



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Microbiología

“Determinación de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en muestras de camarón recolectados de un mercado de la ciudad de Puebla.”

Tesis presentada para obtener el grado de:

Lic. Químico Farmacobiólogo

Presenta:

Brenda Lee Sánchez Osorio

Director de Tesis:

M.S.P María de la Cruz Meneses Sánchez

Asesor de Tesis:

D.E.D Ana Bertha Escobedo López

Abril 2023



OFICIO C.Q./CT 021A/2023

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Brenda Lee Sánchez Osorio

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección de la M.S.P. Maria de la Cruz Meneses Sánchez y de la D.E.D. Ana Bertha Escobedo López,, con el siguiente título:

“Determinación de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en muestras de camarón recolectados de un mercado de la Ciudad de Puebla”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 11 de mayo de 2023.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 11 de mayo de 2023

D.E.D. Edith Díaz Cabrera, Presidente

M.C. Laura Martínez Pérez, Secretario

D.E.D. Claudy Lorena Villagrán Padilla, Vocal

c.c.p. Archivo

Cadena digital: 4Pj'Ac!Fs*Mt)Uy!Sd"Le#Mb!Ql"Ze#Jr'Xu%Pt.Zd*Id-Dv#Zo'Cq+Yr!Sk/Fp&Ih*Hf&Ih!Ud(Ti!Ww*DI!Qi\$Kv(Ko'Ap)Ii#Zd)In(Oa)Mp\$Eu#Xa.Ot%Dd.Ol.Vv"Nb+Se%Pj'Ud(Ve&Ko'Za\$Lt(Ce+Uv(Fc\$Zx'Is,By(Qp.Fp+Pl#Vn+Fv(Ih!Qk*Sv+Yk'Qf#Kr"Ht)Gz\$Ed+Zx(Ci%Qh*Mj*Pb"Wm-Ei*Qd\$Zx-Bh'Ot"Cs&Nx.Yw)Il)Po%Dd!Oq\$Ro%Fl\$Pi#

“Eres tan grande como te propongas serlo y puedes llegar tan lejos como te dé la gana. La vida es mucho más que vivir con miedo. La vida está hecha de lucha, de sudor y de esfuerzos.”

- Anónimo

DEDICATORIAS

A mi familia...

Papá...

Valoraré siempre tu presencia en cada etapa de mi vida y por creer en mí desde que era pequeña. Por los regaños, por ser exigente y forjarme en valores, por hacerme una buena persona, por las levantadas temprano para irte a trabajar para darnos un buen futuro a mi hermana y a mí. Por aguantar insultos y humillaciones en el trabajo sólo para ver a tu hija triunfar y verla con su título profesional. Gracias por ser un padre responsable. Te amo muchísimo.

Mamá...

Por estar siempre conmigo, en las buenas y en las malas, des niña nunca me faltó tu amor incondicional, por poner toda tu confianza en mí. Gracias por siempre decirme que saldría adelante en esta carrera y que el estrés y los desvelos valdrían la pena. Gracias por prepararme mi comida para no morir de hambre en estos 5 años de carrera. Te amo demasiado.

Hermana...

Por sacarme una sonrisa siempre, por decir tonterías, por creer en mí de igual forma, por decirme que soy la química de la casa, por estar conmigo siempre. Te quiero.

Maestra Maricruz...

Por su amistad, por su apoyo incondicional y sus enseñanzas conmigo, por soportarme desde los laboratorios de micología y bacteriología hasta este trabajo que es muy importante para mí. La quiero muchísimo que la considero una amiga más.

A la facultad de Ciencias Químicas...

La cual fue una parte fundamental en aportarme enseñanza y aprendizaje durante estos 5 años. Por todos mis profesores que me impartieron cada materia importante para poder forjarme como una QFB, los que se prestaron a escuchar mis dudas, a alentarme a seguir con el conocimiento y dedicación con la que hacían cada una de sus clases.

AGRADECIMIENTOS

Karen...

Amiga querida, podría extenderme demasiado y no acabar para decirte lo agradecida que estoy contigo. Gracias por estar conmigo cuando más lo necesite, por darme consejos, por darme fuerzas en cada momento y animarme a seguir, por tener clases juntas, por estudiar para cada examen que se nos presentará, para defender nuestros proyectos e investigaciones, por decirme a cada rato que me comiera un pan, por darme consejos tan sabios y por creer que siempre seré una buena alumna y amiga. Gracias por quedarte y creer en mí.

Franco...

Hemos tenido altas y bajas, pero hemos sabido afrontar los mismos y damos soluciones para que esta amistad no se acabe. Gracias por aconsejarme de igual manera, ser justo y parejo con todos. Te agradezco por alimentarme todos los días, que a fin de cuentas yo lo agarraba sin permiso, gracias por traerme queso y pan de tu pueblo. Gracias por aceptar ser tu jefa en mi proceso de tesis y ayudarme en lo que necesité. Tu amistad es muy valiosa para mí, gracias por apoyarme en este camino y seguir a mi lado.

Uric...

Amigo, me has sabido demostrar que la amistad es más que cotorrear, echar relajo, llevarnos pesado. Me has enseñado que el apoyo incondicional, el amor, el respeto y la perseverancia, hacen fuerte a una amistad y lo valoro de ti. Gracias por decirme que soy la mejor QFB de mi generación, gracias por creer en mí, gracias por valorar mi amistad y principalmente gracias por quedarte, aunque algunas personas dijeran lo contrario.

Sosita...

Que puedo decir de ti, te agradezco mutuamente por creer en mi desde preparatoria, por tus consejos y opiniones constructivas, gracias por acompañarme en este camino. Te quiero demasiado.

Moisés...

Te agradezco rotundamente el amor incondicional que me tuviste desde el principio de este proyecto. Agradezco por siempre alentarme, por decirme que, si podía con esto, por siempre apoyarme, dedicar tiempo y esfuerzo para ayudarme en este trabajo tan importante para mí a cambio de nada. Gracias por darme tu punto de vista, tus opiniones constructivas, tus consejos, por subirme el ánimo cuando todo estaba mal, por ser mi pilar hoy y los años que nos quedan por delante. Te amo mi cielo, eres mi inspiración de aquí en adelante. *Haces que mi cielo vuelva a tener ese azul, pintas de colores mis mañanas sólo tú.* Siempre juntos.

A mi grupo de colaboradores...

Gracias por poner darme un poco de su tiempo para poder ayudarme en este proceso, por sacrificar salidas, idas a sus pueblitos para que el material del proceso estuviera listo. Gracias, por tanto.

A mis sinodales...

Por haber aceptado estar presentes en este trabajo que con mucha dedicación, tiempo y esfuerzo se pudo sacar adelante.

Podría llenar seguir agradeciendo al sin fin de personas que forman parte fundamental de mi vida, sin embargo, a todos ustedes, alumnos de semestres anteriores muchísimas gracias por todo el cariño recibido y las muestras de afecto y apoyo en todo este proceso

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's)	3
3.2 Camarón	5
3.3 Tipos de camarón en territorio nacional	6
3.4 Entorno nacional	6
3.6 Camarón blanco	7
3.6.1 Morfología	7
3.6.2 Ciclo de vida	8
3.6.3 Hábitat	9
3.6.4 Enfermedades reportadas en camarón blanco	9
3.7 Vibriosis en camarón	10
3.7.1 Etiología	10
3.7.2 Especies afectadas	11
3.8 Familia <i>Vibrionaceae</i>	11
3.8.1 Características generales	11
3.8.2 Clima de desarrollo	11
3.8.3 Factores abióticos	12
3.8.4 Especies del género <i>Vibrio</i> asociadas a humanos	12
3.8.5 Especies del género <i>Vibrio</i> asociadas al entorno marino	12
3.8.6 Manifestaciones clínicas	12
3.9 <i>Vibrio cholerae</i>	14
3.9.1 Características principales	14
3.9.2 Subtipos de <i>Vibrio</i>	14
3.9.3 Ciclo de vida de <i>Vibrio cholerae</i>	15
3.9.4 Mecanismo de patogenicidad	16
3.9.5 Factores de virulencia	17
3.9.6 Reservorio	18
3.9.7 Dosis infectiva	18

3.9.8 Manifestaciones clínicas.....	18
3.9.9 Supervivencia ambiental.....	19
3.10 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
3.10.1 Características generales.....	19
3.10.2 Factores de virulencia	20
3.10.3 Mecanismo de patogenicidad	20
3.10.4 Modo de transmisión.....	21
3.10.5 Dosis infectiva	21
3.10.6 Manifestaciones clínicas	21
3.11 <i>Vibrio vulnificus</i>	22
3.11.1 Características generales.....	22
3.11.2 Epidemiología	23
3.11.3 Biotipos	23
3.11.4 Factores de virulencia	24
3.11.5 Mecanismo de patogenicidad	24
3.11.6 Factores de riesgo	25
3.11.7 Manifestaciones clínicas	26
3.12 <i>Vibrio alginolyticus</i>	28
3.12.1 Características generales.....	28
3.12.2 Signos presentes en organismos marinos afectados	28
3.12.3 Manifestaciones clínicas	29
3.13 Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	29
3.13.1 Características generales.....	29
3.13.2 Factores de riesgo	30
3.14 <i>Salmonella</i> spp	31
3.14.1 Características generales.....	31
3.14.2 Factores para crecimiento de <i>Salmonella</i>	31
3.14.3 Nomenclatura de <i>Salmonella</i>	31
3.14.4 Epidemiología	33
3.14.5 Transmisión	33
3.14.6 Alimentos asociados a <i>Salmonella</i>	33
3.14.7 Mecanismo de patogenicidad	34
3.14.8 Dosis infectiva	35
3.14.9 Manifestaciones clínicas	35

3.15 <i>Escherichia coli</i>	36
3.15.1 Características generales	36
3.15.2 Vías de transmisión	37
3.15.3 Reservorio	37
3.15.5 Alimentos relacionados	37
3.15.6 Manifestaciones clínicas	37
4. MARCO DE REFERENCIA	38
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
6. JUSTIFICACIÓN	41
7. OBJETIVOS	42
7.1 Objetivo general	42
7.2 Objetivos específicos	42
8. HIPÓTESIS	43
8.1 Hipótesis alternativa (H_1)	43
8.2 Hipótesis nula (H_0)	43
9. UNIVERSO DE ESTUDIO	44
9.1 Población fuente	44
9.2 Tamaño de la muestra	44
10. CRITERIOS DE SELECCIÓN	44
10.1 Criterios de inclusión	44
10.2 Criterios de exclusión	44
11. TIPO DE ESTUDIO	44
12. MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO	45
13. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS	45
14. ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO	45
15. METODOLOGÍA	46
15.1 Determinación del género <i>Vibrio</i>	46
15.2 Determinación de <i>Salmonella</i> spp	46
15.3 Determinación de <i>E. coli</i>	47
15.4 Diagrama de trabajo para la determinación de <i>Vibrio</i>	48
15.5 Diagrama de trabajo para la determinación de <i>Salmonella</i> spp	49
15.6 Diagrama de trabajo para la determinación de <i>E. coli</i>	50
16. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
16.1 Análisis microbiológico de muestras	58

16.1.1 Determinación de especies del género <i>Vibrio</i>	58
16.1.2 Determinación de <i>E. coli</i>	61
16.1.3 Determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	63
17. CONCLUSIONES.....	65
18. SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES	65
19. ANEXOS	66
Anexo 1. Encuesta realizada para la evaluación de establecimientos.....	66
Anexo 2. Tabla para identificación de especies del género <i>Vibrio</i>	67
Anexo 3. Pruebas bioquímicas para determinación de <i>Salmonella</i> y <i>E. coli</i>.....	68
20. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

1. RESUMEN

Tanto pescados como mariscos constituyen una parte fundamental en la alimentación de la población, ya que son considerados completos, debido al contenido de ácidos grasos, proteínas y micronutrientes esenciales para cualquier etapa de nuestra vida. Por otro lado, su composición química hace que sea un alimento perecedero el cual hace que se degrade de una forma rápida y que puedan proliferar diferentes microorganismos, desde indicadores de contaminación fecal, hasta patógenos que atentan contra la salud del humano. Por lo antes mencionado, se debe determinar la calidad del alimento antes de llegar a las mesas del consumidor para ingerirlos.

El objetivo de este trabajo fue, determinar la presencia de microorganismos patógenos, así como indicadores de contaminación fecal presentes en camarón. Se recolectaron 30 muestras de camarón blanco de diferentes establecimientos de un mercado de la ciudad de Puebla y se sometieron a un análisis microbiológico para poder determinar la presencia de especies del género *Vibrio*, *Salmonella* spp y *E. coli*. El aislamiento e identificación para la determinación de especies del género *Vibrio* se llevó a cabo mediante métodos microbiológicos convencionales, haciendo uso de medios de cultivo como soya tripticaseína y TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) y usando pruebas bioquímicas como TSI, LIA, MIO y O/F para su respectiva identificación. Para el aislamiento de *Salmonella* spp se dio uso a los medios sulfito de bismuto y verde brillante y para *E. coli*, Mac conkey y EMB (Eosina Azul de Metileno) al igual que pruebas bioquímicas como TSI, LIA, MIO, CITRATO, UREA y O/F para su identificación. Con base a los resultados obtenidos se determinó que del 100% de las muestras analizadas, se determinó la presencia de especies de *Vibrio*, con un porcentaje del 80% para *Vibrio alginolyticus*, el 16.7% para *V. cholerae* y el 3.3% para *V. vulnificus*. La presencia de *Salmonella* spp se obtuvo en un porcentaje del 23.33% y *E. coli* en un 17.4%. Esto sugiere que la calidad e inocuidad del producto es escasa, trayendo como consecuencia un riesgo a la salud del consumidor al momento de ingerir camarón de la zona.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) son consideradas de los problemas de salud más frecuentes en la población a nivel mundial. Organizaciones de salud de alto rango, señalan que países subdesarrollados son blanco fácil de las ETA's ya que provocan una alta tasa de morbilidad y mortalidad. La presencia de contaminación alimentaria se da debido a que la calidad e inocuidad del alimento es escaso por las prácticas deficientes de manipulación y preparación de este. Esto se da con frecuencia en alimentos preparados fuera de casa o puestos de comida públicos. Como consecuencia, se da la incidencia de enfermedades parasitarias, infecciones e intoxicaciones gastrointestinales que afectan la salud del humano. ⁽¹⁾

En México es muy frecuente el comercio ambulante de frutas, agua de sabor, antojitos o productos de origen marino, los cuales no son manipulados o preparados con las medidas de higiene y/o buenas prácticas de manipulación necesarias trayendo como consecuencia una tasa de ETA's elevada.

La mala calidad sanitaria de los productos marinos se da principalmente por tres tipos de contaminación: física, química o biológica, en donde destacan, restos de arena, metales pesados, agua contaminada y presencia de microorganismos patógenos como es el caso del género de *Vibrio*.

Vibrio vulnificus, *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* son microorganismos muy comunes en ambientes marinos los cuales se desarrollan en un gran porcentaje de salinidad y que se encuentran en la superficie o en la parte intestinal de los animales marinos. ⁽²⁾

El camarón es un claro ejemplo de alimento que puede exponerse a diferentes factores para producir infecciones gastrointestinales en la población. Por ello, el camarón está sujeto a una gran diversidad de elementos que pueden afectar la inocuidad y su calidad debido a su medio acuático en que el estado lo cultiva (acuacultura).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's)

Las enfermedades transmitidas por alimentos son consideradas un problema de salud a nivel mundial. En ellas se incluyen tanto las infecciones como las intoxicaciones, donde la primera es causada principalmente por ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales para la salud y la segunda es por la ingestión de toxinas que se encuentran en el alimento ingerido y que han sido producidos por bacterias y hongos, aunque estos ya no se hallen en el alimento.⁽³⁾

Las ETA's pueden darse en cualquier lugar, sin embargo, predominan en áreas donde se practican malos hábitos de higiene y en condiciones de hacinamiento.

La contaminación de los alimentos puede ocurrir debido a que se presente una escasa calidad e inocuidad de este. Lo mismo pasa con alimentos preparados para la venta al público o preparados en el hogar debido a las prácticas deficientes utilizadas para prepararlos, manipularlos y consumirlos.⁽¹⁾

Algo muy frecuente entre la población es que los propios consumidores pueden originar el problema ya que la contaminación de los alimentos se puede dar por tocar directamente el producto con las manos sucias o al comer en platos utilizados en locales de comida.

Al igual, la escasa información que se tiene del tema como conocimientos básicos sobre las buenas prácticas de manufactura e inocuidad, repercute negativamente en la manipulación y preparación de los alimentos que son consumidos por la población tanto a nivel familiar como comercial, trayendo como consecuencia la vulnerabilidad en niños, ancianos, jóvenes y personas inmunodeprimidas.⁽¹⁾

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, se estima que sólo el 1% de los casos de ETA's son reportados a los sistemas de vigilancia epidemiológica.⁽⁴⁾ Una estimación señala que si ocurren alrededor de 5 millones de casos por año de enfermedades diarreicas en México, y un ajuste conservador señala que sólo 50% son causadas directamente por alimentos, con un subregistro de uno por cada 100 episodios, el número real de casos sería de alrededor de 250 millones de eventos al año, equivalente a 2.5 episodios por persona por año.⁽⁵⁾

En México entre el periodo que comprende 2013 al 2018, se implementó el programa de control sanitario y evaluación en alimentos con un logro meta de un 80-84%, sin embargo, las estadísticas marcaron que los resultados fueron mayores teniendo un 100% de control. ⁽⁶⁾



Figura 1. Principales etapas de la operación sanitaria. **Fuente.** (COFEPRIS, 2021).

Aunque se dio de manera satisfactoria, existe cierta incertidumbre respecto al cumplimiento de las principales etapas de operación sanitaria y al impacto real en el control sanitario de establecimientos ya que se desconocen ciertos aspectos, tales como:

- La proporción entre las visitas con evaluación de condiciones sanitarias y aquellas donde sólo se realizó muestreo.
- Condiciones de las inspecciones.
- Población objetivo.
- Fortalezas y debilidades de las acciones de verificación.
- Programas de cada entidad.

Desafortunadamente aunque exista dicho programa de control sanitario, en México existen algunos inconvenientes que a veces las mismas dependencias pasan desapercibidas, trayendo como consecuencia un aumento en la prevalencia de ETA's tales como falta de continuidad a dichos programas, desarticulación de existentes, falta de legislación actualizada, infraestructura inadecuada en establecimientos, deficiencias sanitarias en establecimientos

informales tales como agua potable, luz, drenaje, ambulantes que no someten sus productos a ningún control de calidad, etc.

Todos los alimentos pueden estar expuestos a un riesgo sanitario ya que los mismos cumplen con características que los hacen susceptibles, tales como: actividad de agua, pH, temperatura, tiempo, oxígeno de la atmósfera, compuestos químicos, etc.

A lo que son los alimentos de origen marino, en México se cuenta con estrictas normas de calidad, aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA),⁽⁷⁾ las cuales sugieren especificaciones tanto sanitarias como de muestreo para poder asegurar el 100% de su calidad y así darle una confianza al consumidor al momento de comprarlo.

3.2 Camarón

Los camarones, son un infra orden de crustáceos decápodos fáciles de encontrar tanto en agua dulce como salada.⁽⁸⁾ Alcanza una longitud máxima de 23 cm, con un caparazón de 9 cm. Su cuerpo está protegido por una cubierta gruesa la cual necesita cambiar o mudar para que pueda crecer.⁽⁹⁾

Este producto marino es uno de los favoritos entre los mexicanos, no sólo en la época donde más se consume (Cuaresma), sino a lo largo del año.

En cuanto a actividad pesquera, en México ocupa el segundo lugar en mayor volumen anual, con una producción de más de 230 mil toneladas. En el comercio exterior se tiene que la exportación de este crustáceo asciende a más de 33 mil toneladas siendo nuestros principales clientes Japón, Vietnam, Estados Unidos, Francia, España, etc.⁽⁹⁾

En cuanto a valores nutricionales se puede decir que:

- Tienen un alto contenido de proteínas.
- Aporta un bajo nivel de grasas y calorías, comparado con la carne de pollo, res o cerdo.
- Es una fuente rica de carotenos, betacarotenos, Omega 3 y Pro-Vitamina A.
- Tiene buenos valores antioxidantes.
- Proporciona Vitamina B12, B9 y B, que apoyan al metabolismo, al sistema nervioso y al sistema inmune.⁽⁹⁾

3.3 Tipos de camarón en territorio nacional

Como se muestra en la **Tabla 1**, la producción de camarón en territorio mexicano se da en diferentes estados contando con una variedad de especies en camarón, entre los cuales se encuentran: ⁽⁷⁾

Tabla 1. Especies de camarón encontrados en diferentes estados de la República Mexicana.

ESTADOS	TIPO DE CAMARÓN
Baja California Norte	Camarón Blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)
Baja California Sur	
Sinaloa	
Sonora y Nayarit	
Jalisco	<i>Farfantepenaeus californiensis</i>
Colima	<i>Farfantepenaeus brevisrostris</i>
Michoacán	<i>Litopenaeus vanammei</i>
Veracruz	<i>Litopenaeus occidentalis</i>
Oaxaca	

Fuente. (SAGARPA, 2015).

3.4 Entorno nacional

El estado de Puebla se encuentra ubicado en una zona clave dentro de la República Mexicana ya que se encuentra vecino a los 11 estados que conforman el litoral del pacífico, los cuales son los mayores productores de camarón en el país (**Figura 2**) ⁽⁷⁾.

Con base en los datos preliminares obtenidos de los avisos de arribo que recibe la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA), reportó que los estados con mayor producción de pesca de camarón fueron Baja California Norte y Sur, Sinaloa, Sonora, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Veracruz que concentran 92.9% de la producción total del país. ⁽¹⁰⁾



Figura 2. Puebla y el litoral del pacífico. Estados con mayor producción de camarón.

Fuente. (F. Pedroche, 1997).

3.6 Camarón blanco

El camarón blanco o mejor conocido científicamente como *Litopenaeus vannamei*, (**figura 3**), son un tipo de crustáceo de la familia *Penaeidae*, nativo del Pacífico que va desde el estado de Sonora México hasta Tumbes Perú. ⁽¹¹⁾ Tanto su producción y consumo son elevados en temporadas de cuaresma o durante todo el año.



Figura 3. Especímen de camarón blanco. **Fuente.** (INAPESCA, 2018).

