



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACION DE Vibrio cholerae 01 EN  
PESCADOS FRESCOS, DEL MERCADO DE  
LA VIGA, MEXICO, D. F.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Médico Veterinario Zootecnista  
P R E S E N T A  
ROSARIO DE LA ROSA GALLEGOS

Asesores: MVZ. JOSE FERNANDO NUÑEZ ESPINOSA  
QFB. LEANDRA MIREYA NICOLI TOLOSA



México, D. F.

1993

FALLA LE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

UNAM



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	<u>PÁGINA</u>
RESÚMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
MATERIAL Y MÉTODOS .....	8
RESULTADOS .....	10
DISCUSIÓN .....	12
LITERATURA CITADA .....	15

CUADRO 1	Número de colonias con morfología típica a <u>Vibrio cholerae</u> aisladas en ICBS a partir de 120 muestras.....	20
CUADRO 2	Número de colonias típicas a <u>V. cholerae</u> , de 3.984 colonias sembradas en medio T <sub>1</sub> II <sub>1</sub> .....	20
CUADRO 3	Porcentaje de pescados por especie sospechosos a <u>Vibrio cholerae</u> .....	21
CUADRO 4	Pruebas bioquímicas presuntivas para la determinación de <u>V. cholerae</u> .....	21
CUADRO 5	Pruebas complementarias presuntivas según características típicas de la colonia, para la determinación de <u>V. cholerae</u> .....	22
CUADRO 6	Positividad a <u>V. cholerae</u> BI según serología (Agglutinación en placa).....	23
ANEXO 1	Centro de Distribución de pescados y mariscos de la Uiga.....	24
ANEXO 2	Aislamiento de <u>Vibrio cholerae</u> .....	25
ANEXO 3	Pruebas bioquímicas para la diferenciación de algunas especies de <u>Vibrio</u> sp.....	26
ANEXO 4	Recomendaciones para mejorar la inocuidad de los moluscos, crustáceos, pescados y mariscos crudos.....	27

## RESUMEN

TESIS DE LICENCIATURA : Determinación de *Vibrio cholerae* O1 en pescados frescos, del mercado de la Viga, México, D.F., que presenta la alumna: Rosario de la Rosa Gallegos; bajo el asesoramiento del M.V.Z. José Fernando Núñez Espinosa y O.F.B. Leandra Nireva Nicolí Tolosa.

Con el objetivo de aislar e identificar *Vibrio cholerae* O1 de pescados frescos del centro distribuidor, "La Viga", en México, D.F., se analizaron 120 pescados de tres especies: lisa (*Mugil cephalus*), sierra (*Scomberomorus maculatus*) y bagre (*Arius* sp.). El tamaño de muestra se determinó por conveniencia. Las muestras fueron analizadas mediante las técnicas descritas por el Método Microbiológico Internacional de la F.D.A. Gran cantidad de vibrios sp fueron observados. No se aisló *Vibrio cholerae* O1. Diez pescados tuvieron vibrios que producen algún tipo de infección : *Vibrio cholerae* no-O1, *V. harveyi* y *V. vulnificus.* Éstos fueron aislados de 4 bagres y 1 lisa procedentes de Nayarit, Guerrero, Tamaulipas y Campeche; 2 sierras y 1 bagre procedentes de Tamaulipas y, 2 bagres, uno de Tamaulipas y el otro de Campeche, respectivamente. Fué interesante identificar otros tipos de vibrios, también importantes, por el hecho de estar asociados con *Vibrio cholerae* y por ser capaces de producir daños serios al hombre. Es necesario continuar investigando en muestras de alimentos, particularmente de pescados y mariscos, por estar sujetos a un riesgo mayor de contaminación.

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, el cólera ha sido una enfermedad bastante común y por la cual muchas personas han muerto (1,14,19,26,27).

El cólera es una infección gastrointestinal aguda, grave, que se caracteriza por la aparición brusca de diarrea acuosa y abundante, vómitos, deshidratación rápida, acidosis, colapso circulatorio y en los casos no tratados se produce la muerte dentro de las 24 horas de su aparición (8,29,33,34).

La enfermedad es producida por una bacteria del género Vibrio, que pertenece a la familia Vibrionaceae, que incluye los géneros: Vibrio, Aeromonas y Plesiomonas (12).

Actualmente existen más de veinte especies de Vibrio, de los cuales sólo 12 se han encontrado en muestras clínicas humanas (1,7,19,20,33). El Vibrio cholerae 01 es productor de una toxina colérica cuya acción sobre la mucosa del intestino delgado estimula la secreción de agua y electrolitos, siendo causante de la diarrea característica de la enfermedad (1,7,28,34).

