofotometría y observación en gel de agarosa. Posteriormente, el ADN extraído se utilizó para la amplificación del gen 16S rDNA mediante PCR, empleando los cebadores 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R(5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). Previo a la amplificación, la concentración y calidad del ADN fueron verificadas mediante espectrofotometría y observación en gel de agarosa, con el fin de asegurar la integridad del material genético y la pureza adecuada para la reacción de PCR.

El producto amplificado fue purificado y secuenciado mediante la técnica de Sanger [11]. Finalmente, las secuencias fueron analizadas con el programa BLAST Nucleotide, que realizó comparaciones con la base de datos del NCBI para la identificación de los microorganismos. Las secuencias se encuentran depositadas en NCBI/GenBank bajo los siguientes números de acceso: PX556869, PX556870, PX556871, PX556872, PX556873, PX556874 y PX556875.

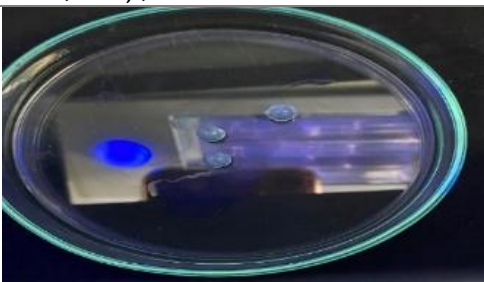
Aplicación y evaluación del efecto antimicrobiano de la luz UV-C 222 nm

Para aplicar y evaluar el efecto antimicrobiano de la luz UV-C 222 nm, se seleccionaron los microorganismos aislados de los especímenes. Considerando que los microorganismos forman biopelículas sobre la superficie de los ejemplares biológicos, se adaptó la metodología de Alharbi [12], para determinar la capacidad de la luz UV-C 222 nm para inhibir el crecimiento microbiano en especímenes conservados en líquido.

Para tal fin se realizó cultivo en caldo CASO (caldo caseína-soya, un medio nutritivo no selectivo de uso general) para cada microorganismo (10 ml de caldo con 3 colonias en cada tubo), el cual permaneció en incubación durante 24 horas a 37 °C. Posteriormente, se dispusieron perlas de vidrio estériles (4 mm) en tubos Eppendorf de 2 ml que contenían 1 ml de caldo CASO, cada tubo Eppendorf se inoculó con 100 µl del cultivo y se llevó a incubación durante 5 días a 37 °C [13]. La exposición a la luz UV 222 nm se realizó disponiendo las perlas con crecimiento en la tapa de una caja de Petri, de tal manera que la luz pueda impactar directamente sobre la superficie de la biopelícula (tres perlas por cada tratamiento y tres perlas de control sin exposición).

Es importante mencionar que las perlas se mantuvieron en la misma posición al momento de la irradiación. Dado que esta posición puede generar variaciones en la intensidad recibida, se recomienda que futuros estudios incorporen sistemas de rotación o agitación durante la exposición a la luz UV-C. Esto permitiría asegurar una irradiación más homogénea en toda la superficie de las perlas y evaluar con mayor precisión la eficacia real del tratamiento.

Tabla 1. Montaje de pruebas para la evaluación del efecto antimicrobiano.

Cámara de exposición	Perlas (montaje)
	

Se probaron diferentes tiempos de exposición a la luz UV los cuales se manejaron desde 5 a 35 minutos, con un aumento cada 10 minutos (5, 15, 25 y 35 min) [14-15]. De igual manera, se evaluó una distancia de exposición correspondiente a 8 cm bajo la lámpara que emite radiación ultravioleta de 222 nm, con irradiancia de 24,87 mW/cm² en la superficie de exposición para comprobar el efecto sobre los microorganismos de prueba [16]. Los tratamientos previamente descritos se aplicaron en una cámara de exposición construida con madera y una apertura para la lámpara UV (Gerani Far-UV Light, UV-CAN) (Tabla 1).

Tras la exposición a la luz UV 222 nm, las perlas se depositaron en un tubo Eppendorf con 2 ml de solución salina al 0,85 % estéril, y se realizó desprendimiento de los microorganismos sobre las perlas, utilizando vortex por tres minutos. De los tubos con los respectivos tratamientos, se realizaron diluciones seriadas. Posteriormente, se sembraron 0,1 ml en agar nutritivo por cada caja de Petri para el recuento de UFC/ml (Unidades formadoras de colonia sobre mililitro). Se calculó el porcentaje de inhibición con respecto al control sin exposición a la luz UV.

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{(\text{Control} - \text{Tratamiento})}{\text{Control}} * 100$$

Análisis estadístico

Considerando que los datos no siguieron una distribución normal y los valores presentes en el eje x fueron categóricos, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (H) para evaluar si el porcentaje de inhibición varía con respecto a los tiempos de exposición [17]. Tras identificar diferencias significativas, se llevó a cabo la prueba post hoc de Dunn para determinar qué pares de tiempos de exposición presentaban diferencias significativas.