3.6.1 Morfología

Como se muestra en la **Figura 4**, el camarón blanco tiene la característica de un cuerpo alargado, dividido en diferentes segmentos como son: ^(11,12)

- Ojo
- Anténula
- Rostro (moderadamente largo con 7-10 dientes dorsales y 2-4 dientes ventrales)
- Cefalotórax

- Antena
- Esafocerito
- Surco cervical
- Periópodos
- Pleópodos
- Urópodos y Telson (color blanco translúcido con tonos amarillos)
- Abdomen (6 segmentos)

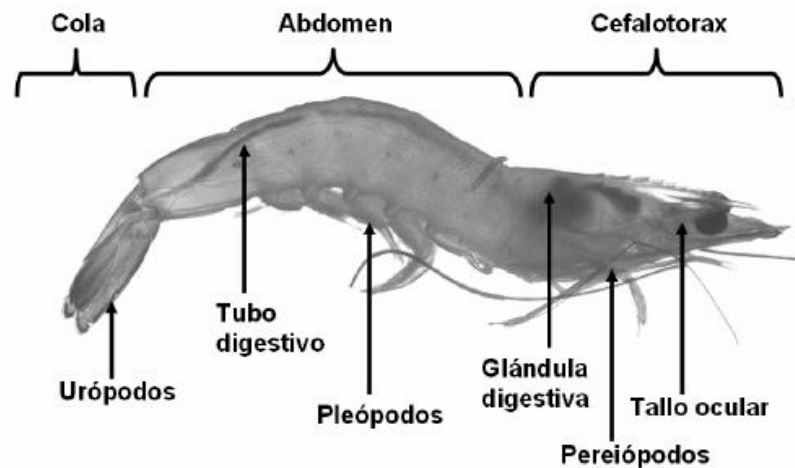


Figura 4. Anatomía general del camarón blanco. **Fuente.** (Rocha Estrada, 2008).

3.6.2 Ciclo de vida

De acuerdo con la **Figura 5**, el ciclo de vida del camarón blanco consta de:

1. Tres estadios larvales planctónicos los cuales se van desarrollando mar adentro ^(11,13)
 - Nauplio
 - Zoea
 - Misis
2. La postlarva migra a zonas costeras.
3. La etapa juvenil que se desarrolla en lagunas costeras y zonas estuarinas donde abunda la vegetación y componentes necesarios para su alimentación. En esta etapa alcanzan un tamaño aproximado de entre 4-10 cm.

4. Cuando los juveniles se convierten en preadultos, migran a mar abierto donde alcanzan su talla adulta y se reproducen.

Este peculiar ciclo de vida ha dotado a la especie de una capacidad de osmorregulación que le permite sobrevivir tanto en condiciones de agua marina como salobre, hecho que ha sido aprovechado por los acuicultores para extender el cultivo de esta especie hacia aguas de baja salinidad.

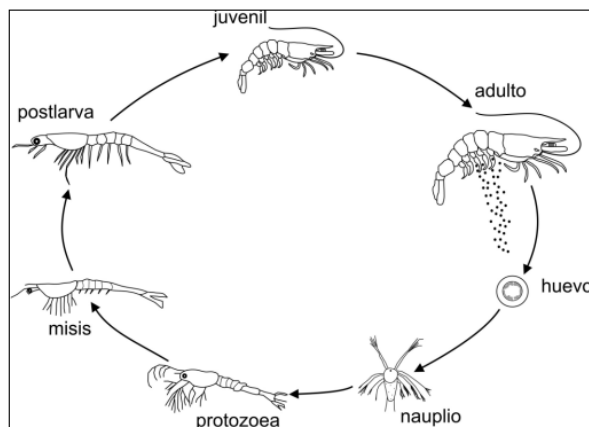


Figura 5. Ciclo de vida del camarón blanco. Consta de 3 estadios larvales: nauplio, protozoa y misis los cuales se desarrollan mar adentro. Cuando se desarrolla en postlarva, cambia sus hábitos y migra a zonas costeras. La etapa juvenil se desarrolla en lagunas costeras y zonas estuarias. Cuando los juveniles se convierten en preadultos migran a mar abierto donde alcanzan su adultez y se reproducen. **Fuente.** (Olivas Valdez, 2018).

3.6.3 Hábitat

Viven en sistemas marinos con una temperatura anual de 20°C, toleran un amplio intervalo de salinidad pasando desde condiciones de agua dulce (0.5–2.0 g/L) hasta hipersalinas (60 g/L). Salinidades entre 15 y 25 g/L son ideales para este crustáceo. ⁽⁷⁾

Los adultos viven en ambientes marinos tropicales y subtropicales con fondos arenosos, mientras que las postlarvas pasan la etapa juvenil y pre-adulta en estuarios y lagunas costeras. ⁽¹¹⁾

3.6.4 Enfermedades reportadas en camarón blanco

Con el paso del tiempo, el camarón se ha visto expuesto a diversas enfermedades, en donde participan diversos microorganismos como bacterias, hongos y virus, trayendo como consecuencia una pérdida exponencial en la producción de este.

Entre las enfermedades que destacan en el declive de la producción del camarón en México son:

- ✓ Síndrome de taura (TSV)
- ✓ Virus de la mancha blanca (WSSV)
- ✓ Virus de la cabeza amarilla (YHV)
- ✓ Virus de la necrosis hipodérmica y hemapoyética infecciosa (IHHNV)
- ✓ *Litopenaeus vannamei* nodavirus (LvNv)
- ✓ Virus de la necrosis de la glándula digestiva (BMN)

En 2013 y 2014 se presentó un problema sanitario en la mayor parte de las unidades de producción acuícola del Noroeste del país, provocada por una bacteriosis, siendo el principal agente causal *Vibrio parahaemolyticus*. Esta epizootia fue llamada mortalidad atípica de camarón, y causó la pérdida de gran parte de la producción nacional. ⁽¹¹⁾

3.7 Vibriosis en camarón

La vibriosis es una enfermedad bacteriana, causada por cepas patógenas extracelulares de varias especies pertenecientes al género *Vibrio*.

La vibriosis como patología de etiología bacteriana, ha sido la causa de mortalidades en cultivos de camarón en países productores del mundo entero y afecta tanto en larvicultura como en fase de engorde en estanques de cultivo.

Los brotes de vibriosis suelen darse cuando hay un cambio súbito de las condiciones ambientales, produciéndose un aumento en la velocidad de la reproducción bacteriana, superándose así las cargas toleradas por el organismo de los camarones. ⁽¹⁴⁾

3.7.1 Etiología

Los vibrios son habitantes naturales de la flora marina y se encuentran con frecuencia en camarones silvestres y de cultivo. La mayoría son patógenos oportunistas y producen enfermedad sólo cuando el sistema inmune de los camarones se deprime por alguna causa.

El ingreso de los vibrios al organismo del camarón se da cuando se supera la primera barrera de defensa que es el exoesqueleto. Esto puede suceder a través de heridas, poros o perforaciones producidas por bacterias quitinolíticas.

También podrían penetrar a través de las branquias ya que están cubiertas por una cutícula delgada; sin embargo, se considera que el intestino medio es el lugar de mayor ingreso de patógenos presentes en el sedimento, agua y alimentos consumidos por los camarones. ⁽¹⁴⁾

3.7.2 Especies afectadas

La vibriosis afecta más frecuentemente a las especies de cultivo *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon* y *Penaeus japonicus*. Se presenta en cualquier estadio de vida, pero principalmente durante la larvicultura. Es probable que estas infecciones se presenten por contaminación de los huevos y nauplios con heces de sus progenitores durante el desove y la eclosión.

3.8 Familia *Vibrionaceae*

La familia *Vibrionaceae* consta actualmente de 7 géneros conocidos como: *Enterovibrio*, *Salinivibrio*, *Enhydrobacter*, *Listonella*, *Allomonas*, *Photobacterium*, *Vibrio*. ⁽¹⁵⁾

3.8.1 Características generales

En la actualidad el género *Vibrio* cuenta con 48 especies que comparten las siguientes características:

- Gram negativos
- Bacilos curvos o rectos
- Oxidasa positiva (excepto *Vibrio metschnikovii*)
- Reducen los nitratos a nitritos
- Susceptibles al compuesto vibriostático O129
- Móviles por flagelos polares
- Anaerobios facultativos

3.8.2 Clima de desarrollo

Es muy común que, en climas templados, la abundancia de *Vibrio* varíe estacionalmente, ya que en verano los vibrios pueden aislarse fácilmente del agua, partículas de suspensión, plancton, algas, sedimentos, peces, mariscos; mientras que, en meses de invierno, su número disminuye notablemente y se encuentran hibernando en los sedimentos.

3.8.3 Factores abióticos

Algunos vibrios halofílicos requieren de Na^+ para su óptimo crecimiento. Diferentes factores abióticos como la temperatura, salinidad y pH de los cuerpos de agua se consideran importantes para la abundancia y diversidad de estos.

Aunque se encuentra en ecosistemas marinos, algunas especies (*V. cholerae* No-O1 y *Vibrio mimicus*) pueden vivir en agua dulce.

3.8.4 Especies del género *Vibrio* asociadas a humanos

Entre las especies de *Vibrio* actualmente descritas, se sabe que 12 de ellas están asociadas con infecciones en humanos. *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* es la especie no relacionada con el cólera, mientras que *Vibrio vulnificus* es menos común sin embargo es considerada de las más letales. Otras especies de *Vibrio* son relacionadas ocasionalmente con infecciones en humanos: *Vibrio fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. alginolyticus* y *V. cincinnatiensis*.

3.8.5 Especies del género *Vibrio* asociadas al entorno marino

En ambientes marinos y estuarinos, la fauna se infecta con especies pertenecientes del género *Vibrio*. Las especies de *Vibrio* que se han asociado con enfermedades en peces son *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *V. damsela*, *V. carchariae*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. salmonicida*. Se ha reportado que durante los últimos años en cultivo de camarones peneidos han surgido enfermedades bacterianas en donde predominan aproximadamente 14 especies de *Vibrio*, lo cual hace que este producto marino este muy susceptible por dicho género.

3.8.6 Manifestaciones clínicas

Las infecciones por *Vibrio* se clasifican en gran medida en dos grupos: halofílicos o no halofílicos, dependiendo de su requerimiento de cloruro de sodio para su crecimiento. Pueden asociarse principalmente en infecciones de tejidos blandos o infecciones sistémicas como meningitis, septicemia, colecistitis, celulitis, gastroenteritis transmitida por alimentos, otitis y una variedad de infecciones de heridas, como se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Manifestaciones clínicas de especies del género *Vibrio* relacionados con humanos.

Especies de Vibrio	Manifestación Clínica	Fuente de Infección
<i>V. cholerae</i> No-O1 y No-O139	Gastroenteritis	Agua y comida
<i>V. parahaemolyticus</i>	Gastroenteritis, infección de heridas y bacteriemia.	Mariscos y agua salada
<i>V. vulnificus</i>	Infección de heridas, bacteriemia y celulitis.	Mariscos y agua salada
<i>V. fluvialis</i>	Gastroenteritis, fiebre, bacteriemia, e infección de heridas.	Mariscos
<i>V. furnissii</i>	Gastroenteritis	Agua salada y mariscos
<i>V. mimicus</i>	Gastroenteritis, infección de heridas, bacteriemia e infección de oído.	Agua dulce y mariscos
<i>V. hollisae</i>	Gastroenteritis, infección de heridas, Bacteriemia y Septicemia	Mariscos
<i>V. alginolyticus</i>	Infección de heridas, otitis, infección de oído, conjuntivitis, infección intracraneal postraumática.	Agua salada
<i>V. damsela</i>	Infecciones de heridas	Agua salada
<i>V. metschnikovii</i>	Bacteriemia	-
<i>V. cincinnatiensis</i>	Bacteriemia y meningitis	-
<i>V. carchariae</i>	Heridas (mordida de tiburón)	Agua salada

Fuente. (Palit A. y Nair G., 2014)

3.9 *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae es un importante patógeno responsable de la diarrea aguda potencialmente mortal, el cólera, que afecta principalmente a las poblaciones del tercer mundo.

Dicho microorganismo produce altas tasas de morbilidad y mortalidad. En las regiones donde las disposiciones sanitarias son deficientes, el cólera suele ser endémico y los portadores asintomáticos suelen provocar brotes epidémicos, principalmente en personas con el sistema inmune débil, niños pequeños, ancianos y viajeros. ⁽¹⁶⁾

3.9.1 Características principales

- ✓ Bacilo curvo
- ✓ Gram negativo
- ✓ Anaerobio facultativo
- ✓ Móvil por un flagelo polar
- ✓ Tamaño: 1-3 μm de largo por 0.5-0.8 μm de ancho.
- ✓ Fermentador de sacarosa, oxidasa positiva.
- ✓ No forma esporas y sobrevive en medios alcalinos a temperaturas entre 22 y 40°C.

(17,18,19)

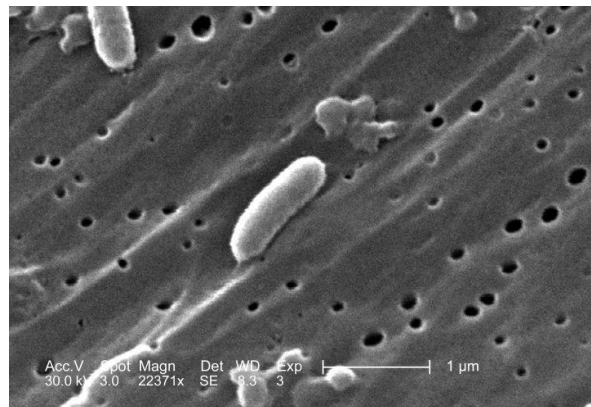


Figura 6. Bacterias de *Vibrio cholerae* observadas y analizadas en microscopio de electrones (SEM) a 22371x. **Fuente.** (CDC Public Health Library, 2018).

3.9.2 Subtipos de *Vibrio*

Vibrio cholerae es una bacteria de la cual se han identificado más de 200 serogrupos, lo cual depende de las variaciones de la estructura del antígeno O del lipopolisacárido (LPS). ⁽¹⁷⁾

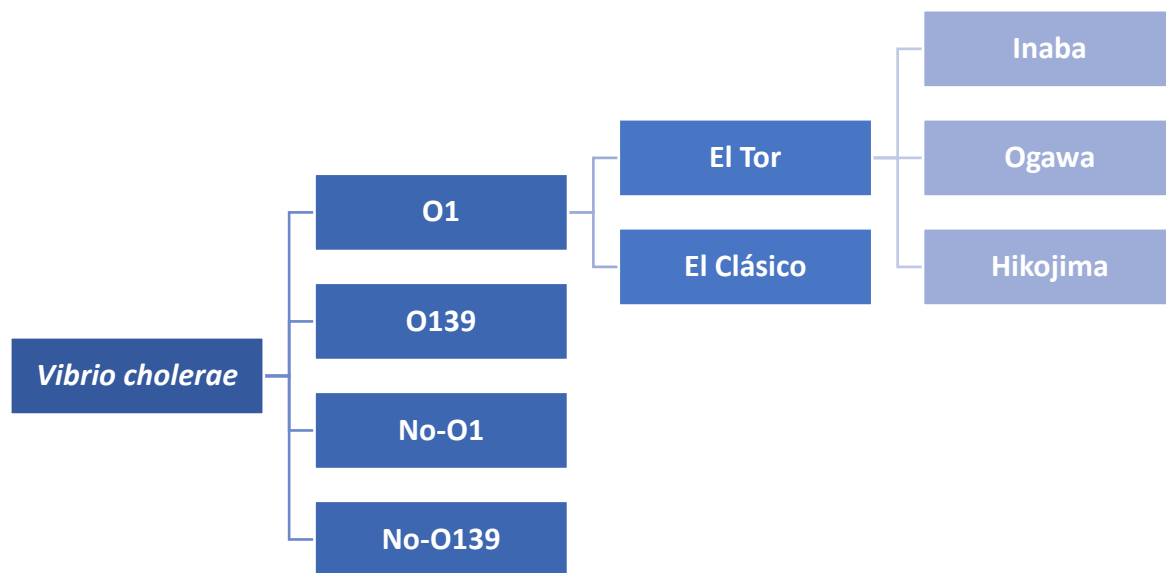
De los 200 serogrupos identificados hasta el momento, existen sólo dos serogrupos capaces de producir el cólera, identificados como **O1 y O139 o Bengala** los cuales producen la enterotoxina colérica.

El serogrupo O1 presenta a su vez dos biotipos: **El Clásico y El Tor** y de ellos poseen 3 serotipos: **Inaba, Ogawa y Hikojima. (Esquema 1)**

Otros serogrupos distintos al O1 y O139 (**No-O1 y No-O139**) aunque no producen la toxina también pueden causar cuadros de gastroenteritis. ⁽¹⁸⁾

La mayoría de los aislamientos que se realizan a nivel mundial pertenecen a *Vibrio cholerae* O1 biotipo El Tor serotipo Ogawa. ⁽¹⁹⁾

Esquema 1. Clasificación de serogrupos, biotipos y serotipos de *Vibrio cholerae*.



Adaptado de: (Sánchez Lera y Pérez Vázquez, 2014).

3.9.3 Ciclo de vida de *Vibrio cholerae*

La propagación de este patógeno se produce principalmente por la ingesta de agua o alimentos (principalmente marisco crudo o mal cocido) contaminados o materia fecal. ⁽¹⁸⁾

Su ciclo vital se caracteriza por: ⁽²⁰⁾

1. El ingreso de la bacteria al huésped por ingestión de agua y alimentos contaminados.
2. Incluirse varios factores de colonización, como las adhesinas y la producción de enzimas hidrolíticas.

3. La modificación de la expresión del gen para colonizar el epitelio intestinal y la relación de toxinas.
4. Los cambios de su desarrollo, mediados por efectos de las toxinas y su multiplicación.
5. Dirigirse en el tiempo necesario para lesionar y permitir al huésped seleccionar las variantes de la respuesta inmunológica.

3.9.4 Mecanismo de patogenicidad

- Para que comience la enfermedad, se requiere la adhesión y colonización de *Vibrio* en la mucosa intestinal.
- Una vez adheridos mediante fimbrias, se comienzan a expresar genes que codifican factores de virulencia, como el pili coregulador de la toxina (*Tcp*) y la toxina colérica.
- La toxina tiene una subunidad A (*CtxA*) la cual contiene el componente activo rodeado de 5 subunidades (*ctxB*) que median la unión de toxina al receptor encontrado en la superficie del enterocito.
- La fracción A1 de la subunidad A penetra a la célula donde actúa como enzima catalizadora, estimulando el componente G de la enzima adenilato ciclasa.
- Dicha estimulación incrementa la producción intracelular del AMPc el cual produce una secreción activa del Cl^- e inhibe la absorción del Na^+ .
- El resultado es la secreción de un líquido isotónico que contiene Na^+ , Cl^- , K^+ y bicarbonato dentro del lumen intestinal, esto conduce rápidamente a la deshidratación, aumento en la densidad del plasma y acidosis. ⁽²¹⁾

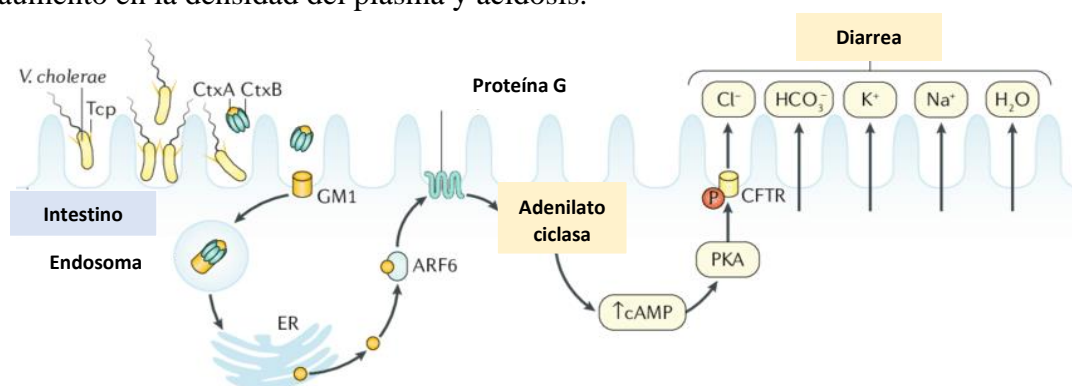


Figura 7. Patogenia del cólera en humanos. Después de llegar a intestino delgado, *Vibrio cholerae* comienza a expresar genes que codifican la virulencia como la toxina colérica (*Tcp*). La toxina compuesta de dos subunidades *CtxA* y *CtxB*, se unirá al GM1 en la membrana plasmática de los enterocitos. Una vez unida se somete a endocitosis y la subunidad *CtxB* es transportada en el retículo endoplasmático (ER). Se libera la subunidad *CtxA* y permite su activación a través de la ARF6 y a la vez activa al adenilato ciclasa por medio de una proteína G. El aumento de AMPc conduce a la PKA ser dependiente de fosforilación mediante CFTR que induce la salida de iones y agua en la luz del intestino delgado y causa diarrea. **Fuente.** (Baker-Austin, et al, 2018).

3.9.5 Factores de virulencia

En la patogénesis del cólera, se dice que es un proceso multifactorial ya que se involucran varios genes que codifican factores de virulencia que ayudarán al patógeno para la colonización y expresión coordinada de la toxina. ⁽²²⁾

Los factores de virulencia más importantes son:

Tabla 3. Factores de virulencia más importantes para *Vibrio cholerae*.

Factor	Gen	Actividad enzimática	Mecanismo de Acción
Subunidad A Toxina Colérica	<i>CtxA</i>	Estimula la producción de la enzima adenilato ciclasa.	Alteración del transporte activo de electrolitos, impidiendo la adsorción de líquido y su secreción por el intestino delgado.
Subunidad B Toxina Colérica	<i>CtxB</i>	Unión de los receptores del gangliósido GM1 en las células epiteliales de la mucosa intestinal.	
Pili corregulador de la toxina	<i>pcTC</i>	Pilis tipos IVb	Factor de colonización y receptor para CTX
Neuraminidasa	<i>nanH</i>	Remoción de residuos de ácido siálico.	Expone el GM1, receptor esencial de la toxina colérica
Hemaglutinina/Proteasa	<i>hapA</i>	Acción sobre las proteínas asociadas a la zona ocludens.	Perturba la barrera paracelular en los cultivos de células de epitelio intestinal
Motilidad	<i>flg</i>	Promueve la penetración de la barrera mucosa.	Colonización intestinal
<i>V. cholerae</i> citolisina (hemolisina)	<i>hlyA</i>	Oligos de HlyA Monómeros de HlyA inducen caspasa-9 y caspasa-3.	Expresión de IgM e IgA. Lisis Celular, incremento de la apoptosis en células del epitelio intestinal

Fuente. (Fernández, et al., 2009).