Las bacterias del género Vibrio son bacilos Gram negativos que miden de 0.5 a 0.8  $\mu$  de diámetro por 1.4-2.6  $\mu$  de largo, son móviles en medios líquidos por su flagelo polar, anaerobios facultativos, no forman endosporas, con metabolismo respiratorio fermentativo y quimiorganotrofo (3,12,18). Se encuentran en hábitats acuáticos con diferentes grados de salinidad, también se puede encontrar en agua dulce en donde

sobrevive unas horas y algunas semanas si ésta se encuentra contaminada con materia orgánica y tiene un pH entre 6 y 9 (2,6,10,12,25). Todos utilizan D-glucosa, D-fructuosa, maltosa y glicerol. La mayoría de las especies son oxidasa positivas. Esta bacteria es frágil y sensible a desinfectantes, como el cloro; a la ebullición, a la desecación y a los antibióticos como las tetraciclinas (10,16,19,21,23).

La clasificación taxonómica ubica a los Vibrios bioquímicamente similares al Vibrio que causa el cólera en una sola especie llamada Vibrio cholerae no-01 (anteriormente llamados Vibrios no aglutinantes (NAGs) y Vibrios no coléricos (NCVs)). Vibrio cholerae 01 y no-01 son especies patógenas para el hombre así como también para animales marinos y se han encontrado en muestras clínicas humanas. El Vibrio cholerae 01 incluye dos clases de biotipos, el clásico y la variante El Tor. Los dos biotipos se encuentran separados en dos serotipos principales: El Ogawa y el Inaba y raramente el Hikojima (12).

El reservorio natural es el hombre; el cólera se mantiene siguiendo un ciclo de transmisión hombre-medio ambiente-hombre.

La dosis infectante en el humano es de cerca de  $10^8 - 10^{10}$  bacterias vivas por gramo (27). El periodo de incubación puede ser de horas hasta días con un promedio de 2 a 5 días (22,26,27,29,33).

La transmisión se realiza normalmente por la ingestión de alimentos o bebidas contaminadas con diarrea o vómitos de

enfermos. Una de las barreras que tenemos los humanos frente al ingreso de gérmenes por la vía oral es la acidez gástrica; cuando ésta se encuentra disminuida la bacteria prolifera más fácilmente. El cólera clínico generalmente está limitado a los grupos socioeconómicos más bajos (9,12,28,29,33).

La infección provoca una respuesta serológica significativa de anticuerpos aglutinantes, vibriocidas y antitóxicos y una mayor resistencia a la reinfección que es más duradera contra el serotipo homólogo. En las zonas endémicas la mayoría de las personas adquieren anticuerpos al principio de la edad adulta, es por eso, que es común que ataque esta enfermedad a niños entre 2 y 9 años. La inmunidad activa parcial a la enfermedad es inducida por vacunas anticoléricas existentes, pero la protección dura alrededor de 6 meses y no evita la infección asintomática (4,7,16,20,30).

Durante los siglos XIX y XX han ocurrido siete pandemias de cólera, de las cuales la segunda, tercera y cuarta afectaron el Continente Americano. En la actualidad ocurre la transmisión de la séptima pandemia.

El 23 de enero de 1991, se notificaron los primeros casos ocurridos en Perú, era probable que Vibrio cholerae O1 circulara desde meses al reporte del inicio de la epidemia (3,27,28,29). Un ejemplo de cómo y cuáles fueron las causas de la presencia del cólera en el Perú son: 1) Presencia de V. cholerae en aguas marinas, aguas de superficie y en pescados capturados en zonas próximas a la costa.



2) Presencia de V.cholerae en productos de la pesca obtenidos en mercados locales.

3) Presencia de V.cholerae en alimentos comercializados por vendedores ambulantes de alimentos en Lima.

4) Presencia de V.cholerae en la superficie de platos con restos de comida.

El creciente deterioro de las condiciones socioeconómicas en América Latina, los rezagos y reducciones de inversión social e infraestructura básica, han ocasionado un incremento en las condiciones de marginación y en los niveles de pobreza, creando condiciones de alto riesgo que originan brotes violentos de epidemias como el cólera, poniendo en situación de emergencia a varios países. México y el resto de los países de América Latina comparten condiciones de saneamiento básico deficiente, malos hábitos higiénicos y nutricionales. En general intensos movimientos migratorios internos y externos favorecen la introducción, diseminación y permanencia del cólera en nuestro territorio. Los factores que intervienen de modo crucial en el proceso de propagación de la epidemia son el alto grado de contaminación fecal y las deficiencias en materia de higiene en los alimentos, constituyendo éstos los puntos fundamentales de prevención de la enfermedad.

Durante mucho tiempo se mantuvo la creencia de que el pez era portador de la infección vibriónica en el medio marino, pero trabajos recientes han demostrado que se puede aislar fácilmente el germen de los distintos invertebrados marinos y bentónicos

(24).

Los peces que viven en las profundidades del mar, en lugar de ser infectados dentro de su propio hábitat pueden llegar a contaminarse durante el proceso de pesca y manipulación posterior. Se ha observado que los animales marinos próximos a la costa se contaminan con los desechos humanos vertidos en ellos. El hecho de que los pescados se conserven congelados, no significa que el V.cholerae esté muerto, ya que puede sobrevivir por largo tiempo en estas condiciones (25). Teóricamente estos alimentos poseen un riesgo de infección si el producto es ingerido crudo o si hay contaminación cruzada con otros alimentos (10,13,17,27,35).

