

11261

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

13
2ej

FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

**“ EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE AGUA DE
TRES ZONAS PRODUCTIVAS DE LAS COSTAS
DEL CENTRO DE SINALOA Y
SU IMPACTO EN EL OSTIÓN “**

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestría en Ciencias Biomédicas
presenta la

Q.F.B. MAGDALENA DE JESÚS URIBE BELTRÁN

DIRECTOR: DR. CARLOS ESLAVA CAMPOS

México D.F.

275906

Abril de 1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Dedicatoria:

A mi esposo Jesus Alberto

A mis hijos: Magdalena, Jesús Alberto, Marcela, Jasiel y Jacim

Por su amor y paciencia

A mamá Rosario y Papa José

Por haberme hecho partícipe de su proyecto de vida

A mis hermanos

Por su afecto y solidaridad

A la Familia Martínez

Por hacerme sentir el amor de Dios

Agradecimientos:

Al Dr. Carlos Eslava, por creer en mi y por sus valiosas aportaciones y constante apoyo para llevar a cabo el presente trabajo.

A la M. en C. Cristina Martínez y al Dr. José Luis Pablos, por su tiempo, su invaluable asesoría y la realización de los análisis estadísticos.

Al Dr. Charles P. Gerba, al Bs. Jaime Naranjo y al Dr. Ricardo De León, por su asesoría y apoyo técnico y material en los análisis de virus.

Al D. F. B. Jesús Alberto Sotelo S y al D. F. B. Sergio Bayliss, por su ayuda en la recolección de muestras.

A mis compañeros de laboratorio M. en C. Aurora Candil, Dra. Sylvia Paz Diaz, L. M. Ignacio Osuna, D. F. B. Magda Lux Laxuta, M. en C. Ma del Carmen de la Cruz, L. F. Humberto Ledesma y L. F. Octavio Hernández, por su apoyo técnico y moral.

A los alumnos de Servicio Social de la U. F. S. P. por su colaboración

Al Dr. Pablo Mendoza (q.e.p.d.), por compartir sus conocimientos

A los miembros del jurado, porque haciendo un espacio en su tiempo, aportaron valiosas sugerencias al presente documento.

A Dios, presencia Universal.

ÍNDICE

	Pag:
ÍNDICE	i:
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	iii
1. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. ANTECEDENTES	8
3.1. Alimentos marinos: una alternativa para la alimentación	"
3.2. La contaminación biológica del ecosistema marino y su impacto en los organismos	10
3.3. El ostión: organismo de gran riesgo de contaminación	13
3.4. Ostiones y Salud Pública	15
4. JUSTIFICACIÓN	37
5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	39
6. MATERIAL Y MÉTODOS	41
6.1. Muestreo	"
6.2. Procesamiento de ostiones	45
6.3. Cuantificación de coliformes	"
6.4. Aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i>	47
6.5. Aislamiento e identificación de <i>Shigella</i>	48

6.6.	Aislamiento e identificación de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	49
6.7.	Detección de virus en ostión	50
6.8.	Medición de parámetros fisicoquímicos	52
6.9.	Análisis estadístico de la información	53
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
7.1.	Muestreo	"
7.2.	Cuantificación de coliformes totales y fecales	56
7.3.	Parámetros fisicoquímicos	77
7.4.	Identificación bacteriana	80
7.5.	Detección de Enterovirus	97
8.	CONCLUSIONES	99
9.	BIBLIOGRAFÍA	102
10.	ANEXOS	132