Resultados

Revisión, selección y diagnóstico de especímenes

Al inicio del estudio se examinaron 645 especímenes conservados en etanol. De este conjunto, se seleccionaron 18 ejemplares pertenecientes a aves, anfibios y reptiles que presentaban posibles señales de biodeterioro, como superficies viscosas y estructuras filamentosas. Sin embargo, tras llevar a cabo el proceso de muestreo, solo cuatro especímenes mostraron crecimiento bacteriano, lo que permitió confirmar la presencia de biodeterioro en ellos. Estos casos incluyeron un ejemplar de cada uno de los siguientes grupos: ave, reptil, anfibio y mamífero como se puede evidenciar en la Tabla 2.

Tabla 2. Diagnóstico de biodeterioro en especímenes de la colección de zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad Militar Nueva Granada.

Grupo taxonómico identificado	Indicadores de biodeterioro	Registro
M-077 (Chiroptera: <i>Mimon</i>)	Presencia de capa blanca de consistencia viscosa sobre la superficie del espécimen. Turbidez amarillenta en el líquido conservante (etanol).	
Av-068 (Passeriformes: <i>Catharus</i>)	Presencia de capa café de consistencia viscosa y adherente sobre el espécimen. Turbidez amarilla en el líquido conservante (etanol).	
A-013 (Anura: <i>Rhaebo</i>)	Presencia de capa filamentosa de color verde claro sobre la superficie del espécimen.	
R-047 (Squamata: <i>Gonatodes</i>)	Presencia de capa blanca de consistencia viscosa sobre la superficie del espécimen	

Análisis morfológico de los microorganismos aislados de los ejemplares

El análisis morfológico de los microorganismos presentes en las muestras recolectadas en el numeral anterior, teniendo en cuenta las características macroscópicas de las colonias y la tinción de Gram, permitió detectar un total de cuatro morfotipos bacterianos diferentes, todos correspondientes a bacilos Gram positivos (Figura 1). Las colonias presentaron variaciones en tamaño, color y borde entre los aislamientos, y en el caso del ejemplar A-013 se observaron bacilos Gram positivos formadores de endosporas (Figura 1c). Es importante mencionar que en ninguno de los cultivos en agar Sabouraud se observó crecimiento fúngico. Este resultado puede explicarse por varios factores, entre ellos el efecto antifúngico del etanol utilizado como líquido de preservación, que podría reducir la viabilidad de esporas fúngicas asociadas a los ejemplares, así como un tamaño de muestra limitado [18].

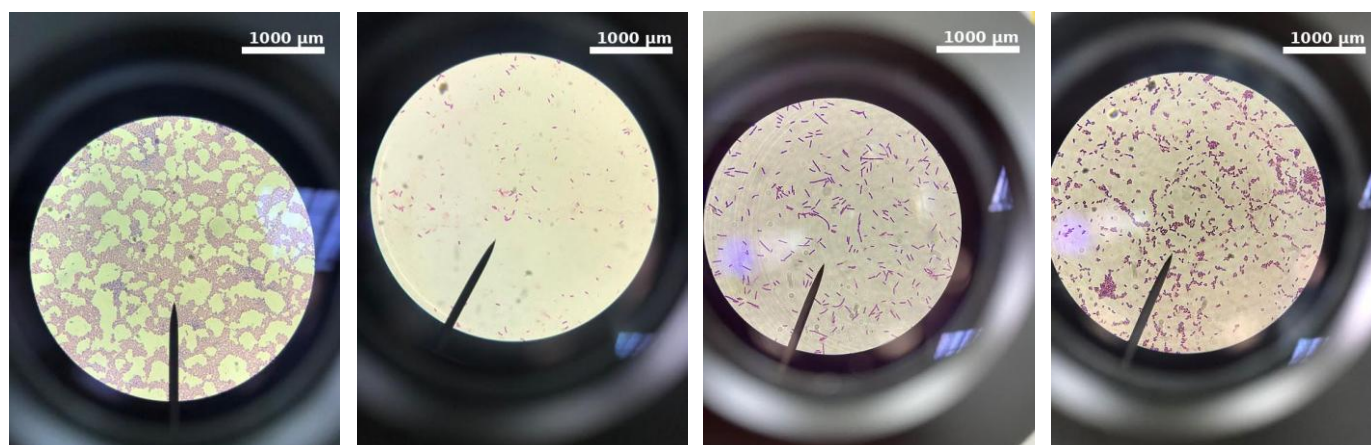


Figura 1. Vista microscópica de las colonias bacterianas aisladas de los ejemplares. a) M-077 (Chiroptera: *Mimon*); b) Av-068 (Passeriformes: *Catharus*); c) A-013 (Anura: *Rhaebo*); d) R-047 (Squamata: *Gonatodes*).