Cuando en una comunidad existe la enfermedad y no hay un adecuado control de las aguas negras, estas pueden contener la bacteria y contaminar el mar y como consecuencia a los productos marinos. Por lo tanto, los mariscos crudos o mal cocidos que proceden de áreas marítimas contaminadas pueden ser responsables de epidemias (28).

Existe preocupación por el consumo de productos de la pesca contaminados con el Vibrio cholerae así como de pescados congelados, refrigerados o enfriados con hielo; ya que el tiempo de supervivencia del Vibrio cholerae biotipo El Tor en pescados y mariscos frescos es de 2 a 5 días de 30-32° C y, de 4-14 días de 5 a 10° C (24,27,33).

La venta de alimentos en la vía pública, práctica tradicional en México, propicia la contaminación microbiana

debido a la deficiencia de higiene personal de los vendedores, habilitación escasa, utensilios inapropiados, acumulación de basura, falta de agua potable y servicios sanitarios, ocasionando brotes de enfermedad transmitida por alimentos, como es el caso del cólera.

De acuerdo al número de casos clínicos de cólera reportados en México, según las investigaciones epidemiológicas, los alimentos no son considerados la fuente de contaminación principal; sin embargo, algunos productos alimenticios como es el caso de los pescados y mariscos, cuyo hábitat se ve afectado por las descargas de aguas negras, aumenta la probabilidad de riesgo. Por lo que existe la necesidad de investigar sobre la posible presencia de Vibrio cholerae O1 en pescados frescos, así como determinar su frecuencia en las muestras trabajadas, y ésta necesidad determinó los objetivos del presente trabajo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Ubicación de espacio y tiempo.

El presente trabajo se realizó en el Centro Distribuidor de Pescados y Mariscos, "La Viga", localizado en la Viga no. 124, Delegación Venustiano Carranza, en México, D.F.; entre los meses de abril y agosto de 1992.

### 2.2 Universo de trabajo.

Lo constituyeron 120 pescados crudos de las especies: Lisa (Mugil cephalus), Sierra (Scomberomorus maculatus) y Bagre (Arius sp.); las 2 primeras provenientes de aguas costeras y la tercera de aguas profundas; todas con gran demanda en el mercado.

### 2.3 Tamaño de la muestra.

El tamaño de la muestra se determinó por conveniencia (5), debido a que en México se carece de información sobre alimentos contaminados con Vibrio cholerae O1.

El criterio de selección fue:

- a) Las especies de pescados con mayor demanda, que se expenden todo el año.
- b) Las zonas marítimas con alto riesgo de contaminación con aguas negras.
- c) El número total de locales en el mercado de la Viga (120).

Con base en este criterio y para estandarizar la muestra, se tomó un pescado de cada especie en cada local, constituyendo 40 locales.

$$\frac{120 \text{ pescados}}{3 \text{ especies}} = 40 \text{ muestras de cada especie a partir de 40 locales}$$

#### 2.4 Toma de muestras.

Los locales se seleccionaron con base en un diseño de muestra sistemático (15,32), identificándolos en un plano del mercado de la Vega (Anexo 1).

Los pescados se tomaron de la capa más superficial del producto estibado y enfriado con hielo. Se depositaron en bolsas de plástico individuales, identificadas con la siguiente información:

- a) Fecha de recolección
- b) Número de local
- c) Nombre del producto
- d) Procedencia de captura.

Para el transporte de las muestras se usaron cajas isotérmicas con refrigerante mantenidas a menos de  $10^{\circ}\text{C}$ ; el tiempo de transporte fue menor a 3 horas. Se enviaron al Laboratorio de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### 2.5 Análisis bacteriológico.

Las muestras fueron analizadas según el Método Microbiológico Internacional de la F.D.A. (4) para identificación de Vibrio cholerae. (Anexo 2), (Anexo 3).

Las cepas aisladas e identificadas a partir de las pruebas bioquímicas (27), se enviaron al Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (I.N.D.R.E.) "Dr. Manuel Martínez Baez" para su serotipificación.

### 3. RESULTADOS

A partir de los 120 pescados analizados se determinaron 10(100%) cepas de Vibrio sp., de los cuales 5 (50%) fueron V.cholerae no-01, 3 (30%) V.harveyi y 2 (20%) V.vulnificus.

El 40% (4) de las cepas de V.cholerae no-01 fueron aisladas de Bagres y el 10% (1) de Lisa. Los pescados Bagres procedían de las costas de Nayarit, Guerrero y La Pesca, Tamaulipas; la Lisa era procedente de Campeche.