3.9.6 Reservorio

Los reservorios que participan en dicho papel son en primer lugar los humanos, le siguen copéodos (zooplancton), crustáceos, moluscos, cefalópodos, insectos, vegetación y agua, principalmente de ríos salobres y de zonas costeras.⁽¹⁸⁾

3.9.7 Dosis infectiva

La dosis infectiva de *Vibrio* es de aproximadamente 10^6 a los 10^{11} vibrios por ingesta⁽¹⁸⁾ lo cual dependerá principalmente como se dé la colonización del organismo del reservorio y de las funciones del patógeno como la motilidad, quimiotaxis, enzimas proteolíticas, hemaglutininas, etc.⁽¹⁹⁾

3.9.8 Manifestaciones clínicas

La cólera es considerada una enfermedad muy virulenta que trae como consecuencia una muerte en cuestión de horas.

Puede cursar de forma asintomática la mayoría de las veces, pero la bacteria está presente en las heces durante un lapso de 7 a 14 días. Y el periodo de incubación de esta oscila entre unas horas a 5 días.⁽¹⁸⁾ Los síntomas son:

- Comienzo brusco de diarrea acuosa, descrita como “agua de arroz” y olor “a pescado”.⁽²³⁾
- Diarrea
- Vómitos
- Calambres musculares en abdomen, brazos y piernas.
- Sed y disminución en la turgencia de la piel
- Sequedad de mucosas
- Diminución en la turgencia de la piel
- Ojos hundidos
- Hipotensión
- Convulsiones
- Coma.⁽¹⁸⁾

3.9.9 Supervivencia ambiental

Vibrio cholerae puede llegar a sobrevivir en diferentes ambientes. A temperatura ambiente puede sobrevivir en agua unos 10 días, en una gran variedad de alimentos y bebidas de 1-14 días; y en superficies u objetos de 1-7 días; también en la nevera, unos 35 días. El Tor es más persistente, puede sobrevivir en el agua 20-25 días y multiplicarse rápidamente en los alimentos.

3.10 *Vibrio parahaemolyticus*

Es una bacteria de la familia *Vibrionaceae*, a la cual también pertenecen *Vibrio cholerae* y *Vibrio vulnificus*, especies más frecuentes causantes de infección intestinal a través del consumo de alimentos. ⁽²⁴⁾

Esta bacteria fue descubierta por primera vez en 1950 por Tsunesaburo Fujino después de un brote de intoxicación de mariscos en Japón. Después de su descubrimiento se ha estudiado que es un patógeno bacteriano que causa gastroenteritis en todo el mundo. ⁽²⁸⁾

Es encontrada en ambientes marinos y frecuentemente aislado de una variedad de mariscos incluyendo bacalao, langosta, cangrejo de río, platija, almeja, camarón, pulpo, langosta y ostras. ⁽²⁶⁾

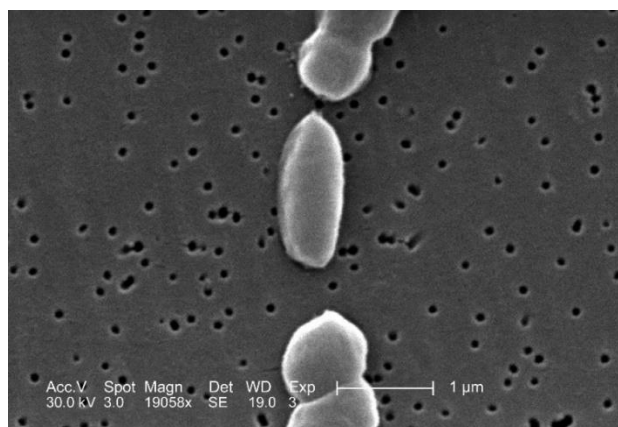


Figura 8. Bacterias de *Vibrio parahaemolyticus* observadas y analizadas en microscopio de electrones (SEM) a 19058x. **Fuente.** (CDC Public Health Library, 2018).

3.10.1 Características generales

- ✓ Bacilo Gram negativo levemente curvo. ⁽²⁵⁾
- ✓ Anaerobio facultativo

- ✓ Oxidasa y catalasa positivo
- ✓ Fermentador de glucosa, pero no de sacarosa
- ✓ Tamaño 1.4-2.6 μm de largo por 0.5-0.8 μm de ancho ⁽²³⁾
- ✓ Crece en condiciones de salinidad entre el 3 al 8%
- ✓ Móvil
- ✓ Metabolismo oxidativo y fermentativo

3.10.2 Factores de virulencia

Se sabe que la mayoría de las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* aisladas del medio ambiente o de los mariscos no son patógenas. ⁽²⁶⁾

Casi todas las cepas de *V. parahaemolyticus* aisladas clínicamente se diferencian de las anteriores ya que poseen una actividad B-hemolítica atribuida principalmente a **TDH** (Hemolisina Directa Termoestable) la cual tiene propiedades de citotoxicidad, aumento de la permeabilidad vascular y acumulación de líquido en el asa del íleon, al mismo tiempo altera el flujo iónico de las células intestinales la cual desencadena una diarrea secretora y **TRH** (Hemolisina Directa Termoestable Relacionada) produce acumulación de líquido en el modelo experimental del asa ileal y presenta actividad citotóxica en una variedad de tejidos. Estos son capaces de lisar los eritrocitos humanos. ⁽²⁷⁾

Vibrio parahaemolyticus posee una amplia variedad de factores de virulencia, toxinas y efectores secretados involucrados en la unión, la citotoxicidad y la enterotoxicidad. ⁽²⁸⁾

3.10.3 Mecanismo de patogenicidad

- Las toxinas TDH o TRH son secretadas por las bacterias y forman complejos de poros tetraméricos en la membrana del huésped.
- Estos poros permiten que los iones fluyan libremente a través de la membrana del huésped lo que provoca la hemólisis o citotoxicidad.
- *Vibrio* traslada los efectores T3SS1 a las células huésped para causar citotoxicidad en diferentes tipos de células, como macrófagos y células HeLa.
- Los efectores T3SS2 se trasladan a las células huésped para causar citotoxicidad en las células epiteliales del colon o enterotoxicidad dentro del huésped. ⁽²⁷⁾

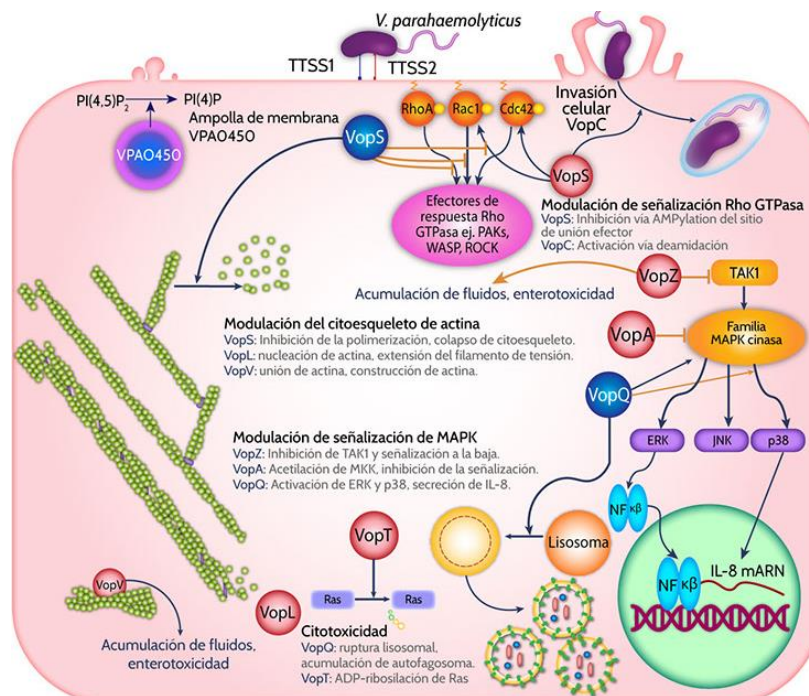


Figura 9. Patogenicidad de *Vibrio parahaemolyticus*. Tras la infección del huésped, *V. parahaemolyticus* utiliza varios factores (*MAM7*, *MSHA pili*, *cHA*, *T6SS*, *CPS*, *GbpA*) para adherirse a las células epiteliales que recubren el tracto intestinal para iniciar la colonización. Los efectores TTSS2, VopV y VopZ agrupan los filamentos de actina e inhiben la quinasa TAK1 para provocar ruptura de la capa epitelial intestinal y causar diarrea. La respuesta inflamatoria se estimula a través de MAPK por VopQ que anula la inhibición por TTSS2, VopA y VopZ. **Fuente.** (O' Boyle y Boyd, 2014)

3.10.4 Modo de transmisión

La infección es adquirida por la vía oral o por inoculación a través de piel no intacta, afectando así al tracto digestivo, y produciendo ocasionalmente infecciones cutáneas y síndromes sépticos.

3.10.5 Dosis infectiva

Se requiere una ingestión de 10^5 a 10^7 células para causar enfermedad en adultos sanos, pero puede ser menor en presencia de antiácidos o alimentos.

3.10.6 Manifestaciones clínicas

La incubación del patógeno se da en un lapso de 15 horas con un rango de 4 a 46 horas. ⁽²⁵⁾

Los principales síntomas que se presentan son: ⁽²⁴⁾

- Dolor abdominal severo.
- Náuseas

- Vómito
- Fiebre
- Dolor de cabeza
- Diarrea acuosa la cual llega a persistir durante un tiempo de 8 días.
- Diarrea severa con moco y sangre acompañado de cuadros de deshidratación, hipotensión y acidosis.

Otros cuadros clínicos relacionados son:

- ✓ Infecciones extraintestinales en el ojo, oído, tracto urinario.
- ✓ Septicemia (causada por la entrada del microorganismo al torrente sanguíneo a través de la vena porta o del sistema linfático intestinal).

3.11 *Vibrio vulnificus*

Es una bacteria perteneciente a la familia *Vibrionaceae*, la cual es transmitida principalmente por ostiones.

Fue descrita en el año de 1976 el cual fue denominado como “*Vibrio lactosa* positivo”, posteriormente obtuvo el nombre de *Beneckeia vulnificus* y finalmente *V. vulnificus*.⁽²⁹⁾ De las 6 especies que componen el género *Vibrio*, este es el de mayor importancia clínica ya que causa 3 cuadros clínicos importantes en humanos, septicemia, gastroenteritis e infección en heridas.⁽³⁰⁾

Es una bacteria que se encuentra comúnmente en el agua de estuarios de climas tropicales, puede estar presente en moluscos bivalvos (ostiones, almejas, etc.) y pescados que se consumen crudos o mal cocidos.⁽²⁶⁾ Este microorganismo también está presente en el sedimento, plancton y otras formas de vida marina.

3.11.1 Características generales

- ✓ Bacilos Gram negativos rectos y curvos
- ✓ Móviles por flagelo polar
- ✓ Oxidasa positiva
- ✓ No esporulados
- ✓ Termolábiles
- ✓ Anaerobios facultativos

- ✓ Fermentador de glucosa y lactosa
- ✓ No fermenta la sacarosa
- ✓ Requiere temperaturas mayores a 20°C para su desarrollo
- ✓ Requiere una salinidad de 0.5 a 2.5%

3.11.2 Epidemiología

Este microorganismo se ha llegado a aislar de un gran de ecosistemas tales como el Golfo de México, Océano Atlántico y Pacífico.

Vibrio vulnificus se encuentra en las costas del Golfo de México, en ostiones y agua durante la época de lluvias o cuando la temperatura del agua es elevada (23°C); y se ha estimado que de abril a octubre el 40% o más de los ostiones capturados en las costas del Golfo de México pueden contener a este patógeno. Las altas concentraciones de este microorganismo, en estos bivalvos capturados en las costas del Golfo de México, se relacionan con los meses de más calor.

Se han observado altos niveles de esta bacteria, cuando la temperatura oscila entre 17 y 31°C con una salinidad entre 15 y 25%. Se ha sugerido que los intervalos de temperatura y salinidad en los que se puede encontrar este microorganismo son más amplios, para la temperatura de 8 a 31°C y para la salinidad de 1 a 34%. *V. vulnificus* ha sido implicado, en infecciones humanas, durante el verano.

3.11.3 Biotipos

Para *V. vulnificus* se han reportado 3 biotipos causantes de infecciones: ⁽³¹⁾

✓ Biotipo 1

Se encuentra a nivel mundial en aguas saladas. Este biotipo es el más frecuentemente encontrado y es responsable de todo el espectro de la enfermedad, incluyendo la sepsis primaria.

✓ Biotipo 2

Ocupa un nicho más específico y se encuentra en aguas saladas usadas para la cría de anguilas, por lo que usualmente es un patógeno que afecta a estos peces, pero en raras ocasiones puede ocasionar infecciones en piel de humanos.

✓ Biotipo 3

Se asocia a la cría de algunos peces de agua dulce. Puede ocasionar infecciones severas en piel requiriendo en ocasiones amputación, la mortalidad se reporta en menos del 8%. Los análisis genómicos del tipo 3 indican que es un híbrido del biotipo 1 y 2.

3.11.4 Factores de virulencia

Sus principales factores de virulencia son la cápsula, los pili, el lipopolisacárido de la pared, algunas proteínas extracelulares y toxinas las cuales en conjunto cumplen su función de atacar al hospedero. ⁽³²⁾ Su función de cada uno de ellos se muestra a continuación: ^(31,32)

Tabla 4. Factores de virulencia más importantes para *Vibrio vulnificus*.

Factor	Mecanismo de Acción
Cápsula	Inhibe la fagocitosis y estimula la liberación de citoquinas inflamatorias.
Pili/Flagelos/Proteínas de membrana	Ayuda a la adherencia a células epiteliales. Capacidad invasiva.
Aminas	Ayuda a la supervivencia en medio ácido.
Hemolisinas/ Metaloproteasas	Producen daño celular, citotoxicidad, hemólisis, apoptosis y necrosis celular.
Elastina	Dañan la permeabilidad vascular.
Lecitina	
Fosfolipasas	
Mucinasas	
Proteasas	
Elastasa	
VvpE (metaloproteasa celular)	Incremento de la permeabilidad vascular. Degradación de colágena IV y activación de procaspasa 3

Fuente. (Fonseca, et al., 2013).

3.11.5 Mecanismo de patogenicidad

Vibrio vulnificus requiere de tiempos de exposición breves (30 min) para inducir efectos citotóxicos. ^(30, 31,33)

- ✓ Una vez que el *V. vulnificus* evade el tracto gastrointestinal puede penetrar la pared intestinal y entrar a la sangre.
- ✓ Una vez que el microorganismo ingresa a sangre, da entrada a la respuesta inmune innata en conjunto con el complemento.
- ✓ La activación del complemento y la opsonización son necesarias para la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares.
- ✓ Los encargados de reclutar a los leucocitos y mandarlos al sitio de infección son los neutrófilos a partir de citocinas.
- ✓ Algunas de estas citocinas median la respuesta inflamatoria asociada a la infección.
- ✓ Las citocinas expresadas en el organismo son IL-1B, IL-6, IL-8 y TNF α .
- ✓ A consecuencia de la expresión de citocinas, contribuye a la disminución del número de linfocitos y macrófagos a través de la actividad apoptótica.
- ✓ Después se da la producción de metaloproteasas las cuales aumentan la permeabilidad vascular y permitir el desarrollo de lesiones edematosas.
- ✓ Cuando ingresa a sangre el hierro juega un papel muy importante ya que facilita la infección por *V. vulnificus* favoreciendo el crecimiento del microorganismo y posiblemente reduciendo la actividad de los neutrófilos.

3.11.6 Factores de riesgo

Vibrio vulnificus al ser un patógeno oportunista, su severidad en infecciones se relaciona directamente a características específicas del huésped. Los factores de riesgo son:

- Enfermedad hepática crónica (cirrosis, enfermedad hepática alcohólica o hepatitis).
- Enfermedades renales.
- Diabetes
- Hemocromatosis
- Aclorhidria.
- Inmunocomprometidos como cáncer y VIH/SIDA.

La infección por *V. vulnificus* debe considerarse en pacientes con sepsis y lesiones en piel y debe interrogarse el antecedente de ingesta de ostiones, exposición a agua de mar e historia de enfermedad hepática u otro factor de riesgo. ⁽³¹⁾

3.11.7 Manifestaciones clínicas

Se conocen 3 principales cuadros clínicos entre los que destacan la sepsis primaria, infección de piel y tejidos blandos y la gastroenteritis. También se han reportado de manera esporádica otros cuadros como peritonitis espontánea, neumonía, endometritis, meningitis, endoftalmitis, queratitis, artritis séptica y osteomielitis, siendo la mayoría de estos reportes en pacientes con factores de riesgo. ^(31,34)

- **Sepsis primaria:** Se caracteriza por bacteriemia sin un foco infeccioso identificado. La puerta de entrada es en el intestino delgado o en el colon proximal (ciego).

Síntomas

- Desarrollo abrupto de fiebre y escalofríos.
- Lapso de 24 horas, presencia de lesiones características (celulitis severa con equimosis y bulas).
- Presencia de úlceras necróticas
- Fascitis necrosante
- Vasculitis necrosante
- Hipotensión



Figura 10. Lesiones causadas por sepsis primaria. **a)** Fascitis necrosante **b)** Vasculitis necrosante **c)** Úlceras necróticas. **Fuente.** (Smuszkiewicz, et al., 2008); (Springer Science Business Media., 2022); (Osakidetza, 2017).

- **Infección de heridas:** Puede resultar de la entrada de *V. vulnificus* en heridas preexistentes o por la inoculación de heridas traumáticas. Los tipos de heridas traumáticas más comúnmente asociadas a infección por *V. vulnificus* incluyen heridas punzantes, laceraciones, rasguños o abrasiones.

Síntomas

- Bulas
- Celulitis o equimosis
- Fascitis necrosante
- Gangrena
- Fiebre
- Hipotensión
- Alteración del estado mental
- Calambres.

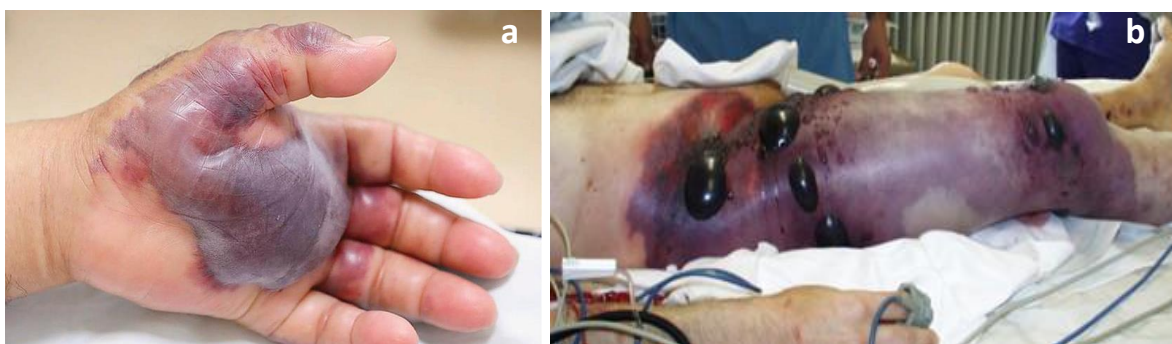


Figura 11. Lesiones por exposición de heridas. **a)** Bulas **b)** Gangrena

Fuente. (Park, et al., 2018); (Clínica hiperbárica, 2023).

- Gastroenteritis

Síntomas

- Dolor abdominal
- Náuseas
- Vómito
- Diarrea
- Fiebre

3.12 *Vibrio alginolyticus*

Vibrio alginolyticus, conocido anteriormente como *Vibrio parahaemolyticus* biotipo II, es la especie más abundante en el agua de mar, muy común en el hábitat marino y de países templados⁽³⁵⁾. Posee escasa virulencia y se asocia con frecuencia a otros patógenos; su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas.^(36,37)

3.12.1 Características generales

- ✓ Bacilos Gram negativos curvo o recto
- ✓ Quimiorganotrófico
- ✓ Móvil por flagelos peritricos o polares
- ✓ Crecimiento en concentraciones de NaCl del 3, 6, 8 y 10%
- ✓ Utiliza como fuente de carbono la D-glucosa
- ✓ Utiliza como fuente de nitrógeno sales biliares⁽³⁸⁾

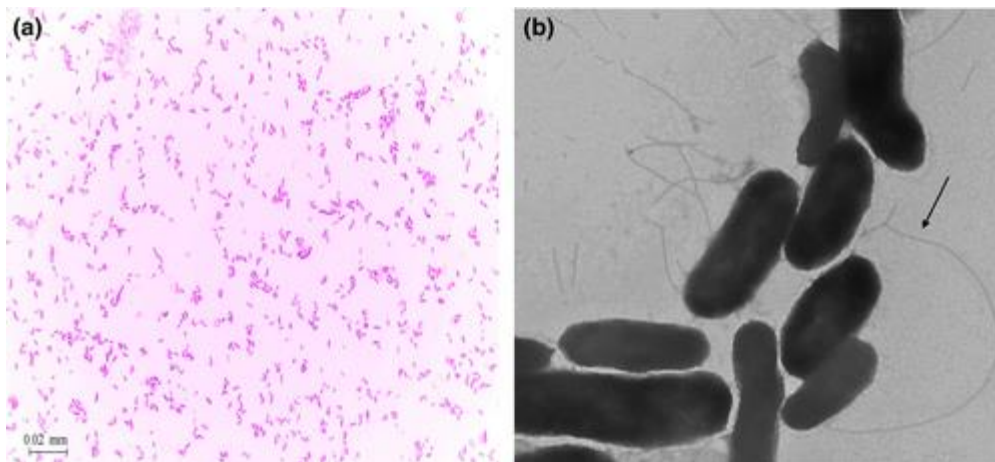


Figura 12. Morfología y estructura de *Vibrio alginolyticus*. **a)** Micrografía de luz observada a 1000x. **b)** Micrografía electrónica de transmisión observada a 6000x. La flecha indica el flagelo de la bacteria. **Fuente.** (Cao, et al, 2018).