Análisis molecular de microorganismos aislados de los ejemplares

Las bacterias aisladas fueron secuenciadas utilizando amplificación en el gen 16S rDNA. La amplificación permitió la identificación de distintas especies bacterianas con altos niveles de similitud, reflejados en los porcentajes de identidad obtenidos mediante el programa BLAST Nucleotide (Tabla 3).

Tabla 3. Identificación de especies bacterianas aisladas mediante secuenciamiento del gen 16S rDNA. Identificación de ejemplares. El porcentaje de identidad se refiere a que tan parecidas son dos secuencias de ADN, siendo 100 %=idénticas y 0 %= totalmente diferentes.

Ejemplar	Especie identificada	Porcentaje de identidad (%)
M-077 (Chiroptera: <i>Mimon</i>)	<i>Bacillus tequilensis</i>	99,36
	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Subtilis</i>	
	<i>Bacillus siamensis</i>	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	
Av-068 (Passeriformes: <i>Catharus</i>)	<i>Bacillus velezensis</i>	99,77
	<i>Bacillus subtilis</i>	
	<i>Bacillus tequilensis</i>	
	<i>Bacillus licheniformis</i>	
A-013 (Anura: <i>Rhaebo</i>)	<i>Bacillus safensis</i>	99,58
R-047 (Squamata: <i>Gonatodes</i>)	<i>Bacillus subtilis</i>	99,37
	<i>Bacillus tequilensis</i>	
	<i>Bacillus sonorensis</i>	
	<i>Bacillus rugosus</i>	
	<i>Bacillus velezensis</i>	

Es importante mencionar que en los casos en que BLAST arrojó varias especies con el mismo porcentaje de identidad, consideramos que todas esas posibles asignaciones taxonómicas tenían la misma probabilidad, es decir, que cada especie era igualmente probable.

Aplicación y evaluación del efecto antimicrobiano de la luz UV-C 222 nm

Las bacterias extraídas y analizadas a partir de los ejemplares de la colección alcanzaron una reducción de 2 a 3 unidades logarítmicas en la concentración de UFC/ml respecto al control (concentración inicial). A los 5 minutos de exposición a luz UV-C 222 nm, la reducción varía entre 1 y 2 unidades logarítmicas, mientras que, a los 15 minutos de exposición a luz UV-C222 nm, la disminución comienza a acercarse a las 3 unidades logarítmicas en las bacterias evaluadas. Se evidencia que, en el control, donde no hay exposición a la luz UV-C 222 nm, la concentración de bacterias es elevada (Figura 2). A partir de los 5 minutos de exposición a la luz UV-C 222 nm, se observa una disminución de la concentración bacteriana. Este descenso alcanza los valores más bajos en los tiempos prolongados correspondientes a 25 y 35 minutos.

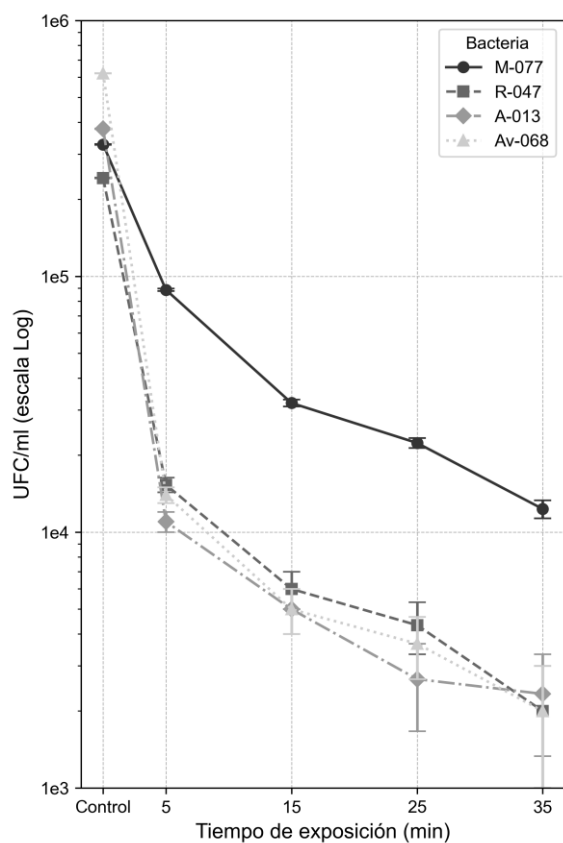


Figura 2. Recuento en placa en función del tiempo de exposición a luz UV-C 222 nm de bacterias aisladas de ejemplares. Identificación de ejemplares de la colección de zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad Militar Nueva Granada.