ÍNDICE DE CUADROS

CUADROS:	Pag:
1. Medianas de coliformes totales y fecales en agua de bahías del Centro de Sinaloa	57
2. Coliformes totales y fecales en agua de la bahía del Centro de Sinaloa	60
3. Coliformes totales y fecales en bahías del Centro de Sinaloa: Prueba de Kruskal-Wallis	64
4. Muestras de ostión que no cumple con la Norma Sanitaria para consumo humano	66
5. Coliformes totales y fecales en ostión de la bahía del Centro de Sinaloa	68
6. Coeficiente de correlación de Pearson para coliformes	74
7. Parámetros físicoquímicos en muestras de agua superficial	78
8. Aislamientos bacterianos en agua de los cinco sitios de Altata, El Castillo y Las Arenitas en los tiempos estudiados	81
9. Aislamientos bacterianos en ostión de los cinco sitios de Altata, El Castillo y Las Arenitas en los tiempos estudiados	85
10. Aislamientos bacterianos en agua de los cinco sitios de Altata, El Castillo y Las Arenitas	89
11. Aislamientos bacterianos en ostión de los cinco sitios de Altata, El Castillo y Las Arenitas	91
12. Presencia de Salmonella, Shigella y/o Vibrio parahaemolyticus	93
13. Coliformes fecales en muestras positivos a <i>Salmonella spp</i>	95
14. Sitios de muestreo en las zonas estudiadas	133
15. Índice del número más probable (NMP) y límites de confianza al 95% para varias combinaciones de resultados cuando se utilizan tres alícuotas de 10 ml, 3 de 1 ml y 3 de 0.1 ml.	134
16. Número y volumen de descargas de aguas residuales en poblaciones del Centro de Sinaloa	136

FIGURAS:

1.	Anatomía del ostión <i>Crassostrea</i> sp	14
2.	Sitios de recolección de muestras en las Bahías de Altata y Ensenada El Pabellón	42
3.	Coliformes totales y fecales en agua de Bahías del Centro de Sinaloa (medias geométricas)	62
4.	Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes totales en agua de lluvias 1990	65
5.	Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes fecales en agua de lluvias 1990	65
6.	Coliformes totales y fecales en ostión de Bahías del Centro de Sinaloa (medias geométricas)	70
7.	Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes totales en ostión en secas termocreciente 1	72
8.	Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes fecales en ostión en secas termocreciente 1	"
9.	Presencia de <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y/o <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	94
10.	Afluentes de las Bahías de Altata y Ensenada El Pabellón	133
11.	Carta hidrológica, INEGI, con sentidos indicativos de los desechos líquidos vertidos (Estrada, 1999)	136

1. RESUMEN

Sinaloa es un estado de la República Mexicana, cuyo potencial en la producción pesquera ha sido reconocido en el ámbito nacional e internacional. Una de las regiones más productivas es la costa del centro de la entidad, zona en donde desembocan el río Culiacán y drenes agrícolas que son utilizados como receptores de aguas residuales provenientes de poblaciones asentadas en sus márgenes. Lo anterior, trae como consecuencia que dichos afluentes sean contaminados con microorganismos de origen fecal, los cuales son transportados hasta el mar y pueden colonizar diversas especies que son utilizadas por el hombre con fines alimentarios. Por lo anterior se considera importante determinar la contaminación fecal de agua y ostiones en zonas productoras de las costas del centro de Sinaloa, así como identificar los microorganismos potencialmente patógenos asociados a enfermedad gastroentérica.

Se obtuvieron muestras de agua y ostión en tres zonas productoras del centro de Sinaloa, durante cinco épocas del año. En ambos tipos de muestras se determinó el número más probable (NMP) de coliformes y se aislaron e identificaron las bacterias: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Vibrio parahaemolyticus*, además, en muestras de ostión se investigó la presencia de enterovirus como indicador de virus entéricos. En las muestras de agua se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad. Se realizaron estadísticas descriptivas, pruebas no paramétricas y análisis de perfiles.

Se analizaron 150 muestras, 75 de agua y 75 de ostión. La calidad microbiológica del agua en las zonas estudiadas, en función de lo que señala la Norma Oficial Mexicana (NOM-031-SSA1-1993), se encontró que los coliformes totales sobrepasaron en el 60% de las zonas estudiadas; respecto a las coliformes fecales, la cifras se elevaron al 80%. En lo que respecta a la calidad sanitaria de las muestras de ostión, 72% no era adecuado para el consumo humano. La variabilidad de las cifras de coliformes era elevada. Los parámetros fisicoquímicos del agua se encontraron en intervalos en los cuales los microorganismos pueden sobrevivir. No hubo una correlación significativa entre dichos parámetros y la cantidad de coliformes. Se encontró a *Salmonella spp.* en un 17% de las muestras de agua y 19% de ostión; *Vibrio parahaemolyticus* en el 21% de los muestras de agua y en un 29% de ostión; *Shigella*

spp. se aisló solamente en una muestra de agua. Enterovirus fue aislado en dos de las 30 muestras de ostión estudiadas.