De las 3 (30%) cepas de V.harveyi, 2 (20%) fueron aisladas de pescados Sierra, procedentes de San Fernando, Tamaulipas; y 1 (10%) fue aislada de Bagre procedente de Matamoros, Tamaulipas. Finalmente, 2 (20%) cepas de V.vulnificus fueron aisladas de Bagres, con distintas procedencias: uno de la Pesca, Tamaulipas y el otro de Campeche (cuadro 6).

a) Aislamiento en medio de agar de tiosulfato citrato bilis sacarosa (T.C.B.S.).

Crecieron 3,840 colonias típicas a V.cholerae a una temperatura de  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , y 144 colonias a  $42^{\circ}\text{C}$ , dando un total de 3,984 colonias (cuadro 1).

b) Aislamiento en el medio agar triptonal al 1% y cloruro de sodio al 1% (T1N1).

De las 3,984 colonias aisladas en medio T.C.B.S., se aislaron 3,806 en T1N1; 178 colonias no crecieron (cuadro 2).

c) Porcentaje de pescados por especie sospechosos a V.cholerae. El 75% (30/40) de bagres; el 72.5% (29/40) de lisas y el 72.5% (29/40) de sierras (cuadro 3).

d) Pruebas bioquímicas.

d.1 Primera fase.

De 3,806 colonias aisladas del medio TIN1, se obtuvieron 453 colonias sospechosas a V.cholerae. Estas colonias son representativas de 88 muestras (cuadro 4).

d.2 Segunda fase.

De las 453 colonias aisladas en la primera fase, se identificaron 36 colonias características a V.cholerae, a partir de 43 muestras (cuadro 4).

e) Siembra en agar modificado de celobiosa-polimixina B-colistina (mCPC).

El 94.44% (34/36) de colonias típicas a V.cholerae, fueron aisladas en mCPC (cuadro 5).

f) Tinción Gram.

El 3.6% (10/36) fueron cepas Gram(-), pequeños bacilos en forma de bastón, típicos de V.cholerae (cuadro 5).

g) Relación de aislamientos con procedencia de captura y serología para Vibrio cholerae O1.

Ninguna de las 10 cepas correspondió a V.cholerae O1 (0%).

Cinco de las 10 cepas (50%), fueron positivas a V.cholerae no-O1 (Cuadro 6).

#### 4. DISCUSIÓN

Del estudio realizado en el mercado de "La Viga", en México, D.F; no se aisló Vibrio cholerae O1 en muestra alguna. No obstante que no se determinó V.cholerae O1, sí se encontraron otras especies de vibrios igualmente importantes para el hombre; como es el caso del Vibrio cholerae no-O1 causante de gastroenteritis, infecciones en heridas, septicemias primarias y secundarias, y otitis. El V.vulnificus produce gastroenteritis, infecciones en heridas y septicemia mortal en personas con enfermedades hepáticas (cirrosis) u otras enfermedades como diabetes. El V.harveyi causa gastroenteritis.

Es importante señalar que el V.cholerae no-O1 se encuentra con frecuencia en el agua de los estuarios, así como en pescados y mariscos, más que el serogrupo O1 (17).

Según Thrusfield, la probabilidad de fracaso para detectar casos en una población, cuando la prevalencia es de 1%, es de 0.366=3.6%. trabajando con 100 muestras (30); por lo que será necesario seguir investigando al respecto, con muestras más grandes, puesto que todavía la prevalencia no se conoce y pudiera ser muy baja.

Cabe mencionar que las más altas tasas de mortalidad por V.cholerae O1 en el país son en los estados de Morelos, Tamaulipas y Campeche (29); notablemente, 5 de las 10 muestras positivas a vibrios sp. provenían del estado de Tamaulipas y 2 de Campeche, por lo que no sería difícil pensar que el V.cholerae O1 pudiera estar presente.



En nuestro país todavía no se han reportado casos de aislamiento de V. cholerae O1 en alimentos y posiblemente se deba a que los hábitos gastronómicos difieren con los de otros países.

La educación para la salud se fortalece gracias al programa de control que está llevando a cabo la Secretaría de Salud conjuntamente con el Grupo Especial de Lucha Mundial contra el cólera, que incluye la elaboración de normas técnicas, presentación de documentales, anuncios por diversos medios de comunicación, asesorías a médicos y maestros, así como de capacitación a personal de la misma secretaría, para recomendar sobre la forma de prevenir posibles brotes de esta enfermedad.

Es necesario establecer prácticas de manejo para prevenir la propagación del cólera (Anexo 4). Sin ellas, otras intervenciones de organismos internacionales para controlar la epidemia del cólera no serán eficaces.

La llegada del cólera a un país trae consigo problemas económicos y políticos. Los ingresos por turismo internacional y exportaciones de pescados y mariscos sufren reducciones y se desencadenan reacciones de temor e incluso pánico entre la población local. Si un gobierno es incapaz de prepararse para contender con un brote y tomar acciones rápidamente, en cuanto éste se presente, puede producirse un retraso importante en la investigación e identificación temprana de las formas o vehículos de transmisión, así como en la instrumentación de medidas de control y el aprovisionamiento de ayuda

internacional. Estos esfuerzos requieren un amplio apoyo gubernamental no sólo de las autoridades sanitarias sino también de otras dependencias con autoridad en materia de agua, servicios sanitarios, desarrollo urbano, finanzas, transporte y comercio.