3.12.2 Signos presentes en organismos marinos afectados

Estos signos se presentan principalmente en larvas de bivalvos, crustáceos y peces. Se observa:

- ✓ Pérdida de la movilidad
- ✓ Lesiones dérmicas
- ✓ Infecciones hemorrágicas
- ✓ Petequias en las superficies corporales
- ✓ En las aletas se observa hemorragia y necrosis⁽³⁸⁾



Figura 13. Petequias en superficies corporales de en pescado fresco causado por *Vibrio alginolyticus*. **Fuente.** (Kauak Martabid, 2016).

3.12.3 Manifestaciones clínicas

Existen pocos trabajos sobre el efecto de *V. alginolyticus* en humanos, ha sido aislado de heridas, infecciones en la piel, oído, ojos y materia fecal, en asociación con otras bacterias. En algunos artículos se han llegado a encontrar como bacteria oportunista en pacientes inmunocomprometidos, además de ser considerado parte de la microbiota saprofítica de los organismos marinos.

En el humano este microorganismo se puede adquirir principalmente por contacto con agua de mar, corales o por ingesta de productos de la pesca crudos o insuficientemente cocidos.

(38)

Algunos signos que se presentan son:

- ✓ Abscesos
- ✓ Bacteriemia
- ✓ Conjuntivitis
- ✓ Peritonitis

3.13 Familia *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos (BGN) con importancia clínica; producen una gran variedad de enfermedades en el ser humano. (39)

Diferentes miembros de la familia son considerados microorganismos patógenos transmitidos por alimentos. (40)

3.13.1 Características generales

- ✓ Tamaño intermedio (0.3 a 1 μm de largo por 1 μm a 6 μm de ancho)

- ✓ Comparten un antígeno denominado enterobacteriano
- ✓ Inmóviles o móviles con flagelos peritricos
- ✓ No forman esporas
- ✓ Pueden ser aerobios o anaerobios (anaerobios facultativos)
- ✓ Fermentan la glucosa
- ✓ Reducen los nitratos a nitritos
- ✓ Catalasa positivos
- ✓ Oxidasa negativos

3.13.2 Factores de riesgo

Las enterobacterias pueden ser causa tanto de infecciones de tipo alimentario como hospitalarias. Las infecciones son frecuentes ya que tienen la rapidez de colonizar el tracto gastrointestinal, la nasofaringe, etc. ⁽⁴¹⁾

Entre los factores de riesgo más frecuentes en este grupo de bacterias se encuentran: edad, comorbilidades y virulencia del patógeno.

- **Edad**
 - **Personas de edad avanzada:** Enfermedad con mayor gravedad y peor evolución.
 - **Niños Infantes:** Infecciones gastrointestinales.
- **Comorbilidades**
 - Diabetes mellitus
 - Alcoholismo
 - Neoplasias malignas
 - Tratamiento inmunosupresor
 - Cirrosis hepática
 - Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
 - VIH ⁽⁴²⁾

Dentro este trabajo de investigación se buscará la presencia de dos grandes géneros que forman parte de la familia *Enterobacteriaceae*, los cuales están estrechamente relacionados en la industria alimentaria, debido a prácticas deficientes en la manipulación y preparación de alimentos; considerado como un patógeno que causa principalmente gastroenteritis en humanos, *Salmonella* y un microorganismo que es considerado como indicador de contaminación fecal en alimentos, *E. coli*.

3.14 *Salmonella* spp

Salmonella, en el ámbito mundial, provoca salmonelosis la cual está asociada con ETA's y se da con mucha frecuencia enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos.

(43)

3.14.1 Características generales

- ✓ Bacilos Gram negativos
- ✓ Móviles por la presencia de flagelos peritricos
- ✓ Anaerobios facultativos
- ✓ No esporulados
- ✓ Tamaño: 0.3 a 1 μm de largo por 1 a 6 μm de ancho.
- ✓ Poseen metabolismo oxidativo y fermentativo
- ✓ Producen ácido y a menudo gas durante la fermentación de la glucosa u otros hidratos de carbono.
- ✓ Catalasa positivos
- ✓ Oxidasa negativos
- ✓ Reducen los nitratos a nitritos
- ✓ Utilizan al citrato como una fuente de carbono
- ✓ Productores de H_2S (43,44)

3.14.2 Factores para crecimiento de *Salmonella*

Para que su crecimiento sea óptimo, *Salmonella* necesita de un pH entre 6.6 a 8.2, las temperaturas más bajas a las que se ha señalado su existencia de crecimiento son de 5.3 a 6.2 grados centígrados, al igual, son incapaces de tolerar elevadas concentraciones de sal. *Salmonella* es destruida a las temperaturas de pasteurización de la leche.

3.14.3 Nomenclatura de *Salmonella*

La nomenclatura de *Salmonella* es compleja. Se han usado diferentes sistemas para referir a este género. No obstante, la mayoría ha optado por seguir una antigua propuesta de Kaufmann, con las más recientes modificaciones que han sido formuladas desde el Centro de Referencia colaborador de la OMS, el Instituto Pasteur. (44)

El género se divide en dos especies principalmente: *S. entérica* y *S. bongori*. (**Esquema 2**).

- ✓ *Salmonella enterica*, que contiene 6 subespecies: I, II, IIIa, IIIb, IV y VI
- ✓ *Salmonella bongori* que era antiguamente la subespecie V.

Los miembros de las siete subespecies de *Salmonella* pueden clasificarse en uno de los más de 2.500 serotipos (serovariedades). (45, 46, 47)

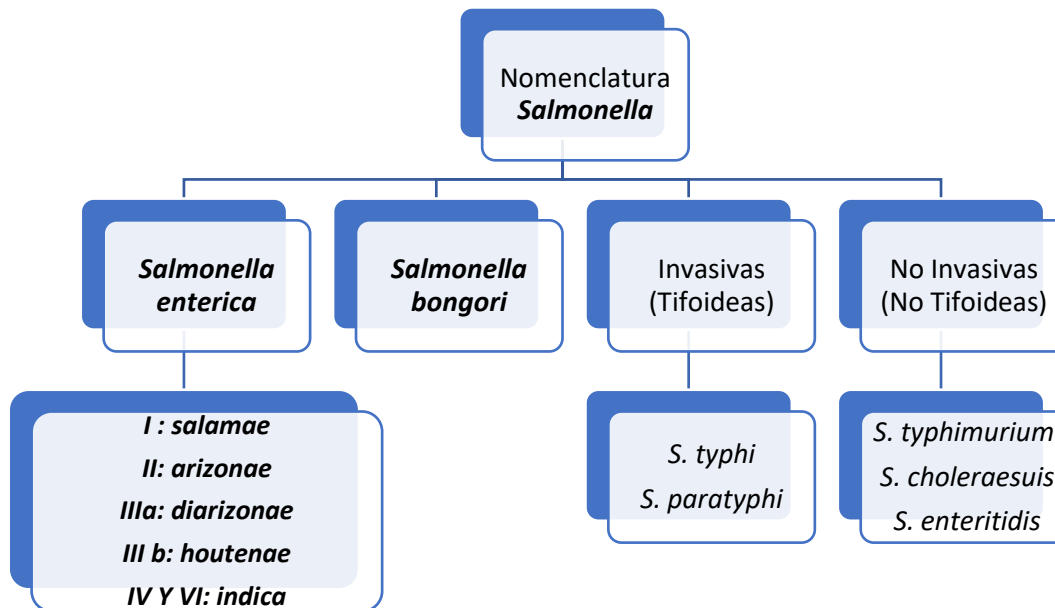
Para fines clínicos se propone una clasificación más práctica, dividiendo las bacterias del género *Salmonella* en:

- ✓ **Invasivas (tifoideas)**
- ✓ **No invasivas (no tifoideas)**

Esto hace alusión a la predilección por el hospedero y la manifestación clínica predominante cuando el hombre es el hospedero.

Los serotipos que característicamente producen enfermedad invasiva son *Salmonella typhi* y *paratyphi*. Dentro de las no tifoideas encuentran: *Salmonella stanley*, *S. saintpaul*, *S. agona*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *S. virchow*, *S. thompson*, *S. enteritidis*, *S. dublin* y *S. gallinarum*.

Esquema 2. Nomenclatura completa del género *Salmonella*.



Fuente. (Adaptado de Nwabor et al., 2015).

3.14.4 Epidemiología

La epidemiología de las infecciones por *Salmonella* varía ampliamente dependiendo del tipo de especie de la que se trate. La fiebre tifoidea, causada por *S. typhi* y *S. paratyphi*, por lo general conduce a una enfermedad grave y potencialmente mortal, esta afecta principalmente a las comunidades en naciones desatendidas. En el caso de las infecciones por *Salmonella* no tifoidea tienden a ser autolimitantes y afecta comunidades en todo el mundo.^(48,49) Se estima que la fiebre entérica o tifoidea provoca en un año 200 000 muertes y 22 millones de enfermos, siendo esto predominante en naciones de bajos ingresos.⁽⁵⁰⁾ Las estimaciones de alta incidencia (más de 100 casos por 100 000 habitantes) coinciden con naciones ubicadas en el Centro y Sur de Asia, así como en el Sureste de ese mismo continente.^(51,52)

Los sitios que reportan una baja incidencia (menos de 100 casos por 100 000 habitantes) son: Europa, Australia, Nueva Zelanda y Norte América.

En África, la *S. enteritidis* y *S. typhimurium* representan el 26% y el 25% de los serotipos aislados, respectivamente. En Asia, Europa y América Latina/Caribe, *S. enteritidis* fue la cepa más aislada con frecuencias de 38%, 87% y 31%, respectivamente. En Norte América el *S. typhimurium* fue el que se presentó con más frecuencia (29%), seguido de *S. enteritidis* (21%) y otras *Salmonella spp.* (21%).⁽⁵³⁾

3.14.5 Transmisión

La *S. typhi* y la *S. paratyphi* colonizan únicamente a los humanos, lo cual hace necesaria para la transmisión la presencia de casos humanos o de portadores crónicos. Se transmite principalmente por vía fecal-oral.

Las salmonelosis no tifoideas se presentan básicamente como resultado de la ingestión de alimentos de origen animal contaminados con estos microorganismos.⁽⁵⁴⁾

3.14.6 Alimentos asociados a *Salmonella*

Salmonella puede contaminar muchos tipos de alimentos, los cuales pueden ser: carne vacuna, de aves, cerdo, huevos (de gallina y de pato), leche y productos lácteos, pescado, camarones, ancas de rana, especias, levadura, coco, salsas, aderezo preparado con huevo no pasteurizado, mezclas para tortas, postres rellenos con cremas elaboradas con huevo crudo, gelatina seca, manteca de maní, cacao, frutas, vegetales (como tomates, ajíes y melón) y chocolate.⁽⁴⁴⁾

3.14.7 Mecanismo de patogenicidad

Las infecciones por *Salmonella* comienzan con la ingestión de las bacterias presentes en un alimento contaminado o en el agua contaminada con esta bacteria. ⁽⁵⁵⁾

- Mediante factores de adhesión como las fimbrias o pili, se inicia el proceso de invasión del epitelio intestinal que se conoce como endocitosis mediada por bacterias.
- Las células microepiteliales especializadas (células M), las cuales se encuentran sobre las placas de Peyer constituyen la puerta de entrada para el proceso infeccioso.
- *Salmonella* codifica un sistema de secreción de tipo III (T3SS) en el interior de la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella* (SPI-1) el cual es un mecanismo necesario para el proceso de invasión del epitelio intestinal, dado que modifican la función de las células del huésped mediante la translocación de proteínas de virulencia hacia el interior de la célula del hospedero.
- Aquellos serotipos de *Salmonella* que se asocian con gastroenteritis generan una respuesta secretoria en el epitelio e inician el reclutamiento de neutrófilos.
- La inflamación intestinal contribuye a la secreción de líquidos y a la diarrea por alteración de la barrera epitelial y aumento del flujo acuoso por un mecanismo exudativo.
- El proceso inflamatorio asociado con las cepas de *Salmonella* no tifoidea se caracteriza por la presencia de inflamación neutrofílica, mientras que *Salmonella typhi* induce inflamación monocítica en el intestino humano y prácticamente no produce diarrea.
- Una vez que la bacteria logra traspasar la barrera epitelial, inicia una interacción con los macrófagos para finalmente entrar en ellos, ya sea mediante macropinocitosis o por fagocitosis.
- Dentro del ambiente intracelular la bacteria permanece en un compartimento vacuolar durante horas o días. Esta vacuola posee un medio ácido que es detectado por *Salmonella* activando una serie de proteínas reguladoras.
- *Salmonella* cuenta con un segundo T3SS necesario para la supervivencia en el macrófago y el establecimiento de la infección sistémica. Este segundo sistema de secreción se codifica en otra isla de patogenicidad (SPI-2). Este sistema de secreción está diseñado para ser expresado por bacterias intracelulares.

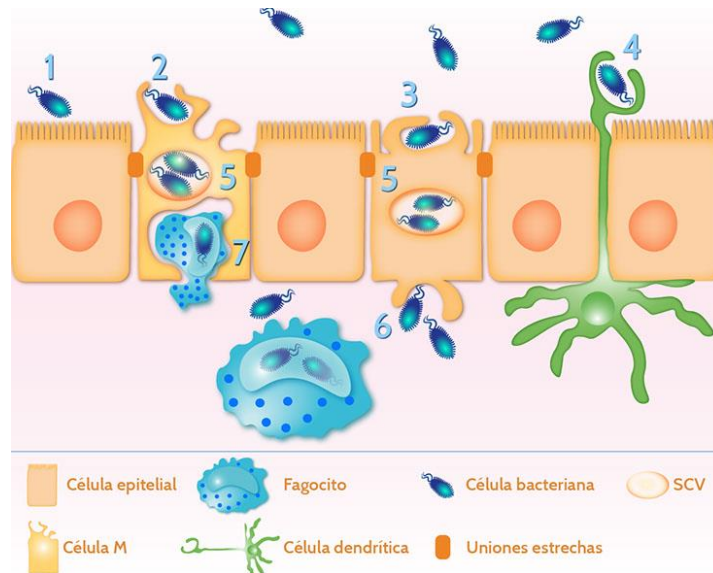


Figura 14. Mecanismo de patogenicidad de *Salmonella*. **1)** Las bacterias se unen al epitelio intestinal. **2-3)** Continúa la invasión de bacterias dentro de las células M. **4)** Las células dendríticas absorben directamente las células bacterianas de la submucosa. **5)** Dentro del citoplasma, *Salmonella* se localiza dentro del SCV y se replica. **6)** Los SCV transitan a la membrana basolateral y liberan células internas en la submucosa. **7)** Las bacterias se internalizan dentro de los fagocitos. **8)** Los fagocitos infectados se diseminan a través de la linfa y torrente sanguíneo. **Fuente.** (Fábrega A., Vila J., 2013).

3.14.8 Dosis infectiva

La dosis infectiva es de 10^5 a 10^8 UFC/g, pero puede ser tan baja como 1 UFC/g dependiendo de la edad, la salud del huésped y características de la cepa de la que se trate. ⁽⁵⁶⁾

3.14.9 Manifestaciones clínicas

Algunos síntomas que se presentan con mayor frecuencia son:

- Náuseas
- Vómito
- Dolores abdominales
- Diarrea
- Fiebre
- Dolor de cabeza

Algunas complicaciones son:

- Deshidratación
- Septicemia

- Abscesos localizados en órganos internos y/o articulaciones.
- Artritis reactiva (como respuesta autoinmune).

3.15 *Escherichia coli*

Escherichia coli es una bacteria perteneciente a la Familia *Enterobacteriaceae* y forma parte del microbiota del tracto gastrointestinal del ser humano.

Hay cepas de *E. coli* que son comensales inofensivos del tracto intestinal y otros que son patógenos importantes de los seres humanos y animales. *E. coli* patógena se divide en las cepas que causa la enfermedad en el tracto gastrointestinal y otros capaces de infectar a otros sitios anatómicos del cuerpo humano. ⁽⁵⁷⁾

3.15.1 Características generales

- ✓ Bacilo Gram negativo
- ✓ Anaerobio facultativo
- ✓ No forma esporas
- ✓ Móvil por presencia de flagelos peritricos
- ✓ Miden aproximadamente entre 0.5µm de largo por 3 µm de ancho
- ✓ Catalasa positivos y oxidasa negativos
- ✓ Reducen los nitratos a nitritos
- ✓ Fermenta la glucosa y lactosa
- ✓ Produce gas ^(58,59)

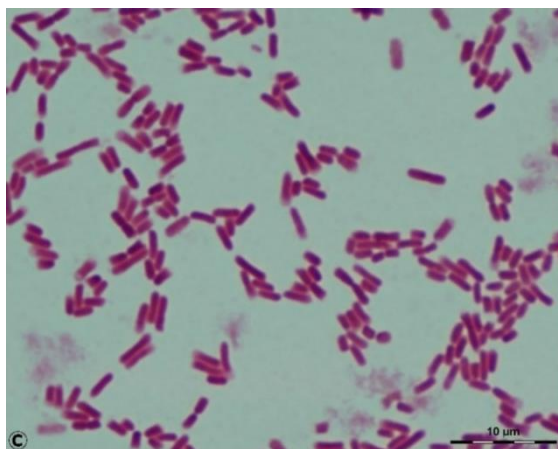


Figura 15. *Escherichia coli*, microorganismo de contaminación fecal observado a 100x utilizando la técnica de tinción de Gram. Se observan bacilos Gram negativos.

Fuente. (www.bacteriainphotos.com).

3.15.2 Vías de transmisión

Las bacterias *E. coli* pueden transmitirse al hombre a través de los alimentos por varias vías:

- Contacto directo: animales o canales infectadas con *E. coli*.
- Contacto indirecto: alimentos de origen animal y del agua contaminada.
- Contaminación cruzada en los mataderos y en las fases posteriores de transformación de los alimentos.
- Preparación y cocinado de los alimentos en el hogar.

3.15.3 Reservorio

Los rumiantes, y en particular el ganado bovino y ovino, son el principal reservorio de estas bacterias. Otros animales como las cabras, los cerdos, los caballos, las aves de corral, los perros y los gatos pueden actuar también como reservorio. Los animales portadores no muestran ningún signo clínico y eliminan las bacterias *E. coli* por las heces. ⁽⁶⁰⁾

3.15.5 Alimentos relacionados

Existen diversos alimentos asociados a las toxiinfecciones de *E. Coli*, pero la fuente más frecuente es la carne de vacuno y los productos cárnicos de vacuno (hamburguesas, carne picada, etc.) que hayan sido poco cocinados, así como la leche cruda sin pasteurizar y los productos elaborados con ella (queso, nata, etc.)

Al igual que otros alimentos tales como:

- Frutas y verduras
- Pescado y moluscos
- Alimentos listos para el consumo

3.15.6 Manifestaciones clínicas

Las infecciones producidas por cepas de *E. coli* patogénica pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse y generalmente se clasifican en:

a) Infecciones de vías urinarias

b) Sepsis/meningitis

c) Enfermedades diarreicas

4. MARCO DE REFERENCIA

León Merlos en 2011 refiere en su trabajo “**Investigación de *Vibrio vulnificus* en ostiones recolectados en marisquerías de la Ciudad de Puebla**”, el aislamiento, a partir de 50 muestras de ostiones, de los tres géneros considerados patógenos para el ser humano: *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus*, así como, microorganismos de contaminación fecal, *Salmonella* spp., y *E. coli* y concluye que el porcentaje del género *Vibrio* recuperado en ostiones recolectados en marisquerías de la Ciudad de Puebla es alto, con casi 78% de positividad y presencia de un 90% de microorganismos de contaminación fecal, evidenciando que los mariscos consumidos en la Ciudad de Puebla representan un riesgo para la población de contraer enfermedades gastrointestinales. ⁽⁶¹⁾

Benítez Cotzomi en 2016 menciona en su trabajo “**Aislamiento e identificación de las especies patógenas *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio parahaemolyticus* en muestras de camarones y moluscos bivalvos en el Departamento de Vigilancia Sanitaria del Laboratorio de Salud Pública del Estado de Puebla**”, que se procesaron 65 muestras procedentes de 6 jurisdicciones y un establecimiento particular, de las cuales 57 muestras fueron de camarón, 5 de almeja y 3 de mejillón. Del total de muestras analizadas, sólo se identificó al género *Vibrio* en 3 jurisdicciones y en las muestras del particular, obteniendo un total de 9 cepas, presentando Puebla capital el porcentaje más alto de aislamiento del patógeno con un 67%, seguido de Zacapoaxtla, Huejotzingo y el particular con un 11%. De las 9 cepas identificadas como *Vibrio*, 5 fueron positivas a *V. parahaemolyticus*, 3 a *V. vulnificus* y una muestra positiva a *V. cholerae* no-O1. Con ello, pone de manifiesto que la contaminación de estos alimentos de origen marino, específicamente el camarón, incrementa la proliferación de algunos microorganismos, debido a que se venden sin mantenerse en cadena de frío, comercializando al aire libre con temperaturas altas y personas que se dedican a la manipulación de este tipo de alimentos, están en riesgo de contraer algún tipo de enfermedad. ⁽⁶²⁾

Rojas Ruíz y colaboradores en 2013, en su artículo “**Aislamiento microbiológico de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* en muestras de camarón coctelero en la Ciudad de Puebla**”, procesaron muestras de 20 establecimientos al azar, las cuales fueron pesadas y diluidas en agua estéril para después inocular en placas con medio TCBS. Posteriormente se incubaron y determinaron las UFC de cada una de ellas. Como resultado

se obtuvo que *V. cholerae* fue detectado en 13 muestras con un porcentaje de positividad de 65% y con un promedio máximo de 2800 UFC/mL, mientras que para *V. parahaemolyticus* fue detectado en las 20 muestras con un porcentaje de 100% y un promedio máximo de 3116 UFC/mL respectivamente. Se concluyó que las muestras que resultaron positivas muestran un riesgo inminente a la población en general, lo cual puede traer como consecuencia un alza en el porcentaje de ETA's. ⁽⁶³⁾

Quiñones Ramírez y colaboradores en 2000, en su artículo “**Presencia de los géneros *Vibrio*, *Salmonella* y detección de coliformes fecales en almejas del golfo de México**”, se estudiaron un total de 260 muestras de almejas a lo largo de un ciclo anual de la porción norte del estado de Veracruz para poder determinar la presencia de los géneros antes mencionados. Del total de las muestras analizadas, el 7% resultaron positivas para *V. cholerae* O1 Inaba, el 11% para *Salmonella* spp., el 21.5 % para *Vibrio* No-O1 y el 100% presentaron coliformes fecales. Se llegó a la conclusión de que se tuvo una mayor proliferación de dichos microorganismos en los periodos de verano en donde la temperatura es demasiado elevada, que contribuye a la contaminación y al riesgo del consumo de estos productos y que la elevada tasa de coliformes fecales se debe a los asentamientos humanos mal planificados que facilitan la contaminación del agua con heces. ⁽⁶⁴⁾

El **Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica en 2022**, en su **aviso epidemiológico**, nos describe que hoy el cólera afecta a 47 países en todo el mundo. Por su parte, el número de casos de cólera notificados a la OMS se ha mantenido elevado en los últimos años, ya que a lo largo de 2020 se notificaron 323 369 casos en 24 países, de los que 857 fueron mortales. En México, en **2013** se confirmaron 187 casos, de los cuales 159 corresponden a Hidalgo, 14 a Veracruz, 9 a Estado de México, 3 a Ciudad de México y 2 a San Luis Potosí. Todos corresponden al Serotipo O1 Ogawa toxigénico. En **2014**, se confirmaron 15 casos de cólera, 14 correspondieron al estado de Hidalgo, y 1 al estado de Querétaro, todos fueron del serotipo O1 Ogawa toxigénico, excepto 1 caso de Hidalgo, que fue O1 Inaba toxigénico. En **2015** se confirmó 1 caso en Puebla y en **2016** se confirmó 1 caso en Nayarit, ambos fueron O1 Ogawa toxigénico y en **2018** se confirmó 1 caso en Sinaloa correspondiente al serotipo O1 Inaba toxigénico. De **2019** a la fecha, no se han registrado casos de cólera en el país. ⁽⁶⁵⁾

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las ETA's son consideradas un problema de salud que compromete a la población mundial. Este tipo de enfermedades pueden darse en cualquier lugar en donde se practican malos hábitos de higiene y donde la calidad de los productos alimenticios es escasa. En México las enfermedades gastrointestinales son un problema de salud a consecuencia de las ETA's, la cual afecta a diferentes grupos de edad. Esta se transmite por vía oral-fecal o bien por el **consumo de alimentos contaminados.** ⁽⁶⁶⁾

El consumo de alimentos de origen marino es muy concurrido y es blanco fácil para llegar a desarrollar una ETA causada por bacterias donde destacan desde indicadores de contaminación fecal (*E. coli*), hasta patógenos oportunistas (*Salmonella*, *Vibrio*).