El problema de contaminación microbiológica en el agua de las zonas estudiadas es grave y tiene un importante impacto en la especie estudiada: el ostión. Esto representa un riesgo para la salud de quienes lo consumen y también afecta su comercialización, razón por la cual se deben establecer medidas correctivas.

ABSTRACT

Sinaloa is the Mexican Republic state whose fishing production potential has been nationally and internationally recognized. One of the most productive regions is the coast at the center of the State, in these the Culiacán river and agricultural drains flow, area used as receivers of residual waters from populations living in their margins. Thus, these tributaries are contaminated with fecal microorganisms which are transported to the sea and can be found in diverse species used as food by man.

The purpose of this study was to determine in water and oysters fecal contamination in these productive areas at the center of Sinaloa; to identify microorganisms responsible for gastroenteric illness, and to investigate their relationship with several water physicochemical parameters.

Samples of water and oysters in three productive areas of the center of Sinaloa were obtained during five seasonal stations of the year. In both of samples, the most probable number (MPN) of coliforms was determined. Different bacteria as *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* and *Vibrio parahaemolyticus* were isolated and identified. The presence of *Enterovirus* as indicator of enteric viruses was investigated in oysters. Temperature, dissolved oxygen, pH and salinity were measured in the water samples. The information was analyzed graphically and numerically. Statistical inferential analysis was carried out by means of profile analyses.

A total of 150 samples, 75 of water and 75 of oyster were obtained. Microbiological quality water in the studied areas, was determined according to the Mexican Official Norm (NOM-031-SSA1-1993). Total coliforms were present in 60% of the studied areas, in different times; regarding the fecal coliforms, rose to 80%. In terms of microbiological quality, 72% of the oyster was not fit for human consumption. The variability of the coliform numbers was high. Water physicochemical parameters were in ranges in which the studied microorganisms can survive. No significant correlation was found between the studied parameters and the number of coliforms. *Salmonella spp.* was found in 17.3% of water samples and in 18.7% in oyster; *Vibrio parahaemolyticus* in of the water samples was 21.3% and in 29.3% in the oyster samples; *Shigella spp.* was only isolated in a water sample . *Enterovirus* were isolated in two of the 30 oyster samples studied.

The microbiological water contamination in the studied areas is serious problem, particularly regarding oysters: it is a health risk and also affects their commercialization, so corrective measurements should be established.

2. INTRODUCCIÓN

La ubicación geográfica del Estado de Sinaloa, ha favorecido que el mar sea una fuente de alimentos desde la antigüedad, existiendo evidencias que diversos grupos humanos asentados en esa región, consumieron productos marinos (Lizárraga, 1985).

Sinaloa posee 656 km de litoral, además de grandes extensiones lagunares que se están explotando (Ruiz Durá, 1996). La riqueza de su fauna marina es reconocida en el mundo y hace que en esta entidad, las actividades de pesca tengan gran importancia, por lo que se coloca en un lugar de supremacía en el escenario productivo nacional (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, SEMARNAP, 1996).

Existen tres regiones productivas importantes en donde se capturan diversos tipos de peces, moluscos y crustáceos: una se ubica en el norte del estado, otra en el centro y otra en el sur. Gran cantidad de familias dependen de dicha actividad, tanto como fuente de trabajo, como por el consumo de los productos que extraen (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 1995).

El volumen de la producción plantea la necesidad de conocer la calidad microbiológica de estos habitats, mismos que determinan la calidad de los organismos que sirven como alimento para el humano, gran parte de los cuales se consumen en su forma natural. Lo anterior implica un riesgo para la salud, ya que en ocasiones los microorganismos que contaminan las especies comestibles, son agentes de diversas enfermedades, particularmente de tipo gastroentérico (Baumgartner, 1996).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue conocer los microorganismos de interés para la salud humana, que se encuentran en el agua de tres zonas productivas del centro de Sinaloa, área escogida por la cercanía del lugar. Asimismo, se propone valorar la relación contaminación del agua y la del ostión, especie marina que por ser filtrador concentrador (Barnes, 1984), actúa como un organismo indicador.