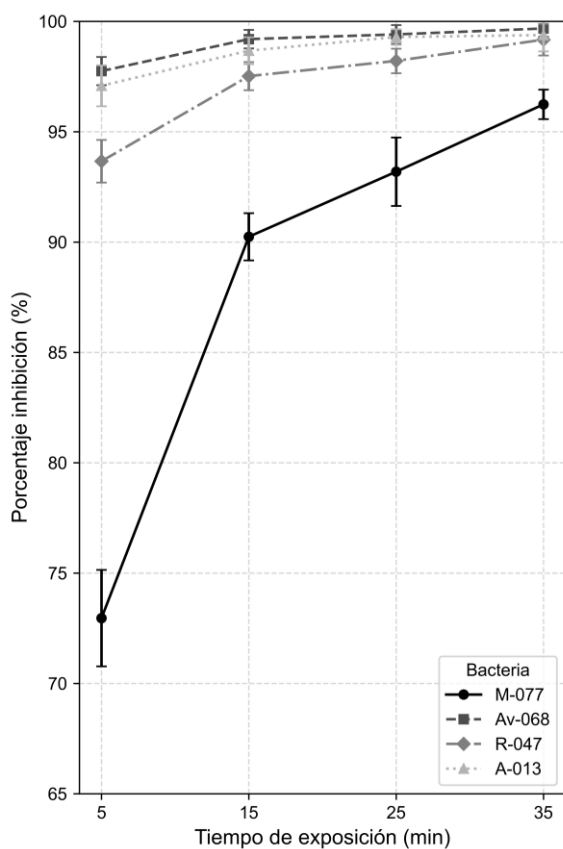


Figura 3. Porcentaje de inhibición de bacterias aisladas a partir de los ejemplares tras la exposición a luz UV-C 222 nm en diferentes tiempos. Identificación de ejemplares de la colección de zoología “José Ricardo Cure Hakim” de la Universidad Militar Nueva Granada.

En relación con los porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano obtenidos para cada una de las bacterias aisladas por ejemplar, se observó que a partir de los 5 minutos de exposición a luz UV-C 222 nm, la mayoría de las cepas bacterianas alcanzaron niveles de inhibición cercanos al 90 %. A los 15 minutos de exposición, los porcentajes de inhibición aumentaron considerablemente, acercándose al 99 % en la mayoría de los casos. Es importante mencionar que este patrón no se evidenció para la bacteria aislada de un mamífero (M-077), ya que esta inicia con inhibición del 72 % a los 5 minutos y termina con inhibiciones cercanas al 96 % a los 35 minutos de exposición a luz UV-C 222 nm (Figura 3).

Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los distintos tiempos de exposición, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (H), la cual evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($H = 11.09$, $p = 0.012$). Posteriormente, se realizó un análisis post hoc mediante la prueba de Dunn, identificándose diferencias significativas únicamente entre los tratamientos de 5 y 15 minutos de exposición ($p = 0.015$). A partir de los 15 minutos, no se detectaron diferencias significativas entre los grupos, lo que sugiere que los niveles de inhibición se estabilizan y permanecen similares en tiempos de exposición mayores.

Discusión

Diagnóstico y caracterización de indicadores de biodeterioro

Únicamente 4 de los 18 especímenes con indicadores visuales de biodeterioro mostraron crecimiento de microorganismos (bacterias) en el medio nutritivo, confirmando así la existencia de biodeterioro microbiano. Lo anterior puede explicarse por diversos factores. En primer lugar, el crecimiento microbiano depende de condiciones ambientales específicas, como humedad, temperatura y composición del sustrato, las cuales deben ser favorables para su desarrollo. Por otra parte, los signos visibles de biodeterioro pueden tener orígenes no biológicos, como reacciones químicas provocadas durante la conservación de los especímenes [19].

En algunos de los especímenes que no presentaron crecimiento microbiano se observaron capas viscosas de color rosado y amarillo, que podrían haberse originado por la descomposición de compuestos orgánicos en el líquido conservante (etanol). Además, la presencia de capas filamentosas sobre los especímenes puede deberse a la manipulación y/o al propio animal en el momento de la colecta. En el ambiente natural, los especímenes pueden portar residuos de materia orgánica o material externo adherido a su superficie, lo que posteriormente puede dar lugar a la formación de estas capas en condiciones de almacenamiento. Por lo anterior, es fundamental complementar los análisis visuales con estudios microbiológicos para lograr una evaluación precisa del biodeterioro en colecciones biológicas.