Ya que no existe ninguna forma de erradicar al vibrio del ecosistema acuático, en el futuro el control debe enfocarse en la prevención de la transmisión secundaria, la accesibilidad del tratamiento y el desarrollo de una vacuna efectiva.

#### 5. LITERATURA CITADA

1. Alm, R.A. and Manning, P.A.: Biotype-specific probe for Vibrio cholerae serogroup O1. J. Clin. Microbiol., **26**: 823-824(1990).
2. Brayton, P.R., Tamplin, M.L. and Colwell, R.R.: Enumeration of Vibrio cholerae O1 in Bangladesh waters by fluorescent-antibody direct viable count. App. Env. Microbiol., **53**: 1865-2862(1987).
3. Finch, M.J., Valdespino, J.L., Wells, J.G. et al.: Non-O1 Vibrio cholerae infections in Cancún, México. J. Trop. Med. Hyg., **36**: 393-397(1987).
4. Food and Drugs Administration. Bacteriological analytical manual. F.D.A. Bureau of foods. Division of Microbiology, Washington, D.C. 1991.
5. Guerrero, R.G.C., y Medina, E.: Epidemiología. 2a. ed, Fondo Educativo Interamericano, México, 1986.
6. Hackney, C.R. and Dicharry, A.: Seafood-borne bacterial pathogens of marine origin Food technol., **1**: 104-108(1988).
7. Haishima, Y., Kondo, S. and Hisatsune, K.: O-Antigenic lipopolysaccharides isolated from a marine Vibrio, Bio-serogroup 1875 possessing an antigenic factor in common with O1 Vibrio cholerae. J. Gen. Microbiol., **134**: 1827-1833(1988).

8. INDRÉ. Subsecretaría de Organización y Desarrollo. Cólera/Diarreas Infecciosas. Boletín Quincenal 1(1-16) mayo, noviembre, 1991.
9. INDRÉ. Subsecretaría de Organización y Desarrollo. Cólera/Diarreas Infecciosas. Boletín Quincenal 2(5) mayo, 1992.
10. Islam, M.S.: Effect of various Biophysicochemical conditions on toxigenicity of Vibrio cholerae O1 during survival with a green alga, Rhizoclonium fontanum, in an artificial aquatic environment. Can. J. Microbiol., **36**: 464-468(1990).
11. Kaysner, Ch. A., Wekell, M.M., Stott, R.F. et al.: Incidence of Vibrio cholerae from estuaries of the United States west coast. App. Env. Microbiol., **53**: 1344-1348(1987).
12. Krieg, R.N. et al.: Bergey's Manual of Systematic bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A., 1984
13. Kuyyakanond, T., Nakamura, S., Manmontri, W. and Iwanaga, M.: Vibrio cholerae serogroup O1 in Northeast Thailand. J. Clin. Microbiol., **28**: 872-875(1990).
14. Maimone, F., Coppo, A., Procacci, P. et al.: Clonal spread of multiply resistant strains of Vibrio cholerae O1 in Somalia. J. Inf. Dis.,

- 153: 802-803(1986).
15. Mendenhall, W.: Introducción a la probabilidad y la estadística. 5a ed, Wadsworth Internacional Iberoamericana, Nueva York, 1982.
  16. Mitra, S., Ghosh, A. and Ghosh, R.K.: Metabolic reactions responsible for glucose stimulation of alkaline phosphatase in Vibrio cholerae. J. Gen. Microbiol., 132: 2601-2603(1986).
  17. Mitscherlich, E. and Marth E.H.: Microbial Survival in the Environment. Bacteria and Rickettsiae important in Human and Animal health, Springer-Verlag, Berlin, 1984.
  18. Mulder, G.D., Ries, T.M. and Beaver, T.R.: Nontoxigenic Vibrio cholerae wound infection after exposure to contaminated lake water. J. Inf. Dis., 159: 809-810(1989).
  19. Ogg, J.E., Ryder, R.A. and Smith, R.H.L.: Isolation of Vibrio cholerae from aquatic birds in Colorado and Utah. App. Env. Microbiol., 55: 95-99(1989).
  20. Oku, Y., Uesaka, Y. and Hirayama, T.: Development of a highly sensitive bead-ELISA to detect bacterial protein toxins. Microbiol. Immunol., 32: 807-816(1988).