Algunas de las características relevantes del área de estudio son que allí desembocan el río Culiacán y drenes agrícolas que reciben aguas residuales sin tratamiento previo. Las zonas productivas estudiadas, Altata, El Castillo y las Arenitas, tienen características diferentes entre sí debido a su localización, razón por la cual, se consideró de interés comparar entre ellas la contaminación microbiológica, objeto de estudio.

Se recolectaron las muestras de agua y ostión, durante cinco estaciones del año y para realizar la toma de las muestras se requirió del uso de una embarcación, para lo cual se contó con el apoyo de pescadores de la región.

Los parámetros estudiados en las muestras fueron las coliformes totales y fecales como indicadores de contaminación fecal (APHA, 1992). También se realizaron métodos de aislamiento e identificación de las bacterias enteropatógenas: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Vibrio parahaemolyticus* (APHA, 1992; Asociación Americana de Microbiología, 1995). Además, se llevó a cabo la detección de Enterovirus como indicador de virus entéricos en ostión en dos de las estaciones del año; la concentración de Enterovirus se realizó en la Unidad de Investigaciones en Salud Pública de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, de la Universidad Autónoma de Sinaloa y la detección en cultivo de tejidos se llevó a cabo en el

Laboratorio de Microbiología Ambiental del Departamento de Microbiología de Agua y Tierra de la Universidad de Arizona.

Debido a que los estuarios y zonas aledañas a ellos son altamente dinámicos en sus parámetros físicos, químicos y biológicos (Baumgartner, 1996), resultó de interés tratar de determinar qué factores pudieran estar relacionados con la presencia de la contaminación fecal. Para ello se relacionaron los valores de coliformes encontrados en las diferentes estaciones del año en las zonas productivas estudiadas con los diferentes parámetros fisicoquímicos.

Los resultados obtenidos nos indican que la contaminación fecal y los patógenos entéricos aislados, tanto de ostión como del agua donde habita, es preocupante. Por lo anterior, tal como se expone de manera más amplia en las conclusiones, se requiere la intervención de diversos organismos gubernamentales para aplicar medidas correctivas a un problema de contaminación que con posibles repercusiones para la salud de la población y su economía.

3. ANTECEDENTES

3.1. Alimentos Marinos: una Alternativa para la Alimentación

En los albores del siglo XXI, la población mundial sobrepasa los 5,700 millones (Naciones Unidas, 1996) y una gran parte de esta población es azotada por la desnutrición (Kaufe, 1989). Esto sigue planteando uno de los grandes retos para la humanidad: la disposición de alimentos en cantidad y calidad adecuada. Lo anterior demanda alternativas de solución y una de las más viables es la gran riqueza de alimentos que se pueden extraer del ecosistema marino. Estos resultan una buena opción no solo por la posibilidad de explotación en gran escala, sino por su diversidad y calidad nutricional. Hoy en día, se observan nuevos hábitos nutricionales orientados al consumo de productos más sanos, entre ellos pescados y mariscos como sustituto de carnes rojas (Cruz, 1997).

3.1.1. La actividad pesquera en el mundo y en México

El incremento en la producción de alimentos del mar se debe, entre otras causas al mejoramiento en las artes de pesca y al incremento en los sistemas de cultivo (Cruz, 1997); en la actualidad, el total de captura mundial, según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), es de 70 millones de toneladas anuales y se espera que para el año 2,000 se capturen 130 millones de toneladas (Pruginin, 1991).

México posee casi 10,000 km de costas distribuidas en el océano Pacífico, el

golfo de California, el golfo de México y el mar Caribe; por lo anterior se considera entre los países costeros más grandes del mundo. Su zona económica exclusiva tiene un litoral de 2'892,000 km² (Ruiz Durá, 1992). La extensión referida, entre otros factores, le ha permitido obtener en 1996, productos pesqueros en cantidades de 1'530,023 toneladas en peso vivo (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 1996), los cuales son extraídos de diferentes regiones oceanográficas (Ruiz Durá, 1992).