A lo que compete al Estado de Puebla, cualquier producto marino es consumido en cualquier mes del año, sin embargo, destaca más la venta frecuente en épocas de cuaresma, sin descartar que en cualquier mes hay una venta considerable de dicho producto.

Tomando en consideración las enfermedades causadas por diferentes microorganismos a lo que son los productos de origen marino, es necesario tener un control sanitario para poder cuidar la salud del consumidor, por ello, la importancia de poder identificar especies del género *Vibrio* en camarón, producto marino que se consume con frecuencia en la ciudad de Puebla. De acuerdo con lo planteado anteriormente:

¿Se encuentran presentes microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en muestras de camarón recolectadas de un mercado de la capital del estado?

6. JUSTIFICACIÓN

La investigación acerca de la determinación de especies del género *Vibrio* y de microorganismos indicadores de contaminación fecal, nos da un panorama más acertado de las condiciones sanitarias en las que se encuentran los diferentes establecimientos, donde la población de la ciudad de Puebla compra diferentes productos marinos con el objetivo de consumirlos.

Esto es de suma importancia ya que debido al consumo del producto tanto crudo como insuficientemente cocido, escasas prácticas de higiene y saneamiento en los diferentes puntos de venta, condiciones de infraestructura y reglas establecidas para el cuidado del alimento, trae como consecuencia un incremento en el número de ETA's causando así una tasa alta en la morbilidad y mortalidad de la población y posicionando a las ETA's como un problema que a futuro será algo difícil de erradicar.

Por ello, con este trabajo no sólo se buscará determinar la presencia de microorganismos presentes en alimentos de origen marino principalmente camarón que puedan llegar a afectar la integridad del consumidor, sino que además se pondrá de manifiesto si las condiciones de los establecimientos cumplen con la normativa oficial para la venta del producto por medio de los resultados estadísticos obtenidos.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Determinar la presencia de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal presentes en camarón.

7.2 Objetivos específicos

7.2.1 Realizar encuestas a establecimientos para evaluar y verificar su calidad sanitaria.

7.2.2 Determinar la presencia de especies del género *Vibrio* y *Salmonella* spp en muestras de camarón recolectadas de un mercado de la ciudad de Puebla.

7.2.4 Investigar la presencia de *E. coli* como indicador de contaminación fecal en las muestras recolectadas.

7.2.5 Plantear el riesgo sanitario que implica al tener positividad en las muestras recolectadas para la salud de los consumidores y determinar posibles soluciones ante el problema.

8. HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis alternativa (H_1)

Si hay presencia de especies del género *Vibrio*, *Salmonella* spp y *E. coli* en muestras de camarón recolectadas de un mercado de la ciudad de Puebla.

8.2 Hipótesis nula (H_0)

No hay presencia de especies del género *Vibrio*, *Salmonella* spp y *E. coli* en muestras de camarón recolectadas de un mercado de la ciudad de Puebla.

9. UNIVERSO DE ESTUDIO

9.1 Población fuente

Muestras de camarón recolectados de diferentes establecimientos de un mercado de la ciudad de Puebla.

9.2 Tamaño de la muestra

30 muestras de camarón recolectados de establecimientos de un mercado de la ciudad de Puebla entre el periodo que comprende los meses de junio a agosto de 2022.

10. CRITERIOS DE SELECCIÓN

10.1 Criterios de inclusión

- Muestras de camarón recolectadas de los establecimientos del mercado de la ciudad de Puebla.

10.2 Criterios de exclusión

- Muestras de camarón recolectadas fuera de los establecimientos establecidos del mercado clave.

11. TIPO DE ESTUDIO

- Descriptivo
- Prospectivo
- Experimental

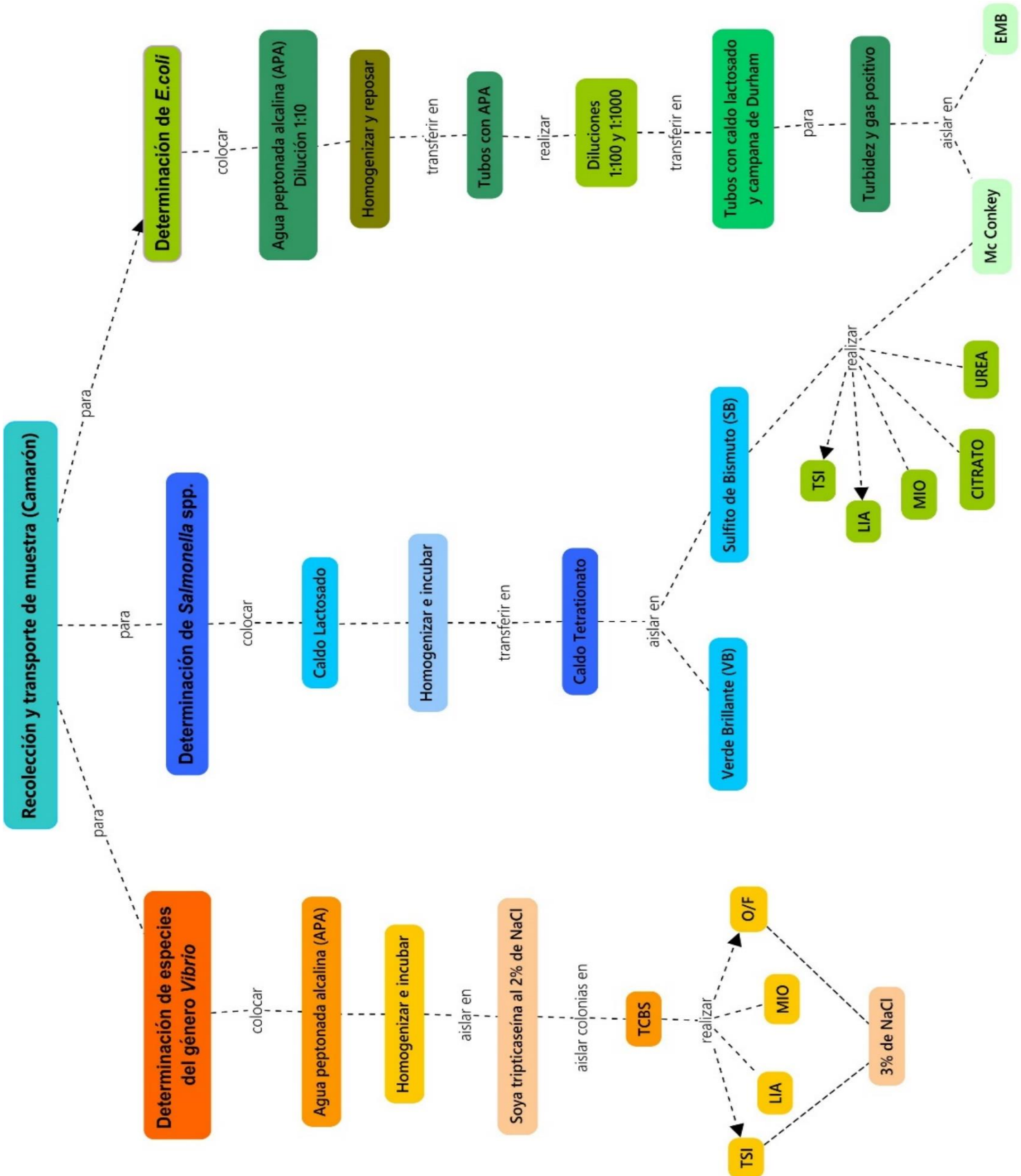
12. MATERIAL Y EQUIPO UTILIZADO

- ✓ Balanza
- ✓ Bolsas de plástico estériles
- ✓ Guantes
- ✓ Campanas de Durham
- ✓ Tubos de vidrio de diferentes tamaños
- ✓ Gradillas
- ✓ Placas Petri chicas (60 x15 mm)
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Frascos de plástico estériles de 100 mL
- ✓ Incubadora
- ✓ Matraz Erlenmeyer de 100, 500 y 1000 mL
- ✓ Vasos de precipitado de 250 mL
- ✓ Probetas 100 y 500 mL
- ✓ Pipetas automáticas de 1000 μ L
- ✓ Mecheros
- ✓ Puntas de plástico para pipeta automática
- ✓ Stomacher® 80 Biomaster
- ✓ Sanitas
- ✓ Autoclave
- ✓ Pizeta
- ✓ Porta y cubreobjetos
- ✓ Puente de tinción

13. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

- ✓ Agar TCBS
- ✓ Agar sulfito de bismuto
- ✓ Agar verde brillante
- ✓ Agar EMB
- ✓ Agar Mac Conkey
- ✓ Agar soya tripticaseína
- ✓ Agar hierro y triple azúcar (TSI)
- ✓ Agar lisina hierro (LIA)
- ✓ Agar movilidad, indol, ornitina (MIO)
- ✓ Agar bacteriológico
- ✓ Urea
- ✓ Agar citrato
- ✓ Agar O/F
- ✓ Caldo lactosado
- ✓ Caldo tetrionato
- ✓ Peptona de caseína
- ✓ Cloruro de sodio (NaCl)
- ✓ Hidróxido de sodio (NaOH)
- ✓ Reactivo de Kovacs
- ✓ Cristal violeta
- ✓ Lugol
- ✓ Alcohol-Cetona
- ✓ Safranina
- ✓ Agua destilada

14. ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO



Fuente. Diseño de estudio.

15. METODOLOGÍA

Se recolectaron 30 muestras de camarón de diferentes establecimientos de un mercado de la ciudad de Puebla, los cuales fueron guardados en hielera para evitar contaminación y mantener una temperatura óptima al momento de transportarlas. Posteriormente fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Químicas y fueron procesadas dentro de las 24 horas posteriores a su recolección.

15.1 Determinación del género *Vibrio*

1. Se colocaron 50 gramos muestra de camarón en una bolsa totalmente estéril y se añadieron 450 mL de agua peptonada alcalina (APA).
2. Posteriormente se homogenizó en Stomacher a 265 rpm (normal) por 1 minuto y se incubó la bolsa a una temperatura de 37°C por 24 horas.
3. Pasadas las 24 horas, se tomó una asada de la muestra y se transfirió por la técnica de estría cruzada a placas que contenían agar soya tripticaseína al 2% de NaCl y fueron incubadas a 37°C por 24 horas.
4. Al término del periodo de incubación, se tomó una colonia por muestra de las placas que contenían la presencia de colonias típicas, y se inocularon por estría cruzada en placas de agar TCBS y se incubaron a 37°C por 24 horas.
5. Terminado el tiempo de incubación, se realizaron pruebas bioquímicas utilizando TSI, LIA y MIO ajustadas al 3% de NaCl.

15.2 Determinación de *Salmonella* spp

Para la determinación de dicho género se llevó a cabo lo siguiente:

✓ **Pre-enriquecimiento**

1. Se pesaron 25 gramos de muestra de camarón en una bolsa totalmente estéril y se adiciono 225 mL de caldo lactosado.
2. Se homogenizó en Stomacher a 265 rpm (normal) por 1 minuto y se dejó reposar a temperatura ambiente por una hora.
3. Pasado el tiempo de reposo, se transfirió la muestra a frascos estériles de boca ancha y tapa hermética y se incubó a 37°C por 24 horas.

✓ **Enriquecimiento**

1. Una vez pasado el tiempo de incubación, se agitaron los frascos suavemente y se transfirió 1 mL de muestra en un tubo que contenía 9 mL de caldo tetratonato.
2. Se homogenizó e incubó a 37°C por 24 horas.

✓ **Aislamiento**

1. De los tubos de enriquecimiento incubados anteriormente, se tomó una asada y se inoculó por estría cruzada en agar verde brillante y sulfito de bismuto y se incubó a 37°C de 24 a 48 horas.

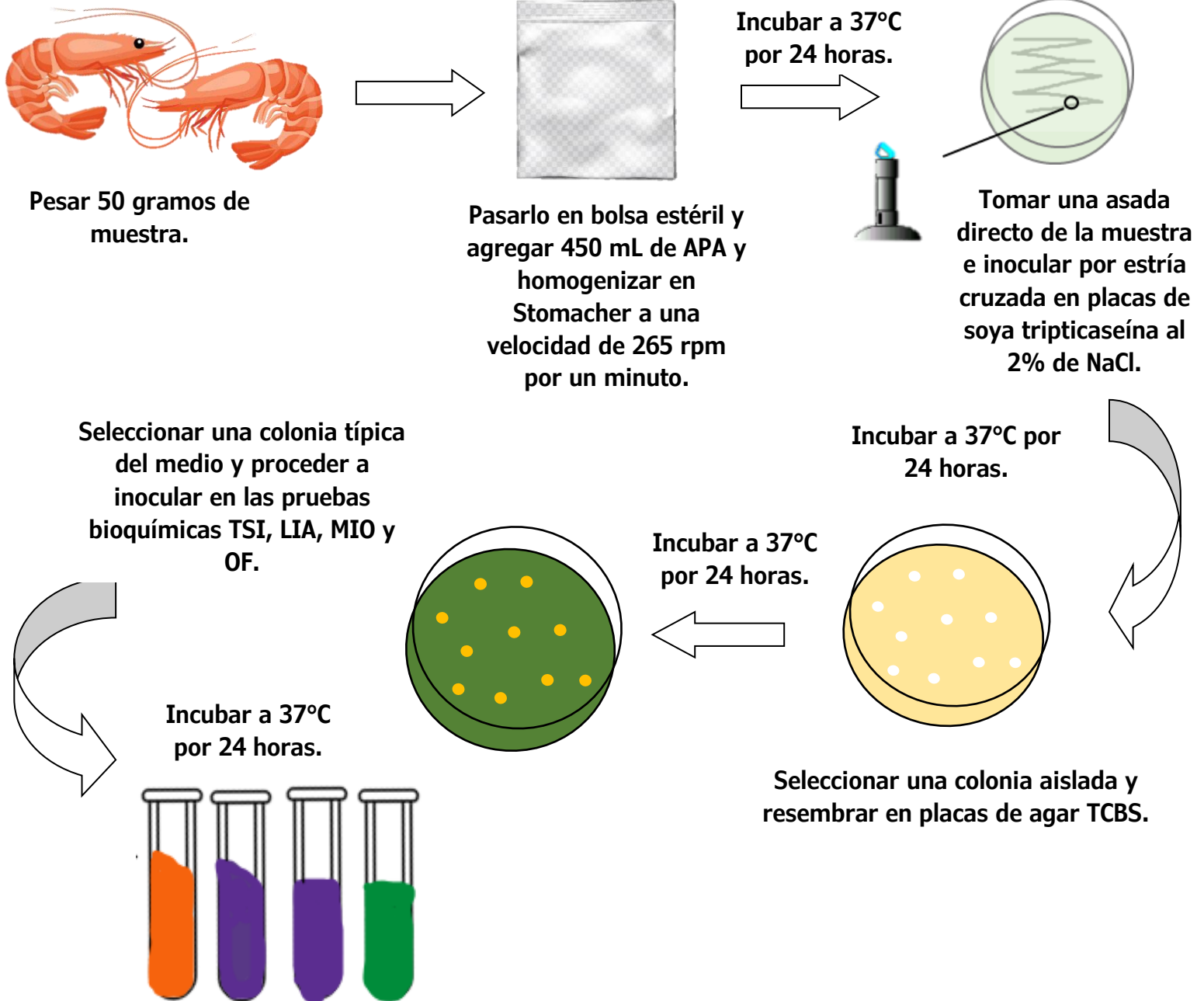
✓ **Identificación bioquímica**

1. Pasado el periodo de incubación, se seleccionó una colonia del medio sulfito de bismuto y se procedió a inocular las pruebas bioquímicas correspondientes: TSI, LIA, MIO, CITRATO, UREA y O/F.
2. Se incubaron a 37°C por 24 horas y se dio la interpretación para cada una de ellas.

15.3 Determinación de *E. coli*

1. Se colocó 10 gramos muestra de camarón en una bolsa totalmente estéril y se añadió 90 mL de APA (dilución 1:10).
2. Se homogenizó en Stomacher a una velocidad de 265 rpm (normal) por 1 minuto y se dejó reposar a temperatura ambiente por una hora.
3. A partir de la primera dilución, se transfirió 1 mL de muestra a un segundo y tercer tubo que contenían APA y se realizó la dilución 1: 100. y 1:1000.
4. Una vez preparadas las diluciones, se tomaron tubos que contenían 9 mL de caldo lactosado y campana de Durham y se rotularon conforme a la dilución correspondiente y se transfirió 1 mL de cada dilución a cada uno de los tubos y se incubaron a 37°C por 48 horas.
5. Pasado el tiempo de incubación, se tomaron los tubos que presentaron turbidez y formación de gas en la campana de Durham y se tomó una asada para inocularlos por estría cruzada en placas de agar Mac Conkey y agar EMB. Se incubaron a 37°C por 24 horas.
6. Pasado el periodo de incubación, se seleccionó una colonia del medio Mc Conkey y se inoculó en las pruebas bioquímicas TSI, LIA, MIO, CITRATO, UREA y O/F.
7. Se incubaron a 37°C por 24 horas y se dio la interpretación para cada una de ellas.