En este contexto, no basta con constatar la presencia de microorganismos en el ambiente de conservación, sino que es necesario distinguir entre contaminación ambiental y una actividad de biodeterioro. Algunas especies de *Bacillus* pueden actuar como contaminantes transitorios, sin desempeñar un papel activo en la degradación de los tejidos preservados. Por ello, la interpretación de los aislamientos debe considerar el contexto ecológico en el que se detectan (por ejemplo, su recurrencia en zonas visiblemente dañadas, su capacidad enzimática y su compatibilidad con las condiciones físico-químicas del medio de conservación), antes de atribuirles un efecto directo sobre el biodeterioro [20]. Estas dos situaciones se diferencian porque la contaminación ambiental corresponde a microorganismos presentes de manera transitoria sin causar daño directo, mientras que la actividad de biodeterioro implica un crecimiento activo del microorganismo sobre el material, utilizando sus componentes como sustrato y produciendo degradación observable.

Análisis molecular de microorganismos aislados de los ejemplares

Se identificó que los microorganismos aislados de los ejemplares pertenecen al género *Bacillus*. Es importante resaltar que el marcador 16S rDNA tiene una resolución limitada para determinar especies dentro del grupo *Bacillus*, por lo tanto, no permite una identificación completa a nivel de especie. Debido a esta restricción, en este estudio los aislamientos se reportan de manera general como *Bacillus sp.* La asignación taxonómica a nivel de especie requeriría el uso de marcadores de mayor resolución o aproximaciones de genómica completa que se deben tener en cuenta en futuros estudios.

El género *Bacillus* ha sido registrado en diversos estudios relacionados con microorganismos presentes en colecciones zoológicas preservadas en líquido. Se ha reportado la presencia de estas bacterias en plumas y piel de aves [3]. De manera similar, se ha evidenciado la presencia de *Bacillus* en la piel de anfibios y reptiles conservados en colecciones zoológicas [21] lo que respalda los resultados obtenidos en el presente estudio. Además, se ha descrito que este género contribuye al biodeterioro de especímenes debido a su actividad enzimática. Algunas especies como *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus subtilis*, presentan una alta producción de proteasas, enzimas capaces de descomponer proteínas estructurales como el colágeno y la queratina, presentes en la piel de mamíferos, las plumas de aves y las escamas de reptiles [22].

Dando continuidad a las investigaciones sobre microorganismos presentes en colecciones biológicas, se han reportado hallazgos relevantes en otros contextos de conservación. Se han descrito especies como *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis* en una colección anatómica preservada en líquido (formaldehído) [23]. Estos resultados difieren parcialmente de los obtenidos en el presente estudio, donde no se detectaron dichas especies, posiblemente debido a diferencias en los tipos de especímenes evaluados o en el tipo de líquido preservante utilizado (etanol en este caso). No obstante, ambos trabajos coinciden en la presencia constante del género *Bacillus* en entornos de conservación, lo que refuerza su papel como un grupo microbiano recurrente en estas condiciones.

Una investigación realizada en el Museo de Auschwitz examinó el aire presente en los gabinetes donde se almacenan colecciones biológicas y evidenció que el 46 % de las muestras contenían especies como *Bacillus licheniformis* y otras pertenecientes al mismo género [24]. Asimismo, los análisis del polvo sedimentado en estos espacios confirmaron la presencia de bacilos grampositivos formadores de endosporas, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el cual se identificó la especie *Bacillus licheniformis* en el espécimen de ave analizado (Av-068). Lo anterior sugiere que las condiciones de almacenamiento y los factores ambientales juegan un papel determinante en la proliferación de microorganismos asociados al biodeterioro en colecciones zoológicas.

Aplicación y evaluación del efecto antimicrobiano de la luz UV-C 222 nm

Los hallazgos de este trabajo evidencian que la exposición a la luz UV-C 222 nm genera una reducción significativa en la concentración de microorganismos, con un efecto pronunciado a medida que aumenta el tiempo de exposición. Se observa que se alcanza un umbral de eficacia (Figura 3), donde prolongar la exposición no produce un aumento significativo en la inhibición, por lo que se recomienda limitar el tiempo de tratamiento para minimizar posibles riesgos asociados a exposiciones prolongadas [25].

No obstante, la bacteria aislada del espécimen de mamífero (M-077) presentó un comportamiento distinto al no alcanzar un umbral de estabilización como lo observado en las demás bacterias. Incluso después de 35 minutos de exposición, solo logró una inhibición del 96 %. Esto sugiere que la bacteria aislada del mamífero requiere un tiempo de exposición más prolongado para alcanzar niveles de inhibición comparables y podría estar mostrando cierta resistencia al tratamiento con luz UV-C 222 nm.