21. Pérez-Rosas, N. and Hazen, T.C.: In situ survival of Vibrio cholerae and Escherichia coli in tropical coral reefs. App. Env. Microbiol., 54: 1-9(1988).
22. Rabadán, P.M., and Vilalta, E.: Non-O1 Vibrio cholerae bacteremia. Rev. Inf. Dis., 11: 667(1989).
23. Rabbani, G.H., Butler, T., Knight, J. et al.: Randomized controlled trial of berberine sulfate therapy for diarrhea due to enterotoxigenic Escherichia coli and Vibrio cholerae. J. Inf. Dis., 155: 979-983(1987).
24. Roberts, R.T.: Patología de los peces. Mundi-Prensa, Madrid, 1981.
25. Ruiz, D.M.F.: Recursos pesqueros de las costas de México. 2a. ed. Limusa, México, 1985.
26. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. Boletín de información sobre cólera en América. Ac. Vet. Mex.: 1-12(1991).
27. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Organización y Desarrollo. Manual de Procedimientos para aislamiento y caracterización de Vibrio cholerae O1. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, I.N.D.R.E., 1-48(1991).
28. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Organización y

- Desarrollo. Manual sobre cólera para personal de salud. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, I.N.D.R.E., 1-48(1991).
29. Sepúlveda, A.J., Valdespino, J.L., Gil, E. et al.: Boletín quincenal de cólera / diarreas infecciosas. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, I.N.D.R.E., 1: 1-18(1991).
30. Sistema Nacional de Salud. Dirección General de Epidemiología. Boletín Mensual de Epidemiología 7(7) julio, 1992.
31. Thrusfield, M.: Epidemiología Veterinaria. Acribia, Zaragoza, 1990.
32. Wayne, D.D.: Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa, México, 1977.
33. Wistrom, J.: A case of Non-O1 Vibrio cholerae bacteremia from Northern Europe. J. Inf. Dis., 160: 732-733(1989).
34. Wolfgang, J.K., Hilda, W.P. and Bernard, A.: Zinsser Microbiology. 17th ed, Appleton-Century-Crofts, New York, 1984.
35. Yamamoto, T. and Yokota, T.: Vibrio cholerae O1 adherence to human small intestinal M cells in vitro. J. Inf. Dis., 160: 168-169(1989).

**Cuadro 1**

Número de colonias con morfología típica a Vibrio Cholerae  
aisladas en TCBS a partir de 120 muestras

NUMERO DE MUESTRAS	No. COLONIAS GPS/Agua pept. (35 ± 2° C)	No. COLONIAS AGUA PEPTONADA (42° C)	TOTAL
120	3,840	144	3,984

**CUADRO 2**

Número de colonias típicas a V. cholerae, de 3,984 colonias  
sembradas en medio T<sub>1</sub> N<sub>1</sub>.

<u>AISLAMIENTO</u> <u>SIEMBRA</u>	%	<u>NO AISLAMIENTO</u> <u>SIEMBRA</u>	%
$\frac{3,806}{3,984}$	95.53	$\frac{178}{3,984}$	4.46



**CUADRO 3**

Porcentaje de pescados por especie sospechosos a V. cholerae.

ESPECIE	MUESTRAS	Sospechosos a <u>V. cholerae</u>	%
BAGRE	48	38	75.00
LISA	48	29	72.50
SIERRA	48	29	72.50
<b>TOTAL</b>	<b>128</b>	<b>80</b>	<b>73.33</b>

**CUADRO 4**

Pruebas bioquímicas presuntivas para la determinación de Vibrio cholerae

PRIMERA FASE

PRUEBA BIOQUÍMICA	REACCIÓN	COL. SOSPECHOSAS <u>V. cholerae</u> / TOTAL	%	MUESTRAS DE PESCADOS <+> / TOTAL	%
Caldo triptono (0% NaCl) Oxidasa Catalasa " String "H	+ + + +	453 / 3,886	11.90	88 / 128	73.33

\* Pba. del hilo mucoso (Desoxicolato)

SEGUNDA FASE

PRUEBA BIOQUÍMICA	REACCIÓN	COL. SOSPECHOSAS <u>V. cholerae</u> / TOTAL	%	MUESTRAS DE PESCADOS <+> / TOTAL	%
TSI LIA NIO SIN (HOTILIDAD) ARGININA INDOL VOGES PROSKAUER	+ + + + - + + / -	36 / 453	7.94	43 / 80	49.42

**CUADRO 3**

**PRUEBAS COMPLEMENTARIAS PRESUNTIVAS SEGÚN CARACTERÍSTICAS TÍPICAS  
DE LA COLONIA, PARA LA DETERMINACIÓN DE Vibrio cholerae.**

PRUEBA	Colonia típica / total de colonias	%
mCPC	34 / 36	94.44
Tinción Gram (-)	18 / 36	3.6

CUADRO 6

POSITIVIDAD A *Vibrio cholerae* O1 SEGÚN SEROLOGÍA (Agglutinación en placa).