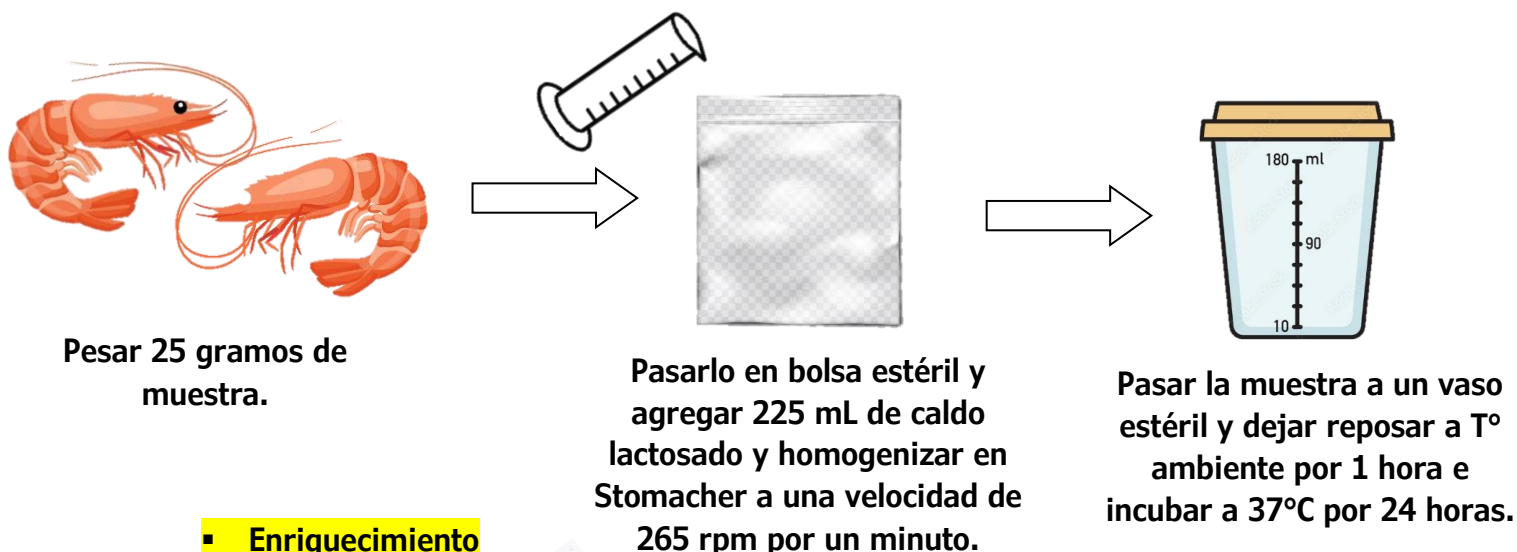
15.4 Diagrama de trabajo para la determinación de *Vibrio*



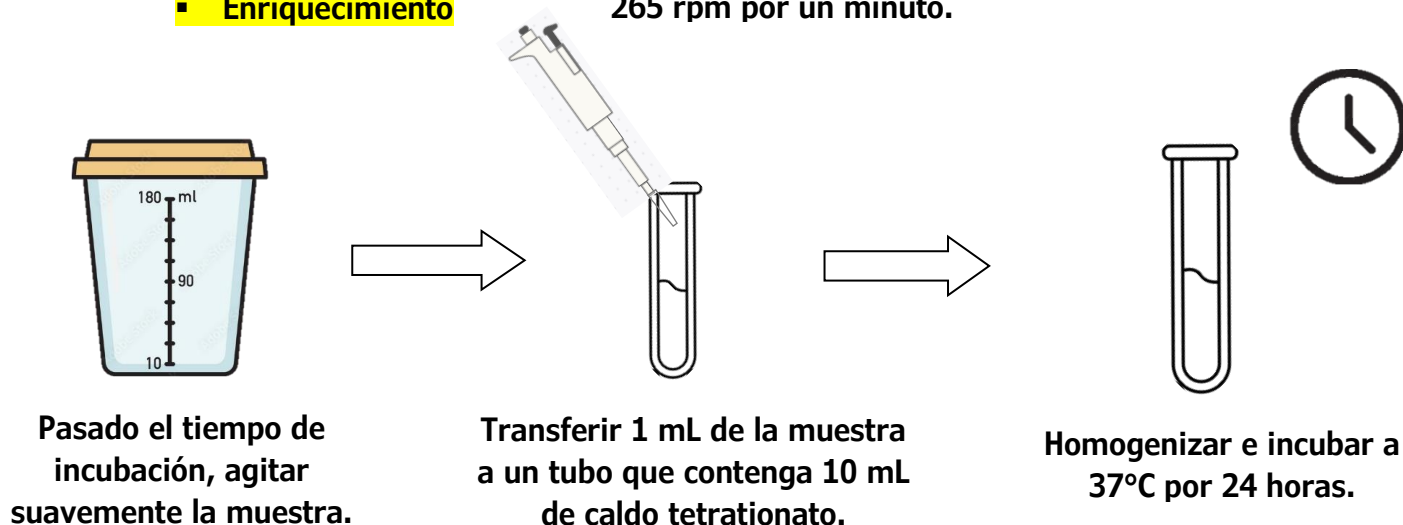
Fuente. Diseño del estudio. ^(61,67)

15.5 Diagrama de trabajo para la determinación de *Salmonella* spp

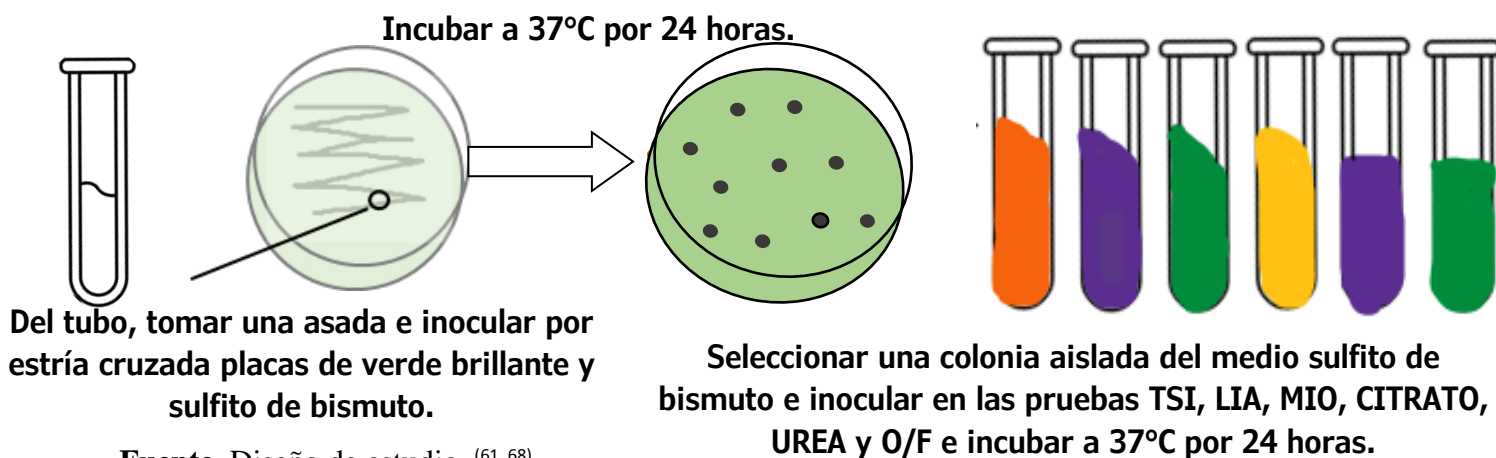
Pre-enriquecimiento



Enriquecimiento

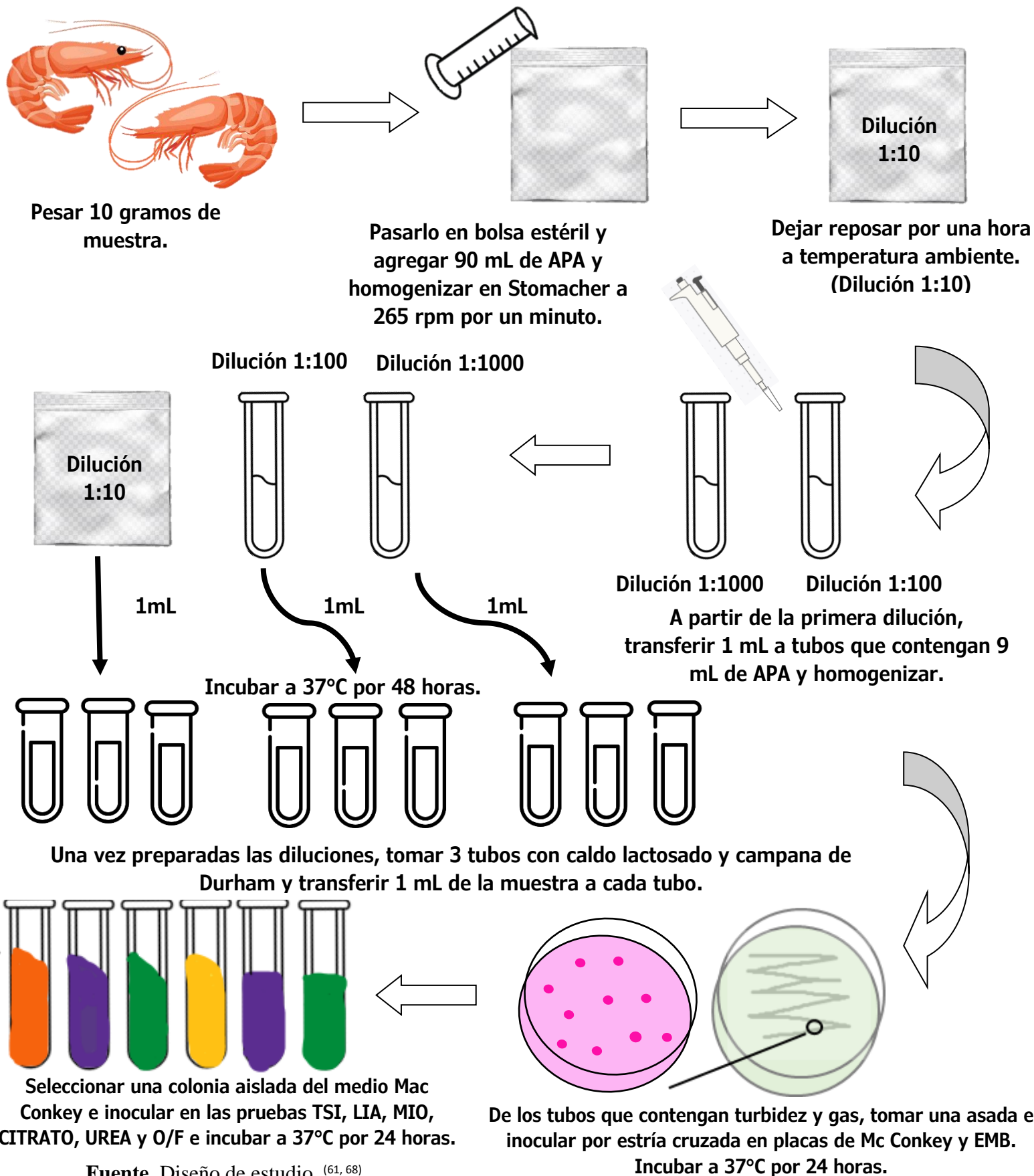


Aislamiento y pruebas bioquímicas



Fuente. Diseño de estudio. (61, 68)

15.6 Diagrama de trabajo para la determinación de *E. coli*



16. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio, se recolectaron 30 muestras de camarón blanco de diferentes establecimientos de un mercado de la ciudad de Puebla entre el periodo que comprende los meses de junio a agosto de 2022. Estos establecimientos fueron evaluados a través de una encuesta (**Anexo 1**), con la finalidad de saber si las condiciones de los establecimientos cumplen o no la normativa oficial para la venta del producto por medio de los resultados estadísticos obtenidos. Se abarcaron 2 puntos importantes:

- **Evaluación de establecimientos, equipo, utensilios y materia prima.**
- **Evaluación a vendedores**

Luego de haber procesado la información obtenida de las encuestas realizadas a los diferentes establecimientos comercializadores de camarón, los resultados son los siguientes:

Tabla 5. Resultados de encuesta realizada a establecimientos, equipo y utensilios.

Evaluación	Parámetros	Respuesta	Porcentaje
Establecimientos, equipo, utensilios y materia prima	Tipo de establecimiento	Vía pública	93%
		Local	7%
	Limpieza de locales	Sí	0%
		No	100%
	Limpieza de calles aledañas	Sí	0%
		No	100%
	Presencia de animales	Sí	0%
		No	100%
	Higiene de utensilios	Sí	3%
		No	97%
	Lavado de paños	Sí	3%
		No	97%
	Frescura del camarón	Sí	0%
		No	100%
	Pesaje de mercancía	Bolsa	50%
		Directo	50%

Residuos encontrados	Basura	
	Aguas negras Materia fecal	
Exhibidores de mercancía	Cajas de plástico	28.57%
	Charolas de aluminio	5.71%
	Periódico	2.85%
	Arpillas	2.85%
	Alfalfa	2.85%
	Tablas	17.14%
Condiciones de sanidad de hielo	Sí	3%
	No	97%
Condiciones de sanidad de agua	Sí	0%
	No	100%

Fuente. Resultado de estudio.

De acuerdo con la evaluación, se tiene que del 100% de los establecimientos, el 93% se encontraron ubicados en vía pública, lo cual hace que la mayoría carezcan de infraestructura adecuada, falta de agua potable, y drenaje, trayendo consigo olor fétido y la presencia de animales como cucarachas y moscas, lo cual pone de manifiesto que cualquier producto marino vendido en la zona puede ser blanco fácil de contaminación. Con respecto a los vendedores que cuentan con un establecimiento fijo, no cuentan con una buena limpieza, hay una deficiencia considerable de higiene dentro de las instalaciones: pisos con aguas negras encharcadas, olor fétido por mariscos en estado de descomposición, charolas y recipientes completamente sucios (**Figura 16**). Las calles que se ocupan como punto de venta de mariscos y aledañas a la zona carecen de una limpieza óptima, existe la presencia de diferentes residuos como son basura, aguas negras y materia fecal (**Figura 17**). El 97% de los utensilios utilizados para el corte del producto contaron con un lavado y desinfección nulos, los vendedores dejan así los utensilios para seguir vendiendo su mercancía con normalidad, lo cual causa que el problema pase desapercibido ante los vendedores y consumidores trayendo como consecuencia contaminación cruzada la cual es una de las principales causas de las ETA's. En cuanto a paños utilizados en estos negocios para la limpieza y desinfección, del 100% de los establecimientos, los paños se encontraban

totalmente sucios, se lograban observar con una coloración café debido a la suciedad impregnada que contenían y estaban desgastados por el uso repetitivo. El uso de paños para múltiples tareas puede poner en riesgo al consumidor aumentando las posibilidades de contaminación cruzada. ⁽⁶⁹⁾ Un estudio realizado por la Universidad de Mauricio, nos da como pauta que, de 100 muestras de paños de limpieza examinados durante un mes, casi en el 50% tuvieron un crecimiento bacteriano, destacando una bacteria de contaminación fecal, *E. coli*. ⁽⁷⁰⁾



Figura 16. Tipos de establecimientos ubicados para venta de mariscos en un mercado de la ciudad de Puebla. **a)** Establecimiento en vía pública. **b)** Establecimiento en local.



Figura 17. Residuos contaminantes encontrados en calles aledañas a puntos de venta de mariscos. **Fuente.** Resultado de estudio.

En cuanto a los parámetros de pesaje de mercancía, exhibidores, frescura del camarón, condiciones de sanidad de hielo y agua, deben cumplir con los puntos establecidos en la **NOM-242-SSA1-2009 (Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados)** los cuales están indicados para su cumplimiento en cualquier parte del país. Con respecto al pesaje de mercancía es de mucha importancia, ya que también puede ser foco de infección para el consumidor. Del 100% de los establecimientos, el 50% de los vendedores hizo su pesaje con el producto dentro de la bolsa, mientras que el otro 50% lo hizo en contacto directo con la báscula sin después desinfectarla para un pesaje nuevo (**Figura 18**).



Figura 18. Pesaje de camarón dentro de bolsa de plástico. **Fuente.** Resultado de estudio.

A lo que refiere a la evaluación de exhibidores, tanto en los establecimientos encontrados en vía pública como los que cuentan con un local, se observó que en su mayoría son respaldos que no cuentan con las especificaciones normativas: material resistente, superficie lisa, de fácil limpieza y desinfección. ⁽⁷¹⁾ Los exhibidores encontrados fueron: cajas de plástico con un porcentaje del 28.57%, tablas en un 17.14%, charolas de aluminio con el 5.71% y periódico, arpillas y alfalfa con el 2.85% (**Figura 19**). Del hielo utilizado para la exhibición de camarón, el 97% no cumplió con las especificaciones sugeridas por la normativa en donde indica que debe ser completamente blanco y para consumo humano, tenía la característica de ser color café, con presencia de residuos de basura, tierra y cabellos. El agua utilizada para el enfriamiento del camarón puede ser un elemento de contaminación. El 100% de

establecimientos no contó con condiciones adecuadas para su utilización ya que esta es reutilizada y agregada a la mercancía, con presencia de olor fétido, coloración negra y con residuos de basura (**Figura 20**).

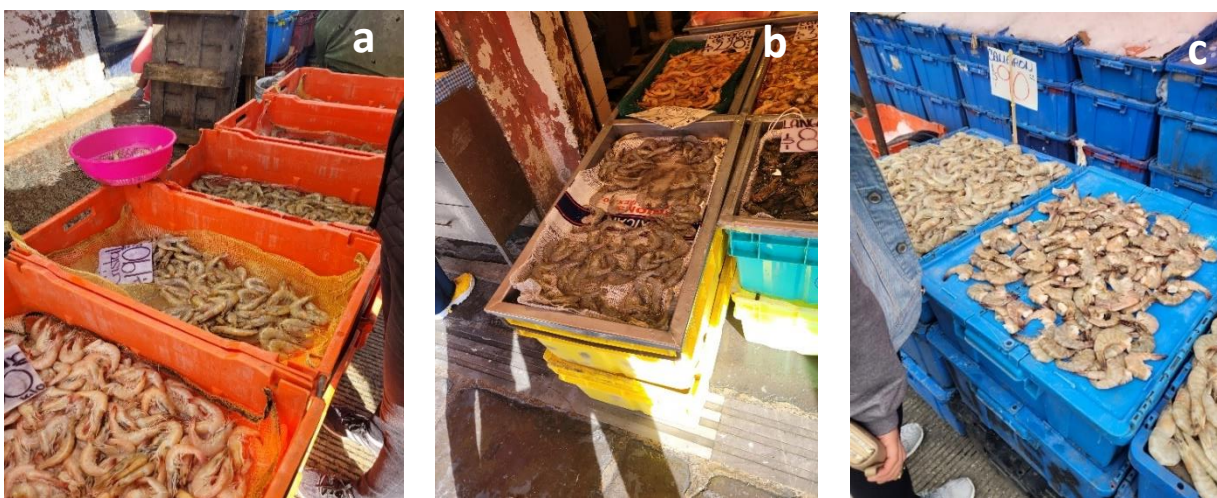


Figura 19. Exhibidores para la venta de camarón. **a)** Arpillas, cajas de plástico y tablas. **b)** Charolas de aluminio y periódico. **c)** Tapas de plástico. **Fuente.** Resultado de estudio.



Figura 20. Condiciones de sanidad de agua y hielo. **a)** Se observa el hielo de color blanco, pero con presencia de tierra, basura y cabellos. **b)** Agua utilizada para el enfriamiento de camarón. Se observa de coloración negra, con residuos de basura y olor fétido.

En cuanto a la evaluación de la materia prima se observó que está fuera de la normativa por las siguientes razones: del 100% de los locales evaluados sólo un 17% contó con una mercancía fresca y el 83% con una mercancía con días de almacenamiento evaluada mediante características sensoriales y teniendo como resultado: olor fétido, textura de exoesqueleto pegajosa al tacto sin adhesión a sus secciones y acompañados de manchas, lo cual refiere a

la presencia de dos síndromes característicos en camarón: **síndrome de la mancha del caparazón y síndrome de la mancha blanca (Figura 21).**

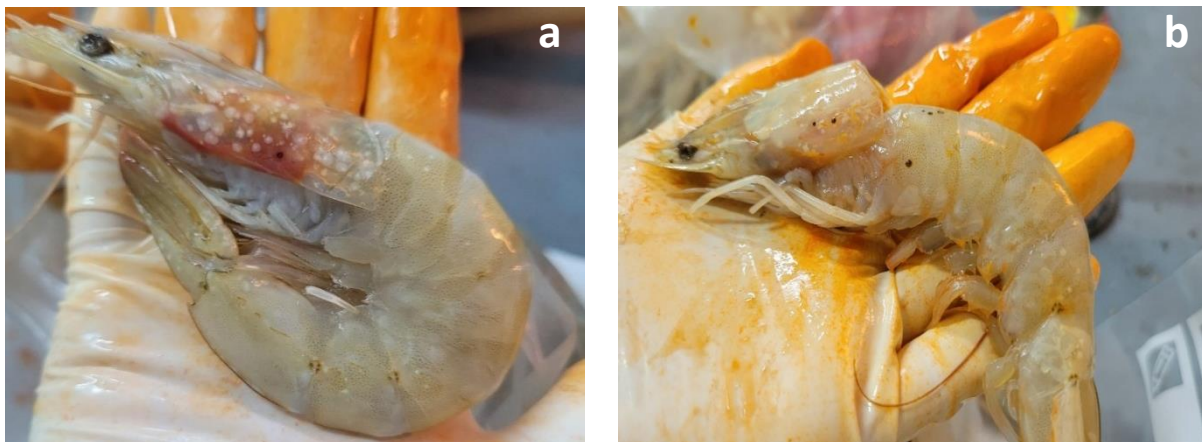


Figura 21. Síndrome de la mancha blanca y del caparazón en camarón. **a)** Presencia de manchas blancas en cefalotórax y abdomen. **b)** Presencia de manchas negras y blancas a lo largo del cefalotórax y abdomen. **Fuente.** Resultado de estudio.

El síndrome de la mancha del caparazón constituye un problema relacionado con infecciones en la cutícula, apéndices o branquias, se presenta en la etapa juvenil y adulta de todas las especies de camarones penaeidos en forma de manchas localizadas en tonos café a negro como producto de la acumulación de melanina. ⁽⁷²⁾ Esto crea una puerta que permite la entrada de bacterias quinolíticas y oportunistas, ⁽⁷³⁾ que se encuentran en la superficie del camarón o en el agua circundante, penetrando a través de lesiones produciendo degradación de la cutícula e invasión del organismo.

El síndrome de la mancha blanca es una enfermedad de curso agudo la cual es transmitida a través de agua contaminada. Se ha determinado en algunos casos que la enfermedad está relacionada con la presencia de bacterias oportunistas en la hemolinfa de los camarones (bacteriemia). Esta condición sugiere que las toxinas liberadas por las bacterias hacen que la cantidad sea abundante dentro del camarón. ⁽⁷⁴⁾

Teniendo en cuenta lo anterior, la calidad del camarón es completamente desconcertante y es un riesgo sanitario para el consumidor ya que es blanco fácil de contaminación por diferentes factores que trae como consecuencia la presencia de diferentes microorganismos como hongos y bacterias lo cual lleva a una tasa alta de enfermedades gastrointestinales en la población.

Tabla 6. Resultados de encuesta realizada a vendedores.

Evaluación	Parámetros	Respuesta	Porcentaje
Personal	Lavado de manos	Sí	10%
		No	90%
	Contacto directo con dinero	Sí	100%
		No	0%
	Cabello recogido	Sí	53%
		No	47%
	Vestimenta adecuada	Sí	0%
		No	100%
	Equipo adecuado para la venta de camarón	Guantes	0%
		Mandil	47.6%
		Cubrebocas	4.8%
		Cofia	0%
		Botas	47.6%
		Ropa adecuada	0%

Fuente. Resultado de estudio.

Por último, se hizo una evaluación al personal que se dedica a la venta del producto, es fundamental ya que de acuerdo con la norma deben cumplir con ciertas especificaciones. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Del 100% de vendedores, el 90% no tiene la higiene de lavarse las manos al inicio de la venta de su mercancía. Otra falta que es muy normal entre vendedores es que reciben el dinero después de haber vendido o cortado previamente el producto sin ningún tipo de protección en las manos, lo cual se repite con un nuevo comprador. Esto pone de manifiesto que el consumidor puede ser blanco de contaminación a causa de la contaminación cruzada que se lleva a cabo. En cuanto a las mujeres vendedoras, el 53% cuentan con el cabello recogido para la venta del producto, mientras que el 47% no sigue esta regla. Con respecto a vestimenta, el 100% no cuenta con un equipo adecuado, la mayoría cuenta solamente con botas en un 47.6 %, mandil con un 47.6 % y cubrebocas con un 4.8%. De acuerdo con la norma se debe asegurar que, al inicio de cada turno, el personal debe llevar consigo su equipo de trabajo como son: guantes, cofia, cubrebocas, botas, pantalón o camisolas para la

realización de sus actividades, sin embargo, tomando en cuenta lo anterior, se puede decir que no cumplen con el seguimiento de portar un equipo adecuado para la comercialización de estos productos.