La resistencia de la bacteria mencionada frente a la luz UV-C pudo deberse a varios factores. Entre ellos se encuentra la producción de endosporas en especies como *Bacillus tequilensis* y

Bacillus siamensis las cuales pueden resistir la luz UV-C debido a su estructura robusta, la cual está compuesta por un exosporio el cual proporciona una capa adicional de protección [26]. De igual manera, se ha demostrado que diferentes especies de *Bacillus* en estado de endosporas al ser expuestas a luz UV, forman un fotoproducto (SP), el cual puede ser reparado durante la germinación de la endospora por un sistema de reparación específico llamado SP-liasa, lo cual aumenta la resistencia al daño de la radiación UV [27]. La bacteria aislada del ejemplar M-077 presenta una morfología microscópica particular de bacilos cortos (Figura 1a). En las tinciones se evidenciaron estructuras compatibles con endosporas, lo que podría contribuir a explicar su menor inhibición frente a la radiación UV-C, dada la reconocida resistencia de estas estructuras. No obstante, esta interpretación debe plantearse con cautela, ya que la tolerancia a la radiación UV en bacterias puede depender de múltiples factores adicionales. Entre ellos se incluyen procesos de fotoreactivación y mecanismos de reparación del ADN inducidos por la luz, ampliamente descritos como rutas alternativas de supervivencia frente a la radiación UV en diversos grupos bacterianos.

Los bacilos son bacterias que normalmente tienen forma de bastón, sin embargo, en su estado de endospora pueden adoptar una apariencia más corta debido a la condensación de sus estructuras internas. Esta forma compacta contribuye a la resistencia, ya que reduce la superficie expuesta a condiciones adversas (luz UV), mejorando así su capacidad para soportarlas y generar la resistencia observada en numerales anteriores [27].

Los porcentajes altos de inhibición a partir de los 15 minutos en la mayoría de las bacterias tratadas sugiere que el tratamiento genera reducción de la carga microbiana. En este sentido, se ha reportado que el uso de dosis acumulativas de luz UV-C 222 nm, con irradiancias ajustadas según los tiempos de exposición, logra una inhibición del 90 % en *Bacillus subtilis* cuando se utiliza una irradiancia de 4,0 mW/cm² [28]. Además, otros trabajos han demostrado que alcanza un 99 % de inhibición tras 20 minutos de exposición a la luz UV-C 222 nm [25]. Estos resultados son coherentes con lo observado en el presente estudio, donde se registraron porcentajes de inhibición del 99 % a partir de los 15 minutos de exposición, lo que confirma la capacidad de la luz UV-C 222 nm para reducir la carga microbiana de manera efectiva en tiempos cortos.

Conclusión

El análisis de los microorganismos presentes en los especímenes de la colección zoológica permitió identificar bacterias Gram positivas con morfología de bacilos, pertenecientes al género *Bacillus*.

La exposición a la luz UV-C 222 nm evidenció un efecto bactericida significativo. En la evaluación, se observó una reducción de la concentración bacteriana desde los primeros 5 minutos, con porcentajes de inhibición cercanos al 90 %. A partir de los 15 minutos, la inhibición se estabilizó en valores alrededor del 99 %, sin incrementos adicionales relevantes, lo que sugiere que tiempos de exposición superiores no son necesarios y podrían implicar riesgos.

Estos resultados destacan el potencial de la luz UV-C 222 nm como herramienta alternativa para la mitigación del riesgo biológico en colecciones zoológicas conservadas en líquido. No obstante, se recomiendan futuros estudios orientados a evaluar el efecto de la radiación UV-C de 222 nm sobre hongos, tejidos de ejemplares y la recolonización microbiana a largo plazo. Aunque se ha demostrado que esta longitud de onda es segura para la piel de los mamíferos, persiste la incertidumbre sobre sus efectos prolongados en los tejidos biológicos y en los materiales de los contenedores conservados con etanol.

Finalmente, este trabajo abre la posibilidad de desarrollar nuevos protocolos de preservación que incorporen la luz UV-C 222 nm como tratamiento complementario y/o preventivo para el control microbiano, contribuyendo a la preservación a largo plazo de las colecciones zoológicas y a la reducción del riesgo de biodeterioro.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a la profesora María Camila Patiño por haber propuesto la idea de este estudio, así como por su valiosa guía, acompañamiento constante y apoyo durante todo el proceso investigativo. A la Universidad Militar Nueva Granada, por el apoyo financiero y la disponibilidad de sus instalaciones y a la profesora Nelsy Rocío Pinto Sánchez, por su constante disposición y acompañamiento.