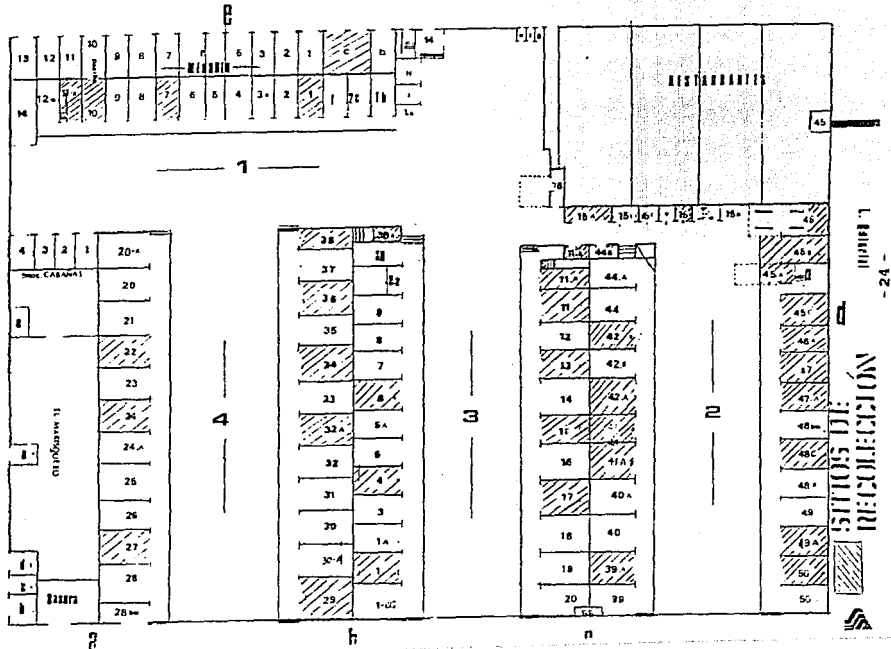
				Pruebas Bioquímicas				Prueba de aglutinación en placa			
Nuestras bajadas	Especie	Procedencia	Local	<i>V. vulnificus</i>	%	<i>V. harveyi</i>	%	<i>V. cholerae</i> O1	%	<i>V. cholerae</i> no O1	%
2	Bagres	Navarit	4B-C					-	0	2	
1	Bagre	Guerrero	32-A					-	0	1	58
1	Bagre	La Pesca Tamaulipas	29					-	0	1	
1	Lisa	Campeche	1					-	0	1	
2	Sierras	San Fernando Tamaulipas	17			2	38	-	0		
1	Bagre	Tamporos Tamaulipas	39-A			1		-	0		
1	Bagre	La Pesca Tamaulipas	29	1	28			-	0		
1	Bagre	Campeche	1	1				-	0		
Total 10											