16.1 Análisis microbiológico de muestras

Se dio paso al análisis microbiológico de las 30 muestras recolectadas. Para determinar su calidad microbiológica, se realizaron 3 determinaciones:

- Determinación de especies del género *Vibrio*.
- Determinación de *Salmonella* spp.
- Determinación de *E. coli*.

Una vez procesada la información, se obtuvieron los siguientes resultados que a continuación se describen.

16.1.1 Determinación de especies del género *Vibrio*

La positividad de *Vibrio* en las 30 muestras recolectadas fue de un 100%. Cabe destacar que la presencia de *Vibrio* no sólo abarca especies del serogrupo O1, el cual contiene la toxina colérica, sino que también de los serogrupos No-O1 y No-O139 que, aunque no producen la toxina, también pueden causar cuadros de gastroenteritis, los cuales no son menos importantes para considerarlos un peligro al consumidor.

Del 100% de estas muestras, el 80% corresponde a *Vibrio alginolyticus*, el 16.7% corresponde a la especie patógena de *V. cholerae* y el 3.3% a *V. vulnificus*.

Tabla 7. Especies del género *Vibrio* encontradas en muestras de camarón.

Especies de <i>Vibrio</i>	Frecuencia	Porcentaje
<i>V. alginolyticus</i>	24	80%
<i>V. cholerae</i>	5	16.7%
<i>V. vulnificus</i>	1	3.3%

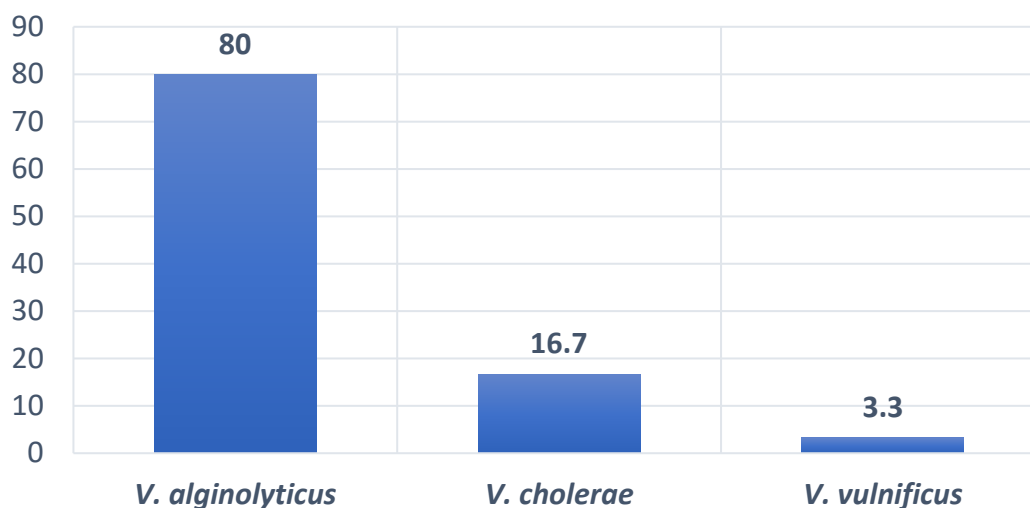


Gráfico 1. Porcentaje de especies del género *Vibrio* encontrados.

Para la identificación de dichos microorganismos se requiere la combinación de diferentes ensayos entre ellos, la utilización de un medio común, soya tripticaseína (**Figura 23**) y el medio selectivo TCBS (**Figura 24**) donde del 100% de las muestras, el 97% fueron fermentadores de sacarosa. Posteriormente se realizó la observación a través de la tinción de Gram (**Figura 25**) y la identificación por medio de una serie de pruebas bioquímicas (**Figura 26**) y con ayuda de una tabla de identificación (**Anexo 2**).



Figura 23. Crecimiento de *Vibrio* aislado por estría cruzada en agar soya tripticaseína. Se observan colonias blancas, pequeñas y circulares.



Figura 24. Crecimiento de *Vibrio* aislado por estría cruzada en agar TCBS (fermentador de sacarosa). Se presentan colonias color amarillo, pequeñas, circulares y bordes regulares.

Fuente. Resultado de estudio.

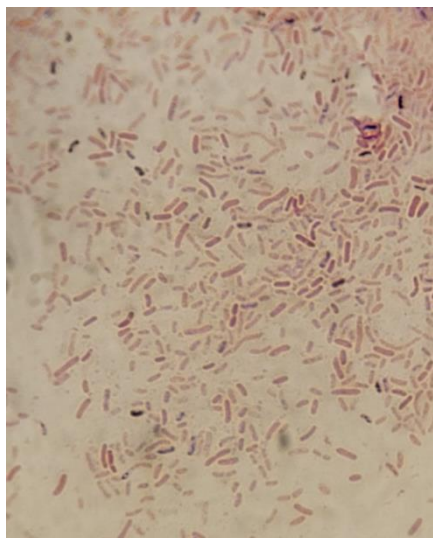


Figura 25. Microorganismos pertenecientes a *Vibrio* observados a 100x a través de tinción de Gram. Muestra tomada de placa TCBS. Se observan bacilos Gram negativos curvados o en forma de “coma”.

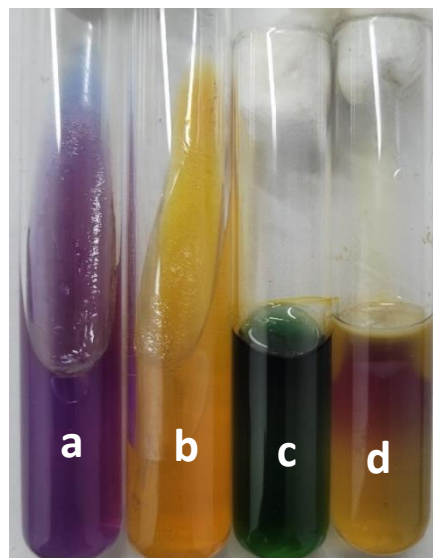


Figura 26. Resultados de pruebas bioquímicas para *Vibrio alginolyticus*. **a)** LIA (K/K), **b)** TSI (A/A); gas (-); H₂S (-), **c)** O/F (Oxidativo), **d)** Movilidad (+); Indol (-); Ornitina (-)

Las bacterias del género *Vibrio* se han reportado muy a menudo como patógenos oportunistas para camarón, tanto en la fase de lavicultura como en la de engorda.⁽⁷⁵⁾

Con respecto a los resultados obtenidos en dicha determinación, se pone de manifiesto la insalubridad de los alimentos de origen marino, en especial el camarón, el cual es vendido en establecimientos sin considerar la normativa vigente y comercializándolo en banquetas al aire libre, lo cual incrementa la proliferación de los microorganismos. Las personas que se dedican a la manipulación de este tipo de alimentos y los consumidores son susceptibles a contraer algún tipo de patología. Los mariscos son un vehículo bien documentado de transmisión de enfermedades causadas por las especies de *Vibrio*, especialmente por *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. cholerae*.⁽⁷⁶⁾ Representa un mayor riesgo que otros alimentos de origen marino debido a su actividad como animales filtrantes que concentra los patógenos presentes en el agua. A menudo se consumen vivos, crudos o después de un cocimiento insuficiente.

16.1.2 Determinación de *E. coli*

Para la determinación de *E. coli* se utilizaron medios como Mc Conkey y EMB para un óptimo crecimiento (**Figura 27**). Después la identificación de microorganismos fue respaldada por una serie de pruebas bioquímicas (**Anexo 3**), las cuales arrojaron los siguientes resultados: Del 100% de muestras procesadas solamente el 18% corresponde al microorganismo problema, mientras que el demás porcentaje está repartido entre diferentes microorganismos que se enlistan a continuación:

Tabla 8. Especies encontradas en muestras de camarón para determinación de *E. coli*.

Especies encontradas	Frecuencia	Porcentaje
<i>E. coli</i>	6	18%
<i>Citrobacter spp.</i>	7	21%
<i>Citrobacter freundii</i>	4	12%
<i>Enterobacter spp.</i>	1	3%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	6%
Bacterias Gram negativas no fermentadoras (BGNnF)	8	24%
<i>Shigella spp.</i>	4	12%
<i>Klebsiella spp.</i>	1	3%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	3%

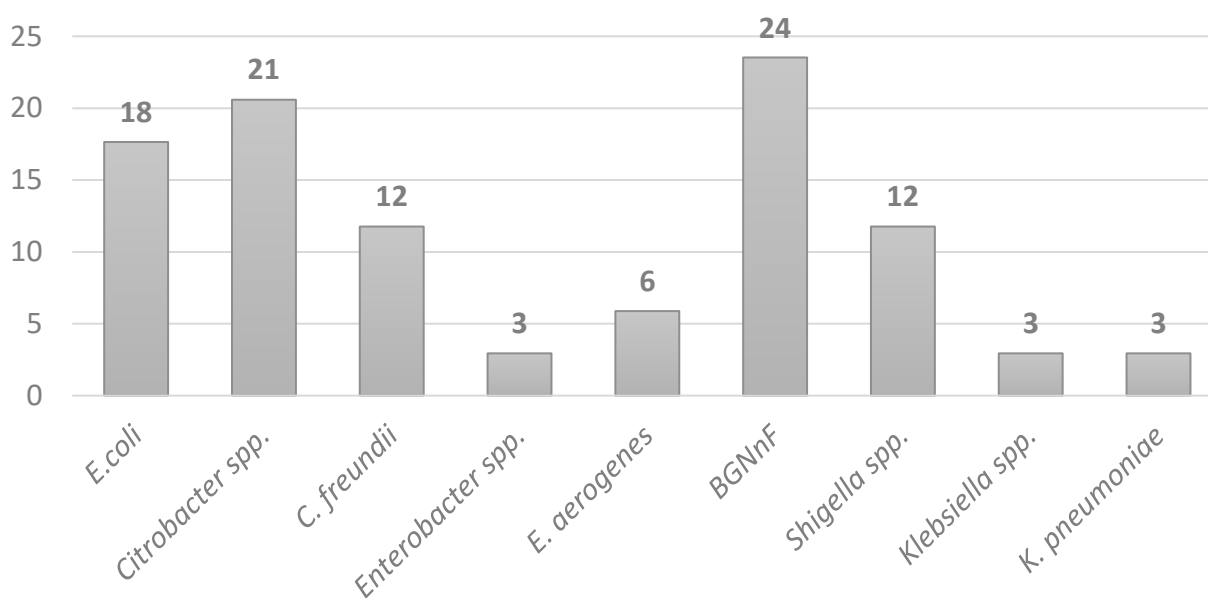


Gráfico 2. Porcentaje de especies encontradas para determinación de *E. coli*.

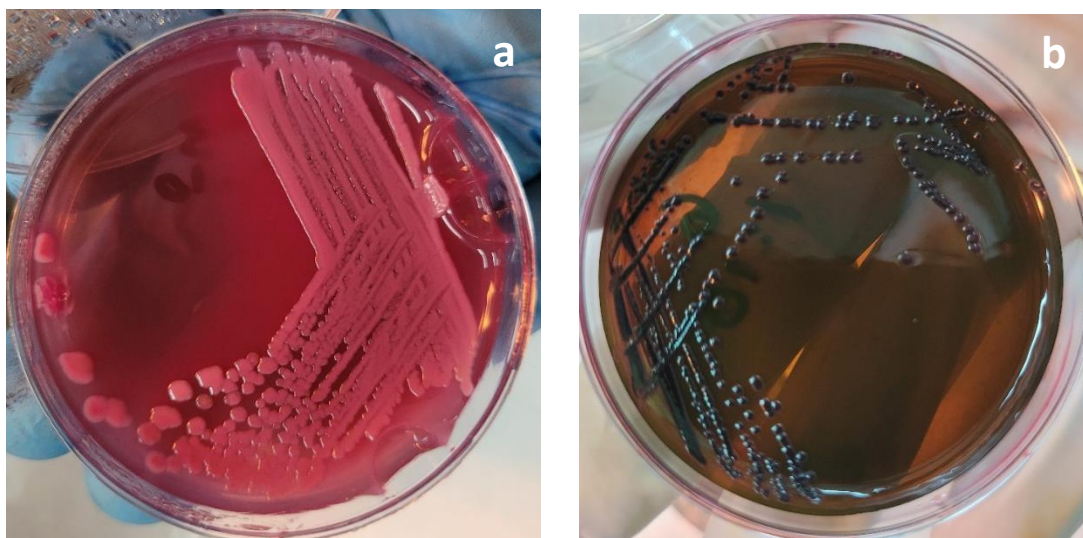


Figura 27. Crecimiento de *E. coli* aislado por la técnica de estría cruzada. **a)** Placa con agar Mc Conkey; se observan colonias rosadas, bordes indefinidos y diferentes tamaños. **b)** Placa con medio EMB; se observan colonias negras con brillo metálico, pequeñas y con bordes definidos.

La positividad de *E. coli* en el muestreo realizado fue menor en comparación a otros microorganismos encontrados (**Tabla 8**). De acuerdo con los resultados obtenidos se puede apreciar la presencia del género *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* los cuales junto con *E. coli* son considerados el grupo coliforme de bacterias entéricas.⁽⁷⁷⁾

Por otro lado, encontramos un porcentaje elevado de bacterias Gram negativas no fermentadoras los cuales abarcan casi el 24% de las muestras totales y por último encontramos la presencia de *Shigella* con el 12%.

La presencia de variedad de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y de bacterias Gram negativas no fermentadoras, hace saber que aunque la metodología planteada era exclusiva para la determinación de *E. coli*, había una cantidad más alta de otros microorganismos lo cual pone de manifiesto que las medidas de higiene, inocuidad y buenas prácticas de manufactura para el manejo de alimentos son inexistentes, determinando así que aunque la normativa vigente sea obligatoria para todo establecimiento, México es uno de los países que carece de ética y responsabilidad en ciertas regulaciones y donde la salud del consumidor es blanco fácil para la entrada de diferentes microorganismos los cuales llegan a causar infecciones de todo tipo y sin hacer distinción a los grupos de edad.

16.1.3 Determinación de *Salmonella* spp

Para la determinación de *Salmonella* spp se dio paso a la utilización de medios como agar sulfito de bismuto y verde brillante (**Figura 28**) para un crecimiento óptimo de las colonias problema, por consiguiente, para la prueba confirmatoria se dio paso a la utilización de pruebas bioquímicas (**Anexo 3**), las cuales arrojaron los siguientes resultados:

Tabla 9. Especies encontradas en muestras de camarón para determinación de *Salmonella*.

Especies encontradas	Frecuencia	Porcentaje
<i>Salmonella</i> spp	7	23 %
<i>Citrobacter</i> spp	12	40%
<i>Citrobacter freundii</i>	4	13 %
<i>Citrobacter kosari</i>	5	17%
<i>Proteus</i> spp	1	3 %
<i>Proteus vulgaris</i>	1	3%

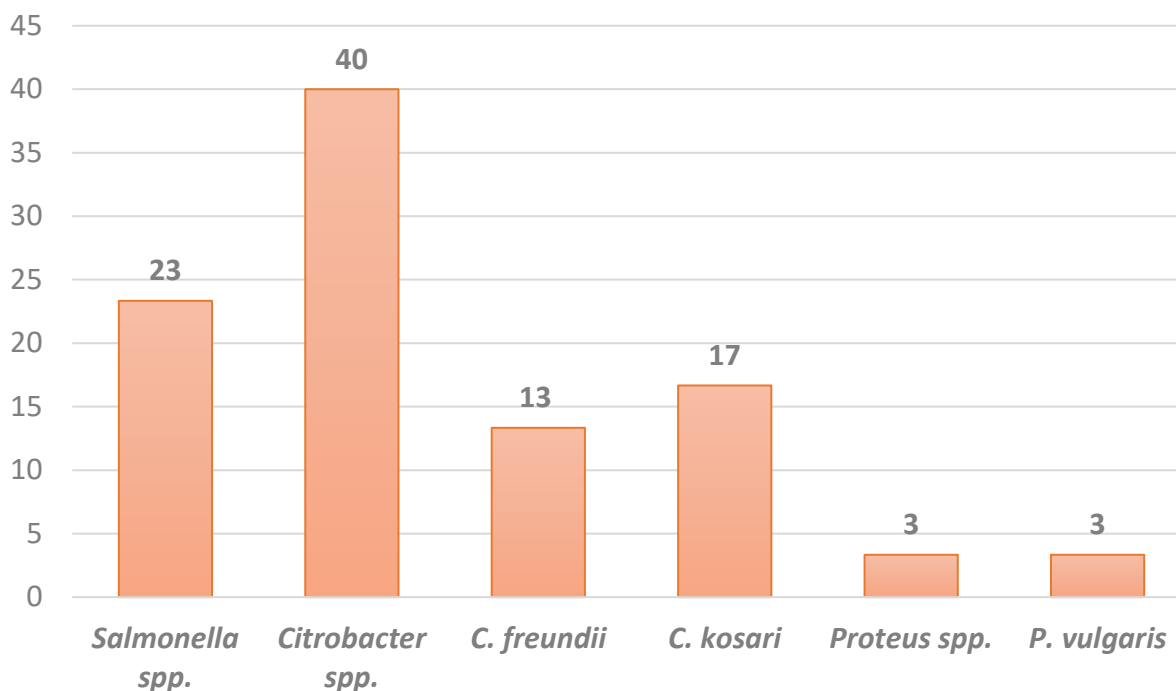


Gráfico 3. Porcentaje de especies encontradas para determinación de *Salmonella* spp.

Fuente. Resultado de estudio.

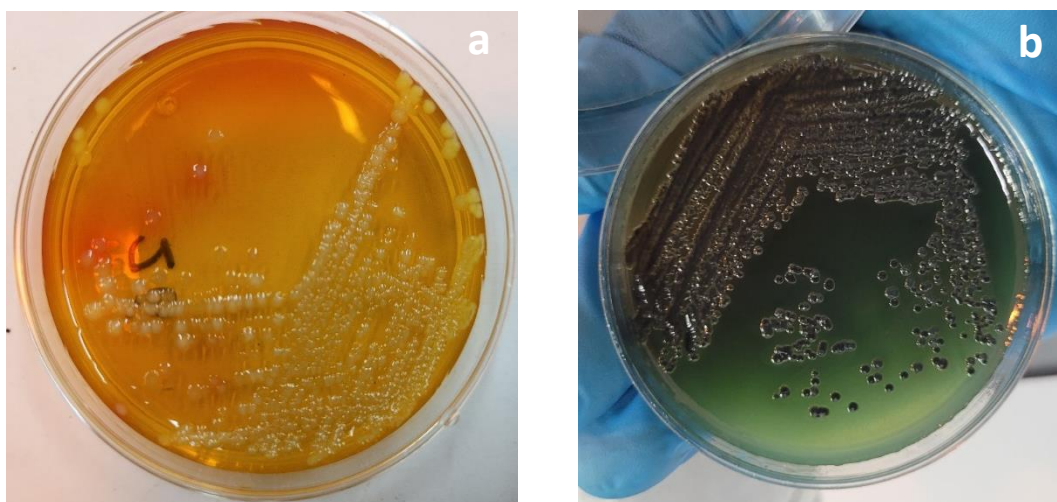


Figura 28. Crecimiento de *Salmonella* spp aislado por la técnica de estría cruzada. **a)** Placa con agar verde brillante; se observan colonias amarillas, bordes indefinidos y diferentes tamaños. **b)** Placa con medio sulfito de bismuto; se observan colonias pequeñas, negras, con halo color negro y con bordes definidos.

A lo que compete a la determinación de *Salmonella* spp, podemos observar que se obtuvo un total de 7 muestras positivas para dicho género con un porcentaje del 23%, de los cuales no mostraron un patrón bioquímico claro que pudiera sugerir alguna de las especies más reconocidas como patógenos en el ser humano. *Citrobacter* fue la bacteria más encontrada con un porcentaje de 40% hallándose en 12 de las 30 muestras trabajadas. *Citrobacter* es encontrado con mucha frecuencia en el agua, el suelo y comida, sus especies son causantes de infecciones importantes, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos como son infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales. En enfermedades gastrointestinales puede llegar a destruir las microvellosidades del intestino, formando lesiones muy características denominadas de adherencia y eliminación.⁽⁷⁵⁾ Una similitud encontrada en ambas determinaciones es que, aunque las bacterias problema se encuentren en bajos porcentajes, hay presencia de más microorganismos los cuales pueden causar un foco de alarma en la seguridad e inocuidad de los productos vendidos en la zona. Los resultados anteriores se atribuyen a la gran manipulación a la que se someten los alimentos de consumo fresco, la venta al aire libre y la deficiencia de prácticas de higiene y limpieza en la zona. En México la normativa nos señala que no se debe identificar la presencia de ningún agente bacteriano debido a que el consumo de carne contaminada o de mala calidad es causa de enfermedades en poblaciones humanas expuestas.⁽⁷⁸⁾

17. CONCLUSIONES

Se logró la determinación de microorganismos patógenos como *Vibrio* y *Salmonella*, así como *E. coli*, como indicador de contaminación fecal en las muestras de camarón analizadas, lo cual implica la presencia de malas prácticas higiénicas y un potencial riesgo para los consumidores del alimento.

18. SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

Con los resultados obtenidos se sugiere a los diferentes establecimientos en donde se da la venta de camarón y otros productos de origen marino realizar las adecuadas medidas higiénicas de desinfección en sus establecimientos conforme lo cita la NOM-242-SSA1-2009 para poder proporcionar a la población una venta segura, libre de microorganismos patógenos que pueden causar ETA's. Se recomienda el monitoreo constante de la secretaria de salud a los establecimientos del mercado e incrementar programas de buenas prácticas de calidad e inocuidad que aseguren la buena manufactura, venta y distribución del camarón en la zona.

19. ANEXOS

Anexo 1. Encuesta realizada para la evaluación de establecimientos.