REFERENCIAS

- Trujillo, E.; Triviño, P.; Salazar, L., 'Clasificación, manejo y conservación de colecciones biológicas: una mirada a su importancia para la biodiversidad', *Momentos de Ciencia* **11**(2) (2014) 97-106, https://www.researchgate.net/publication/305682393_Clasificacion_manejo_y_conservacion_de_colecciones_biologicas_una_mirada_a_su_importancia_para_la_biodiversidad (acceso 2024-04-15).
- Arbeláez-Cortés, E.; Acosta-Galvis, A.; Donascimento, C.; González Alvarado, A.; Medina, C., 'Knowledge linked to museum specimen vouchers: measuring scientific production from a major biological collection in Colombia', *Scientometrics* **112**(3) (2017) 1323-1341, <https://doi.org/10.1007/s11192-017-2461-4>.
- Carrillo Chavez, L. M.; Arias Bermúdez, N.; Nieto Vanegas, M. J.; Pinto Sanchez, N. R.; Patiño, M. C., 'Study of biodeterioration and evaluation of proteolytic activity caused by microorganisms in specimens of a zoological collection in Colombia', *Conservar Patrimonio* **45** (2023) 7-20, <https://doi.org/10.14568/cp24895>.
- Arenas-Castro, H.; Muñoz-Gomez, S. A.; Uribe-Acosta, M.; Castaño-Castaño, L.; Lizarazo-Medina, P., 'Richness, cellulolytic activity, and fungicide susceptibility of fungi from a bird biological collection', *Acta Biológica Colombiana* **21**(1) (2016) 168-173, <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.49240>.
- Cappitelli, F.; Cattò, C.; Villa, F., 'The control of cultural heritage microbial deterioration', *Microorganisms* **8**(10) (2020) 2-20, <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101542>.
- Faheem, F., 'Toxic effect of Myristica fragrans essential oil against the museum pest Anthrenus verbasci (Coleoptera: Dermestidae) to control biodeterioration of animal collections', *Journal of Bio Innovation* **8**(5) (2019) 554-571, [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.jbino.com/docs/Issue05_02_2019.pdf](https://www.jbino.com/docs/Issue05_02_2019.pdf) (acceso 2026-01-12).
- Buonanno, M.; Ponnaiya, B.; Welch, D.; Stanislauskas, M.; Randers-Pehrson, G.; Sminelov, L.; Lowy, F.; Owens, D.; Brenner, D., 'Germicidal efficacy and mammalian skin safety of 222-nm UV light', *Radiation Research* **187**(4) (2017) 483-491, <https://doi.org/10.1667/RR0010CC.1>.
- Tavares, R. S. N.; Adamoski, D.; Girasole, A.; Lima, E. N.; da Silva Justo-Junior, A.; Domingues, R.; Silveira, A. C. C.; Marques, R. E.; de Carvalho, M.; Amrosio, A. L. B.; Leme, A. F. P.; Dias, S. M. G., 'Different biological effects of exposure to far-UVC (222 nm) and near-UVC (254 nm) irradiation', *Journal of Photochemistry and Photobiology* **243** (2023) 112-713, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2023.112713>.
- Pinto, N.; Gonzalez, M. A., 'Evaluación de la efectividad antimicrobiana de la luz UV-C 222 nm como estrategia de tratamiento para la preservación de especímenes biológicos en líquido de la Colección "José Ricardo Cure Hakim" de la Universidad Militar Nueva Granada', *Ge-conservación* **28** (2025) 121-131, <https://revista.ge-iic.com/index.php/revista/article/view/1404/1219>.
- Simmons, J. E.; Muñoz-Saba, Y., *Cuidado, manejo y conservación de las colecciones biológicas*, Universidad Nacional de Colombia: Conservación Internacional, Bogotá (2005) 17-75, https://www.researchgate.net/publication/266249611_Cuidado_Manejo_y_Conservacion_de_las_Colecciones_Biologicas.
- Muñoz, G.; Moreno, G.; Verri, M., 'Estandarización de un protocolo de caracterización molecular para la identificación de especie de cepas terrestres de bacterias del género *Brucella*', *Revista Sapuvet de Salud Pública* **2**(2) (2011) 39-57, <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/us/article/view/5086>.
- Alharbi, M.; Bakitian, F.; Alenzi, A., 'Evaluation of bactericidal effects of ultraviolet light C irradiation on cariogenic bacteria: An in vitro study', *BMC Oral Health* **21**(1) (2021) 406, <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01767-x>.
- Konrat, K.; Schwebke, I.; Laue, M.; Dittmann, C.; Levin, K.; et al., 'The bead assay for biofilms: a quick, easy and robust method for testing disinfectants', *PLOS ONE* **11**(6) (2016) e0157663, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157663>.
- Narita, K.; Asano, K.; Naito, K.; Ohashi, H.; Sasaki, M.; Morimoto, Y.; Igarahi, T.; Nakane, A., 'Ultraviolet C light with wavelength of 222 nm inactivates a wide spectrum of microbial pathogens', *Journal of Hospital Infection* **105**(3) (2020) 459-467, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.03.030>.
- Fukuda, S.; Nishikawa, J.; Kobayashi, Y.; Okabe, Y.; Fujii, T.; Kubota, N.; Otsuyama, K-I.; Tsuneoka, H.; Hashimoto, S.; Suehiro, Y.; Yamasaki, T.; Takami, T., 'The bactericidal effect of far-UVC on ESBP-producing *Escherichia coli*', *American Journal of Infection Control* **50**(11) (2022) 1268-1270, <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2022.04.012>.
- Alharbi, M.; Bakitian, F.; Alenzi, A., 'Evaluation of bactericidal effects of ultraviolet light C irradiation on cariogenic bacteria: an in vitro study', *BMC Oral Health* **21** (2021) 406, <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01767-x>.
- Sawyer, S. F., 'Analysis of variance: the fundamental concepts', *Journal of Manual & Manipulative Therapy* **17**(2) (2009) 27e-38e, <https://doi.org/10.1179/jmt.2009.17.2.27E>.
- Sequeira, S. O.; Phillips, A. J. L.; Cabrita, E. J.; Macedo, M. F., 'Ethanol as an antifungal treatment for paper: short-term and long-term effects', *Studies in Conservation* **62**(1) (2016) 33-42, <https://doi.org/10.1080/00393630.2015.1137428>.