# ANEXO I

## CENTRO DE DISTRIBUCIÓN DE PESCADOS Y MARISCOS DE LA VIGA

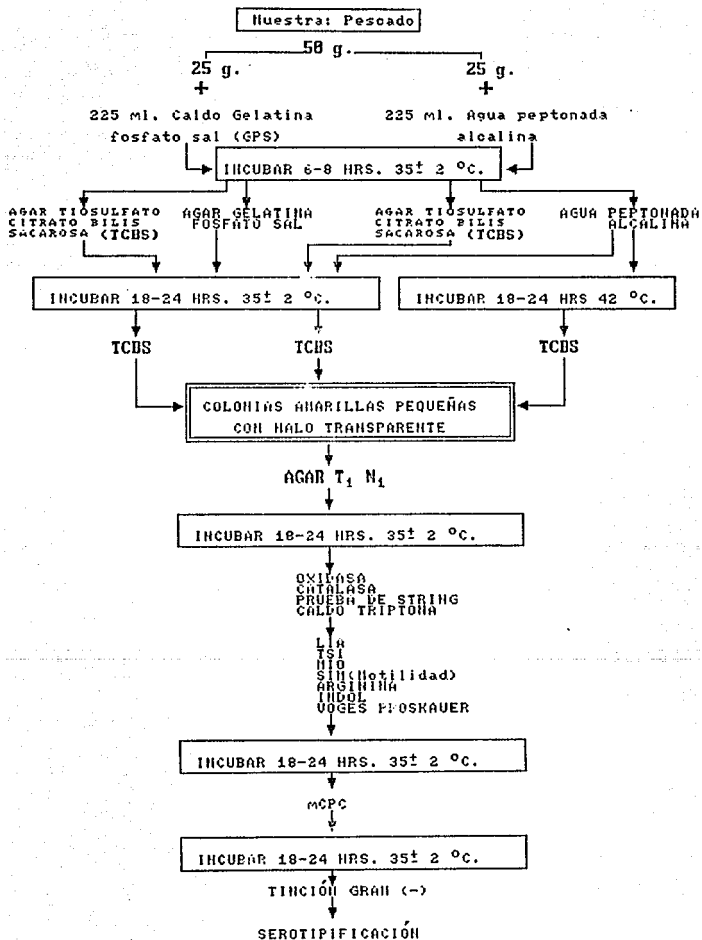
CALZ. DE LA VIGA 124

Av. 1



ANEXO 2

Aislamiento *Vibrio cholerae*



### ANEXO 3

Pruebas Bioquímicas para la diferenciación de algunas especies de *Vibrio* sp.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	<i>V. cholerae</i> no 01	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parvum</i>
T.C.B.S.	A	V	AV
mCFC	P	A	Sin determinar
OXIDASA	R(+)	R(+)	R(-)
TSI	R(+)	R(+)/R(-)	R(-)/R(-)
LIA	R(+)	R(+)	R(+)
MIO	R(+)	R(+)	R(+)
SIM	R(+)	R(+)	R(+)
Arginina	R(-)	R(-)	R(-)
Urea	R(-)	R(-)	R(-)
Indol	R(+)	R(+)	R(-)
Voges Proskauer	R(+)/R(-)	R(-)	R(+)/R(-)
Creo. en NaCl			
0 ‰	R(+)	R(-)	R(-)
3 ‰	R(+)	R(+)	R(+)
6 ‰	R(-)	R(+)	R(+)
9 ‰	A	R(-)	R(-)/R(-)
10 ‰	R(-)	R(-)	R(+)/R(-)
Creo. a 42 C.	R(+)	R(+)	R(+)/R(-)
Dulcitol	R(-)	R(-)	R(-)
Maltitol	R(+)	R(+)/R(-)	R(-)
Sacarosa	R(-)	R(-)	R(+)
Lactosa	R(-)	R(+)	R(+)/R(-)
Colonias	Total 5	Total 2	Total 3

A = Amarillo

V = Verde

P = Púrpura

R(+) = Positivo

R(-) = Negativo

#### ANEXO 4

### RECOMENDACIONES PARA MEJORAR LA INOCUIDAD DE LOS MOLUSCOS, CRUSTÁCEOS, PESCADOS Y MARISCOS CRUDOS.

1. Las aguas residuales deben ser tratadas y desechadas adecuadamente para evitar la contaminación de las áreas de cosecha con organismos patógenos entéricos humanos.
2. Deben desarrollarse indicadores válidos para la contaminación de las aguas en crecimiento por los organismos patógenos humanos.
3. Se debe mantener una vigilancia efectiva para prevenir la cosecha de moluscos y crustáceos de las áreas que se saben contaminadas con aguas residuales.
4. Deben establecerse programas de vigilancia para especies de vibriones en crustáceos, moluscos y aguas crecientes, especialmente durante los meses cálidos.
5. Para reducir los niveles de especies de vibriones potencialmente patógenas en los moluscos y crustáceos crudos, puede ser necesario restringir la cosecha cuando las temperaturas del agua sean elevadas y someter los productos cosechados a un enfriamiento rápido y refrigeración continua.
6. Deben establecerse normas nacionales para la calidad y vigilancia de la inocuidad de los pescados y mariscos, recalcando las condiciones ambientales y los posibles contaminantes.
7. Deben establecerse sistemas apropiados de laboratorio e inspección para vigilar la cosecha, el procesamiento, transporte

y almacenamiento de los peces, los moluscos y los crustáceos.

8. Los sistemas de inspección de pescados y mariscos deben incluir normas microbiológicas válidas para evaluar los riesgos de salud para los humanos que presentan los organismos patógenos microbianos en pescados y mariscos crudos y procesados; el mantenimiento de refrigeración adecuada; evitar la nueva contaminación de los productos cocidos, listos para comer con los productos crudos; buen saneamiento y buenas prácticas de fabricación.

9. Los sistemas de inspección deben incluir a personal capacitado y procedimientos que aseguren la observancia de las normas nacionales de inocuidad y calidad, preferentemente a través de la aplicación del concepto de Análisis de Riesgos y Puntos críticos de Control, que identifica las condiciones potencialmente peligrosas.

10. Los laboratorios deben incluir recursos humanos y físicos para permitir el análisis de todos los contaminantes microbianos químicos que pueden estar presentes en los peces, moluscos y crustáceos.

11. Se debe desarrollar un sistema de vigilancia de las enfermedades transmitidas por los alimentos para identificar la incidencia de la enfermedad e instaurar medidas correctivas.

12. Se debe divulgar la información sobre la inocuidad de los pescados y mariscos para diseminarla a las organizaciones gubernamentales e industriales pertinentes y a los consumidores.

13. Deben realizarse esfuerzos para educar a todos los



profesionales de la salud, a los procesadores de alimentos y a los consumidores sobre los riesgos microbiológicos de consumir pescado y mariscos contaminados, y las formas de reducir al mínimo tales riesgos, incluyendo refrigeración inmediata y adecuada, saneamiento adecuado, buena higiene personal y evitar la nueva contaminación de los productos cocidos por los productos crudos.

14. Las personas que consumen pescado crudo, moluscos y crustáceos deben ser informadas de los riesgos microbianos potenciales asociados con estas prácticas. La cocción minuciosa de todos los alimentos de origen marino eliminará los organismos patógenos microbiológicos.

15. La exportación y los procedimientos de importación deben de incluir controles de inspección y analíticos para asegurar la inocuidad y calidad de los peces, moluscos y crustáceos.

16. La importación de moluscos y crustáceos para el consumo crudo debe prohibirse a menos que haya una equivalencia clara de normas para las aguas de cosecha y para el procesamiento posterior a la cosecha (17).