Características sanitarias de establecimientos y vendedores

Número de establecimiento:

Fecha:

• ESTABLECIMIENTOS, EQUIPO, UTENSILIOS Y MATERIA PRIMA

1. ¿El establecimiento se encuentra en vía pública o dentro de un local?
a) Vía pública b) Local
2. Si el establecimiento se encuentra dentro de un local, ¿Cuenta con buena limpieza?
a) Sí b) No
3. ¿Qué respaldos tienen para exhibir los mariscos?
4. ¿Las calles ocupadas para punto de venta y aledañas a la zona cuentan con buena limpieza?
a) Sí b) No
5. ¿Qué residuos se encuentran en la calle?
a) Basura b) Aguas negras c) Materia fecal
6. ¿La mercancía se observa fresca?
a) Sí b) No
7. ¿El hielo se encuentra transparente?
a) Sí b) No
8. Si el hielo no se encontrará en buenas condiciones, ¿De qué color se observa?
9. Los utensilios que se ocupan para el corte de los mariscos (cuchillos, tijeras, tablas, etc.), ¿se encuentran con buenas condiciones de higiene?
a) Sí b) No
10. ¿Los paños de limpieza del establecimiento se encuentran adecuadamente lavados?
a) Sí b) No
11. ¿El establecimiento cuenta con presencia de animales (moscas, cucarachas, roedores)?
a) Sí b) No

• VENEDORES

1. ¿La persona utiliza la vestimenta adecuada al momento de despachar?
a) Sí b) No
2. ¿La persona, se lava las manos antes de despachar la mercancía al cliente?
a) Sí b) No
3. ¿El vendedor recibe el dinero con los guantes puestos?
a) Sí b) No
4. ¿Las mujeres tienen el cabello recogido?
a) Sí b) No




Anexo 2. Tabla para identificación de especies del género *Vibrio*

MICROORGANISMO	COLONIA	TSI	LIA	M	I	O	CALDO PEPTONADO	ARGININA	ROJO DE METILO	V.P	OXIDASA	CALDO NUTRITIVO CON NaCl (%)						GAS	
												0	1	3	6	8	10		12
<i>Vibrio cholerae</i>	Amarilla	A (K)/A	K/K	+	+	+	+	-	+/-	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Amarilla	A/A	K/K	+	+/-	V	+	-	+	+/-	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-
<i>Vibrio charchariae</i>		A (K)/A	K/K	-	+	-	+	-	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio cincinnatiensis</i>	Amarilla	A (K)/A	K/K (A)	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-
<i>Vibrio damsella</i> **	Amarilla	K/A	K/K (A)	-/+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio fluvialis</i>	Amarilla	A/A	K/A	+	-/+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio furnissi</i>	Amarilla	A (K)/A	K/A	+	-/+	-	-/+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio hollisae</i>	Verde	K/A	K/A	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio metschnikovii</i>	Amarilla	A/A	K/A	+	-/+	-	+	+/-	+	+	-	+	+	+	V	-	-	-	-
<i>Vibrio mimicus</i>	Verde	A (K)/A	K/K	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> *	Azul-verde	K/A	K/K	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	Azul-verde	A (K)/A	K/K	+	+	V	+	-	-	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-	-

* : Ureasa positivo
 - : 0 a 10 % de positividad
 -/+ : 11 a 39 % de positividad
 V : 40 a 60 % de positividad
 +/- : 61 a 90 % de positividad
 + : 91 a 100 % de positividad

Tomada de: Secretaría de Salud, 2018.

Anexo 3. Pruebas bioquímicas para determinación de *Salmonella* y *E. coli*

Nombre	Interpretación	Resultados
<i>Citrobacter</i> spp	1) TSI: A/A Gas: (+) H ₂ S: (+) 2) LIA: K/A (-) con H ₂ S 3) UREA: (+) 4) CITRATO: (+) 5) O/F: Fermentativo 6) M: (+) I: (-) O: (+)	
<i>Citrobacter koseri</i>	1) TSI: K/A Gas: (+) H ₂ S: (-) 2) LIA: K/A (-) 3) CITRATO: (+) 4) UREA: (+) 5) M: (+) I: (+) O: (+) 6) O/F: Fermentativo	
<i>Citrobacter freundii</i>	1) TSI: A/A Gas: (+) H ₂ S: (+) 2) LIA: K/A (-) con H ₂ S 3) CITRATO: (+) 4) UREA: (-) 5) M: (+) I: (-) O: (+) 6) O/F: Fermentativo	

Salmonella spp

- 1) **TSI:** K/A Gas: (+)
H₂S: (+)
- 2) **LIA:** K/K (+) con
H₂S
- 3) **CITRATO:** (+)
- 4) **UREA:** (+)
- 5) **O/F:** Fermentativo
- 6) **M:** (+) **I:** (-) **O:** (+)



E. coli




- 1) **TSI:** A/A Gas: (+)
H₂S: (-)
- 2) **LIA:** K/K (+)
- 3) **UREA:** (-)
- 4) **CITRATO:** (-)
- 5) **O/F:** Fermentativo
- 6) **M:** (+) **I:**(+) **O:** (+)



Proteus vulgaris

- 1) **TSI:** K/A Gas: (+)
H₂S: (+)
- 2) **LIA:** R/A (-) con
H₂S
- 3) **CITRATO:** (-)
- 4) **UREA:** (+)
- 5) **O/F:** Fermentativo
- 6) **M:** (+) **I:**(+) **O:** (+)



<p><i>Proteus spp</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) TSI: A/A Gas: (+) H₂S: (+) 2) LIA: R/A (-) con H₂S 3) CITRATO: (+) 4) UREA: (+) 5) O/F: Fermentativo 6) M:(+) I: (+) O: (+) 	
<p>Bacterias Gram negativas no fermentadoras (BGNnF)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) TSI: K/Sc Gas: (-) H₂S: (-) 2) LIA: K/K (+) 3) CITRATO: (+) 4) UREA: (+) 5) O/F: Oxidativo 6) M:(+) I: (/) O: (/) 	
<p><i>Shigella spp</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) TSI: K/A Gas: (+) H₂S: (-) 2) LIA: K/K (+) 3) CITRATO: (-) 4) UREA: (-) 5) O/F: Fermentativo 6) M:(+) I: (-) O: (+) 	

Enterobacter aerogenes

- 1) **TSI:** A/A Gas: (-)
H₂S: (-)
- 2) **LIA:** K/K (+)
- 3) **CITRATO:** (+)
- 4) **UREA:** (-)
- 5) **M:(+) I: (-) O: (+)**
- 6) **O/F:** Fermentativo



Klebsiella pneumoniae

- 1) **TSI:** A/A Gas: (-)
H₂S: (-)
- 2) **LIA:** K/K (+)
- 3) **CITRATO:** (+)
- 4) **UREA:** (+)
- 5) **M:(-) I: (-) O: (-)**
- 6) **O/F:** Fermentativo



Cápsulas de *Klebsiella pneumoniae* observado en microscopio a 40 x por la técnica de tinción negativa (tinta china).



Nota. La interpretación de las pruebas bioquímicas va conforme al orden de los tubos en las imágenes (de izquierda a derecha).

20. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carrasco, I. R. Z., & Lozano, J. C. (2019). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 37(3), 95-104. <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf>
2. Benítez Serrano, J. C., Cabrera Maldonado, C., Lobo Sánchez, A. M. de los A., Luzuriaga Galicia, J., Tejada Trujillo, F., & Villagrán Padilla, C. L. (2013). *Manual Inocuidad microbiana de los alimentos*.
3. ANMAT. (2015). *Enfermedades transmitidas por alimentos*. Anmat.gov.ar. <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/eta.pdf>
4. World Health Organization & World Health Organization. (2016). *Who Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007-2015*. World Health Organization.
5. De la Cruz González, R., & Rosales Uribe, R. E. (2017). *Enfermedades transmitidas por alimentos: impacto en la población pediátrica y su prevención (Primera Parte)*. Revista de enfermedades infecciosas en pediatría. <https://eipediatria.com>
6. Jiménez Lucas, M., Svarch Pérez, A. E., Álvarez Torres, P., & Sorchini Castro, P. E. (2021). Retos de la evolución del control sanitario de alimentos: Hacia una evaluación integral de la operación sanitaria nacional. *COFEPRIS*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/680926/Revista_Ciencia_Cofepris_2_-_Alimentos.pdf
7. SAGARPA. (2015). *Análisis de las cadenas productivas del sistema producto camarón en el litoral del pacífico mexicano*. gob.mx. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/347534/Camaron_Reporte_Ejecutivo.pdf
8. Häussermann, V., & Försterra, G. (2009). *Marine Benthic Fauna of Chilean Patagonia: Illustrated Identification Guide*. Nature in Focus.
9. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). *El camarón, con salsita y con limón, salud y nutrición*. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/camaron-mexicano-un-crustaceo-muy-nutritivo>

10. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2020). *Produjo México 47 mil 664 toneladas de camarón en la temporada de captura 2019-2020: Agricultura*. gob.mx. <https://www.gob.mx/conapesca/articulos/produjo-mexico-47-mil-664-toneladas-de-camaron-en-la-temporada-de-captura-2019-2020-agricultura>
11. Instituto Nacional de Pesca. (2018). *Acuacultura camarón blanco del pacífico*. gob.mx. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-camaron-blanco-del-pacifico>
12. Bioaquafloc. (2018). *¿Qué es el langostino o camarón vannamei?* Bioaquafloc. <https://www.bioaquafloc.com/que-es-el-langostino-o-camaron-vannamei/>
13. Olivas Valdez, J. Á. (2008). *Evaluación de la carga parasitaria del camarón cultivado en baja california y efecto del virus de la mancha blanca (WSSV) de diferentes salinidades* [Tesis de Doctorado]. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada.
14. Cuéllar Anjel, J. (2013). *Vibriosis*. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/vibriosis-in-shrimp-es.pdf>
15. Palit, A., & Nair, G. (2014). Bacteria: Other Vibrios. *Encyclopedia of Food Safety*, 570-573. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-378612-8.00120-7>
16. Vanden Broeck, D., Horvath, C., & De Wolf, M. J. (2007). *Vibrio cholerae: Cholera toxin*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(10), 1771-1775. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.07.005>
17. Safa, A., Nair, G. B., & Kong, R. Y. (2010). Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends in Microbiology*, 18(1), 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>
18. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022). *Vibrio cholerae (incluido El Tor)*. insst.es. <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/vibrio-cholerae-incluido-tor>
19. Sánchez Lera, R. M., & Pérez Vázquez, I. A. (2014). *Cólera: Historia de un gran flagelo de la humanidad*. scielo.sld.cu. <http://scielo.sld.cu/pdf/hmc/v14n2/hmc18214.pdf>
20. Robles Espinosa, L. A., García, R. M., & Torres López, J. (1999). Toxinas de *Vibrio cholerae*. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 46(4). <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-1999/pt994i.pdf>

21. Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F., & Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-19. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0005-8>
22. Fernández, S., & Alonso, G. (2009). *Cólera y Vibrio cholerae*. scielo.org. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772009000200006
23. RENAPRA. (2015). *Cólera: Enfermedades transmitidas por alimentos*. ANMAT. <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Publicaciones/Colera.pdf>
24. Guzmán Pantoja, D. R., Quiróz Santiago, C., & Quiñónez Ramírez, E. I. (2005). Un enemigo marino silencioso: *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista Digital Universitaria (1607-6079)*. Vol. 6, No.4 (2005), 6(4), 3-4. <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num4/art33/art33.htm>
25. Área Soporte al Análisis de Riesgo. (2017). *Vibrio parahaemolyticus*. ACHIPIA. <https://www.achipia.gob.cl/wpcontent/uploads/2018/03/Ficha-Peligro-08-Vibrio-parah-v01.pdf>
26. Su, Y. C., & Liu, C. (2007). *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. *Food Microbiology*, 24(6), 549-558. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.01.005>
27. Broberg, C. A., Calder, T. J., & Orth, K. (2011). *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. *Microbes and Infection*, 13(12-13), 992-1001. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.06.013>
28. Zhang, L., & Orth, K. (2013). Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Current Opinion in Microbiology*, 16(1), 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.02.002>
29. Dávalos Mecalco, S. G., Natividad Bonifacio, I., Vázquez Salinas, C., & Quiñónez Ramírez, E. I. (2005). Patógeno oportunista: *Vibrio vulnificus*. *Revista Digital Universitaria*, 6(4), 1-10. http://www.revista.unam.mx/vol.6/num4/art32/abr_art32.pdf
30. Carrasco, I. R. Z., & Lozano, J. C. (2013). *Vibrio vulnificus* una bacteria al acecho en las playas. *Revista de Enfermedades Infecciosas En Pediatría*, 110, 532-534. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinped/eip-2014/eip144e.pdf>
31. Fonseca Flores, M., Lizárraga López, S. L., & De Colsa Ranero, A. (2013). Choque séptico por *Vibrio vulnificus*: Reporte de un caso en pediatría. *Revista de Enfermedades Infecciosas*

En Pediatría, 27(106), 377-383. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2013/eip134g.pdf>

32. Infección de piel y partes blandas por *Vibrio vulnificus*. Comunicación de un caso diagnosticado en Argentina. (2022). *Medicina*, 82(6), 943-946. https://www.aam.org.ar/src/img_up/13012019.0.pdf
33. Li, L., Meng, H., Gu, D., Li, Y., & Jia, M. (2019). Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis. *Microbiological Research*, 222, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.03.003>
34. Villacrés, D., Díaz, L. I., Herrera, P., Naranjo, F., Vargas, A. C., Sierra, E., Freire, D., Palacios, E., Paez, J., & Zurita, J. (2013). Sepsis por *Vibrio vulnificus*: Reporte de dos casos en ciudades de altura en el Ecuador. *Revista Médica Vozandes*, 24(1-3), 53-58. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/09/1015300/03_rc.pdf
35. Patterson TF, Bell SR, Bia FJ. *Vibrio alginolyticus* cellulitis following coral injury. *Yale J Biol Med* 1988; 61:507-512.
36. Rubín SJ, Tilton RC. Isolation of *Vibrio alginolyticus* from infections. *J Clin* 1975, 2:556-558.
37. Schmidt U, Chmel H, Cobbs C. *Vibrio alginolyticus* infections in humans. *J Clin* 1979, 10:666-668.
38. Opal SM, Saxon JR. Intracranial infection by *Vibrio alginolyticus* following injure in salt water. *J Clin* 1986; 23:373-374.
39. Pérez Guerrero, P., Galán Sánchez, F., Gutiérrez Saborido, D., & Guerrero Lozano, I. (2014). Infecciones por enterobacterias. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(55), 3276-3282. [https://doi.org/10.1016/s0304-5412\(14\)70768-1](https://doi.org/10.1016/s0304-5412(14)70768-1)
40. Ruiz-Roldán, L., Martínez-Puchol, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T. J., Ruiz, J., & Pons, M. J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(3), 425. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3737>

41. Cobo Reinoso, F. J., & Rodriguez Iglesias, M. (2005). *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.: Infecciones por enterobacterias oportunistas* (1.ª ed.). Médica Paramericana.
42. Marschall, J., Zhang, L., Foxman, B., Warren, D. K., & Henderson, J. P. (2012). Both Host and Pathogen Factors Predispose to Escherichia coli Urinary-Source Bacteremia in Hospitalized Patients. *Clinical Infectious Diseases*, 54(12), 1692-1698. <https://doi.org/10.1093/cid/cis252>
43. Parra, M. A., Durango, J., & Mattar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella. *Revista Mvz Cordoba*, 7(2), 187-200. <https://doi.org/10.21897/rmvz.521>
44. RENAPRA. (2017). *Salmonelosis: Enfermedades transmitidas por alimentos*. ANMAT. <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/salmonelosis.pdf>
45. Quiros Cárdenas, S. (2016). Infecciones por bacterias del género Salmonella: Relevancia en la práctica clínica. *Revista Clínica de La Escuela de Medicina UCR-HSJD*. https://doi.org/10.15517/rc_ucr-hsjd.v6i4.26925
46. Alfaro Mora, R. (2019). Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*, 34(3). <https://revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/957/208>
47. Institute for international cooperation in animal biologics. (2005). *Salmonelosis: Salmonelosis paratifoide, no tifoidea*. The center for food security and public health. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/salmonelosis.pdf>
48. Hardy, A. (2004). Salmonella: a continuing problem. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 541-545. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2003.016584>
49. Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
50. Michanie, S. (2015). Salmonella en alimentos. Cambio de paradigma. Parte 1. *La Alimentación Latinoamericana*, 319, 63-68.

51. Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A., & Gómez-Duarte, O. G. (2011). Salmonella infections: An update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 9(6), 263-277. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2011.11.001>
52. Bhan, M., Bahl, R., & Bhatnagar, S. (2005). Typhoid and paratyphoid fever. *The Lancet*, 366(9487), 749-762. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67181-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67181-4)
53. Galanis, E., Wong, D. M. L. F., Patrick, M. E., Binsztein, N., Cieslik, A., Chalermchaikit, T., Aidara-Kane, A., Ellis, A., Angulo, F. J., & Wegener, H. C. (2006). Web-based Surveillance and Global Salmonella Distribution, 2000–2002. *Emerging Infectious Diseases*, 12(3), 381-388. <https://doi.org/10.3201/eid1205.050854>
54. Nwabor, O. F., Dickson, I. D., & Ajibo, Q. C. (2015). Epidemiology of Salmonella and Salmonellosis. *International Letters of Natural Sciences*, 47, 54-73. <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ilns.47.54>
55. Figueiredo R., Henriques A., Sereno R., Mendonça N., Da silva G.J. (2015). Antimicrobial resistance and extended-spectrum β -lactamases of Salmonella enterica serotypes isolated from livestock and processed food in Portugal: an update. *Foodborne Pathog. Dis.*, 12, 110–117.
56. U. S. Department of Health and Human Services, Administration, U. S. F. D., Services, U. S., Nutrition, C. F. S. A., & de Services, U. S. (2017). *Bad Bug Book Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins 2nd Edition*. Van Haren Publishing.
57. Salas Vargas, C. R. (2014). *Elaboración y evaluación del material didáctico variedades enterovirulentas de Escherichia coli* [Tesis de Licenciatura]. UNAM.
58. Rodríguez-Angeles, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. *Salud Publica De Mexico*, 44(5). <https://doi.org/10.1590/s0036-36342002000500011>
59. Reyes Ramírez, A. (s. f.). *Escherichia coli* [Diapositivas]. uv.com. <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/escherichia-coli-i.pdf>
60. *Escherichia coli*. (2022). ELIKA Seguridad Alimentaria. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/escherichia-coli/>

61. León Merlos, R. (2011). *Investigación de Vibrio vulnificus en ostiones recolectados en marisquerías de la Ciudad de Puebla*. [Tesis de Licenciatura]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
62. Benítez Cotzomi, P. S. (2016). *Aislamiento e identificación de las especies patógenas Vibrio cholerae, Vibrio vulnificus y Vibrio parahaemolyticus en muestras de camarones y moluscos bivalvos en el Departamento de Vigilancia Sanitaria del Laboratorio de Salud Pública del Estado de Puebla* [Tesis de Licenciatura]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
63. Rojas Ruíz, N. E., Muñoz Zurita, G., Gárate Vélez, L., González Montesinos, D. V., & Del Pozo González, M. F. (2013). *Aislamiento microbiológico de Vibrio cholerae y Vibrio parahaemolyticus en muestras de camarón coctelero en la Ciudad de Puebla*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 33(4), 147-151.
64. Quiñones Ramírez, E. I., Vázquez Salinas C., Pedroche F. F., Moreno Sepúlveda I., Rodas Suárez O. R. (2000). *Presencia de los géneros de Vibrio y Salmonella y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México*. *Hidrobiológica*. 10(2), 131-138.
65. Comité nacional para la vigilancia epidemiológica. (2022). *Aviso epidemiológico. Cólera*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/765832/AE_Colera_051022.pdf
66. Cecilia, H. C., Guadalupe, A. A. M., & Graciela, C. E. (2010). *Situación de las enfermedades gastrointestinales en México*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4), 137-151.
67. Secretaria de Salud. (1993). *Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Crustáceos fresco-refrigerados y congelados. Especificaciones msanitarias*.
68. Secretaria de Salud (2014). *Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y Servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos*.
69. BBC News Mundo. (2018). *Por qué reutilizar los paños de cocina supone un riesgo para la salud (y cómo evitarlo)*. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-44428554>
70. Interactivo, E. M. (2020). *Los trapos de cocina podrían contribuir al crecimiento de patógenos que causan intoxicación alimentaria*. El médico interactivo. <https://elmedicointeractivo.com/los-trapos-de-cocina-podrian-contribuir-al-crecimiento-de-patogenos-que-causan-intoxicacion-alimentaria/>

71. Secretaria de Salud. (2009). *Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009. Productos y Servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.* dof.gob.mx. <https://dof.gob.mx/normasOficiales/4295/salud2a/salud2a.htm>
72. Hasson, K., Fan, Y., Reisinger, T., Venuti, J., & Varner, P. (2006). White-spot syndrome virus (WSSV) introduction into the Gulf of Mexico and Texas freshwater systems through imported, frozen bait-shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 91-100. <https://doi.org/10.3354/dao071091>
73. Durand, S., Lightner, D., Redman, R., & Bonami, J. (1997). Ultrastructure and morphogenesis of White Spot Syndrome Baculovirus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms*, 29, 205-211. <https://doi.org/10.3354/dao029205>
74. Rubio, M. (2017). *Enfermedad de la mancha del caparazón en el camarón de cultivo Litopenaeus vannamei.* <https://aquadocs.org/handle/1834/9808>
75. Argilagos, G. B. (2010). *Agentes bacterianos asociados a brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en Camagüey, Cuba, durante el período 2000-2008.* Redalyc.org. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63613118002>
76. Rodríguez, C. J. C., Méndez, E., Rivas, M. A. M., Cortés, R. J. A. (2014). Evaluación de la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) silvestre estuario en el sur de Sinaloa y norte de Nayarit, mediante análisis microbiológico y PCR. *Revista Bio Ciencias* 2 (4): 282-292
77. *Citrobacter.* (s. f.). <https://www.quimica.es/enciclopedia/Citrobacter.html>
78. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura & Organización Panamericana de la Salud. (2017). *Manual para manipuladores de alimentos.* <https://www.fao.org/3/i7321s/i7321s.pdf>