3.1.2. La pesca en el Estado de Sinaloa

Sinaloa está ubicado en el litoral del Pacífico, el cual está caracterizado por poseer aguas que ascienden hasta la superficie (surgencias marinas) aportando nutrientes que a su vez, generan una alta productividad orgánica, teniendo como consecuencia que este litoral sea una de las áreas más productivas del océano mundial. Este Estado, se localiza también en la región del Golfo de California y posee aguas templadas hacia el Norte tropicales hacia el Sur. Tiene un litoral de 656 km y una plataforma continental de 5,882 km², además posee sistemas lagunares litorales con una extensión de 221,600 hectáreas (Ruiz Durá, 1996).

Estas características geográficas privilegiadas, permiten a Sinaloa desarrollar una gran actividad pesquera, lo que se tradujo en 1995 en una producción total de 149,269 toneladas de peso vivo, según datos de la Delegación de la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) del Estado de Sinaloa (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 1996); en el año referido, esta entidad se colocó en el primer lugar en el ámbito nacional por el valor

de su producción pesquera. La diversidad de especies objeto de explotación son producto de la riqueza de sus mares (Ruiz Durá, 1992), sobresaliendo peces como el atún, sardina, lisa, tiburón, sierra y cazón; en el grupo de mariscos los más importantes son el camarón, almeja, jaiba y ostión (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 1996; Instituto Nacional de Estadística y Registro Pesquero, 1995).

3.2. La Contaminación Biológica del Ecosistema Marino y su Impacto en los Organismos

La alternativa de obtener del mar alimentos marinos en cantidad y calidad suficiente para el consumo humano, se ve afectada por un fenómeno que día con día parece más incontrolable: la contaminación. La Secretaría de Salud considera como contaminante "Toda materia o sustancia, sus combinaciones o compuestos, los derivados químicos o biológicos, así como toda energía térmica, radiaciones ionizantes, vibraciones o ruido que al incorporarse o actuar en la atmósfera, aguas, suelo, vegetales, animales o cualquier elemento ambiental, alteren o modifiquen su composición o bien que afecten la salud humana" (El Congreso de los Estados Unidos Mexicanos, 1982).

Tomando como base parámetros físicos, químicos y biológicos, el ambiente marino se clasifica en tres componentes: zona costera, capa superficial mezclada y océano abisal. La zona costera es considerada como el área que se encuentra desde la línea de marea baja hasta la línea en que el mar posee 200 m de profundidad. La costa es el área más susceptible de ser contaminada ya que es blanco de desechos

eliminados por el hombre, producto de diversas actividades, la extensión particularmente afectada es el estuario (Baumgartner, 1996).

3.2.1. El estuario y la contaminación

El estuario es una extensión de agua costera semicercada, que tiene una comunicación libre con alta mar; resulta pues, fuertemente afectado por la actividad de las mareas y en él se mezclan el agua de mar con agua dulce del drenaje terrestre. Debido a la llegada de gran cantidad de nutrientes transportados por cuerpos de agua que drenan hacia esta zona, el estuario es el área más productiva del ecosistema marino; en ella conviven innumerables especies que son utilizadas por el hombre con fines alimentarios. Sin embargo, se ha Usado y abusado de estos hábitats, pues los ha utilizado para depositar desechos industriales, agrícolas y municipales (Odum, 1972). Existen innumerables reportes acerca de contaminantes diversos, como los de tipo químico, siendo ejemplo de éstos, los metales pesados, entre ellos el plomo, hierro, manganeso y cobre (Páez-Osuna, 1995; Frías, 1994; Osuna López, 1994; Brown, 1986; Vázquez, 1985; Leachates, 1996); los que se hacen presentes no nada más en las aguas, sino también en los organismos que en ella habitan. También diversos compuestos químicos utilizados en actividades agrícolas, como los plaguicidas, pueden llegar al mar a través de drenes agrícolas y ríos, contaminando finalmente, diversas especies que en él viven (Brown, 1986; Ramírez-Cabanillas, 1993; Stephenson, 1995; Watson, 1996).