19. Negi, A.; Sarethy, I. P., 'Microbial biodeterioration of cultural heritage: events, colonization, and analyses', *Microbial Ecology* **78**(4) (2019) 1014-1029, <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01366-y>.
20. Borrego, S.; Guiamet, P.; Gómez de Saravia, S.; Batistini, P.; Garcia, M.; Lavin, P.; Perdomo, I., 'The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs', *International Biodeterioration & Biodegradation* **64**(2) (2010) 139-145, <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.12.005>.
21. Ienes-Lima, J.; Prichula, J.; Abadie, M., 'First report of culturable skin bacteria in *Melanophryniscus admirabilis* (Admirable Redbelly Toad)', *Microbial Ecology* **86** (2023) 756-761, <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02069-7>.
22. Latorre, J. D.; Hernandez-Velasco, X.; Wolfenden, R. E.; Vicente, J. L.; Wolfenden, A. D.; Menconi, A.; Bielke, L.; Hargis, B. M.; Téllez, G., 'Evaluation and selection of *Bacillus* species based on enzyme production, antimicrobial activity, and biofilm synthesis as direct-fed microbial candidates for poultry', *Frontiers in Veterinary Science* **(3)** (2016) 95, <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00095>.
23. Dománski, J.; Janczura, A.; Wanat, M.; Wiglusz, K.; Grajzer, M.; Simmons, J. E.; Domagała, Z.; Szepietowski, J. C., 'Preservation fluids of heritage anatomical specimens – a challenge for modern science. Studies of the origin, composition and microbiological contamination of old museum collections', *Journal of Anatomy* **243**(1) (2023) 148-166, <https://doi.org/10.1111/joa.13854>.
24. Niesler, A.; Górny, R. L.; Wlazło, A.; Łudzeń-Izbińska, B.; Ławniczek-Wałczyk, A.; Gołofit-Szymczak, M.; Anczyk, E., 'Microbial contamination of storerooms at the Auschwitz-Birkenau Museum', *Aerobiologia* **26** (2010) 125-133, <https://doi.org/10.1007/s10453-009-9149-z>.
25. Górny, R. L.; Gołofit-Szymczak, M.; Palak, A.; Ławniczek-Wałczyk, A.; Cyprowski, M.; Stobnicka, A.; Płocińska, M.; Kowalska, J., 'Effectiveness of UV-C radiation in inactivation of microorganisms on materials with different surface structures', *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* **31**(2) (2024) 287-293, <https://doi.org/10.26444/aaem/189695>.
26. Bang, I. H.; Kim, Y. E.; Lee, S. Y.; Min, S. C., 'Microbial decontamination of black peppercorns by simultaneous treatment with cold plasma and ultraviolet C', *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **63** (2020) 102392, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102392>.
27. Setlow, P., 'Resistance of spores of *Bacillus* species to ultraviolet light', *Environmental and Molecular Mutagenesis* **38**(2-3) (2001) 97-104, <https://doi.org/10.1002/em.1058>.
28. Leal, A. C.; Tam, W.; Kheyrandish, A.; Mohseni, M.; Bach, H., 'Antimicrobial activity of filtered far-UVC light (222 nm) against different pathogens', *BioMed Research International* **2023**(1) (2023) 085140, <https://doi.org/10.1155/2023/2085140>.

RECIBIDO: 2025.7.18

REVISTO: 2025.11.29

ACEPTADO: 2025.12.27

ONLINE: 2026.9.29



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons

AtribuciónNoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Para ver una copia de esta licencia, visite

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>