Un contaminante al que frecuentemente no se le da la debida importancia es el de tipo **biológico** (Neri, 1978). En el caso del estuario, las aguas drenadas del

continente, transportan microorganismos provenientes de poblaciones cercanas a la costa; históricamente aguas municipales han sido vertidas a ríos sin tratamiento previo y estos cuerpos de agua se autopurificaban, sin embargo, el incremento de los habitantes en las ciudades que utilizan este sistema de desecho de aguas residuales, ha provocado a su vez, que el número de microorganismos se incrementen considerablemente, superando la capacidad de los ríos para la autorregulación ecológica (Baumgartner, 1996; Naciones Unidas, 1996; Gutterige, 1994). Las Naciones Unidas refieren que más de dos millones de toneladas de excremento humano son producidos diariamente en las ciudades alrededor del mundo; menos del 2% es tratado y el resto es descargado en todo tipo de corrientes de agua (Naciones Unidas, 1996), gran parte de estos desechos seguramente llega a los estuarios. Existen innumerables estudios en donde se refiere la presencia de microorganismos en zonas estuarinas, por ejemplo Roberts S. (1992), reporta presencia de coliformes en ambientes acuáticos en Fiji; Bouchriti *et al.* (1992), refieren la presencia de contaminación fecal en una zona de estuarios en Morocco; estudios realizados en 24 estuarios localizados en Washington, Oregon y California, señalan que el 44.6% de 529 muestras analizadas contenían *Vibrio cholerae* no O1 y que el origen probable de los microorganismos eran los afluentes provenientes de áreas rurales (Kaisner, 1987). Es interesante mencionar que de manera indirecta los componentes de afluentes pueden influir también en la presencia de bacterias que son autóctonas del mar, como es el caso de *Vibrio parahaemolyticus* (Watkins, 1985). Muñoz-Escobedo (1995), refiere la presencia de Enterobacterias en Acapulco, Guerrero, principalmente cuando las aguas en la bahía, tenían temperaturas de 28-

32°C; Licona-Moreno *et al.* (1995), señalan la presencia de *V. Cholerae*, *V. Parahaemolyticus*, *Aeromonas* y *Escherichia coli* Enterotoxigénica, en el estuario del río Tuxpan en Veracruz. Rojas-Corona (1988) reporta en algunos puntos del río Culiacán en Sinaloa, la presencia de coliformes.

La presencia de contaminación microbiológica en agua de estuarios, tiene efecto en los organismos que en ella habitan, sin embargo, los bivalvos como el ostión, son los que resultan más afectados. A continuación se hará una descripción del mismo, así como las propiedades biológicas que hacen que concentre microorganismos y por lo tanto pueda ser utilizado como indicador de contaminación.

3.3. El Ostión: Organismo de Gran Riesgo de Contaminación

Los ostiones son moluscos bivalvos, las especies comerciales más importantes son: *Crassostrea corteziensis*, *C. iridescens*, *C. margaritaceae*, *C. gigas* y *C. virginica*. Estos se consideran entre los mejores alimentos de origen animal por su fácil digestibilidad y porque poseen muchas de las sustancias nutritivas básicas para el organismo humano (Heernard, 1983). Este alimento en su presentación natural, es el marisco de mayor consumo en México (Nava-Fernández, 1984). Desafortunadamente, algunos aspectos relacionados con su biología y hábitat influyen en el detrimento de su calidad.

3.3.1. Características Biológicas

Los ostiones tienen conchas alargadas, de forma asimétrica y desigual, siendo

una más cóncava que la otra. Entre los aspectos biológicos más importantes con relación a su fácil contaminación es su sistema de alimentación y oxigenación. Uno de los órganos más importantes para realizar esta función son las branquias; éstas tienen forma semicircular y son en número de 2 pares; se insertan en la masa visceral y en el músculo abductor por su base, teniendo el borde libre dirigido hacia las regiones anterior e inferior de la concha. La función de las branquias es recolectar alimento, además de intercambio de gases; esta estructura forma una gran área de filtrado, pues la superficie se ha plegado, presentando un aspecto ondulado. Para alimentarse filtran grandes cantidades de agua de su hábitat, utilizando sus branquias para filtrar; cuando las partículas alimenticias son pequeñas, son enviadas por los cilios frontales hasta un surco alimenticio, a través del cual llegan a los palpos y de ahí pasan al estómago para ser digeridas (Fig.1).

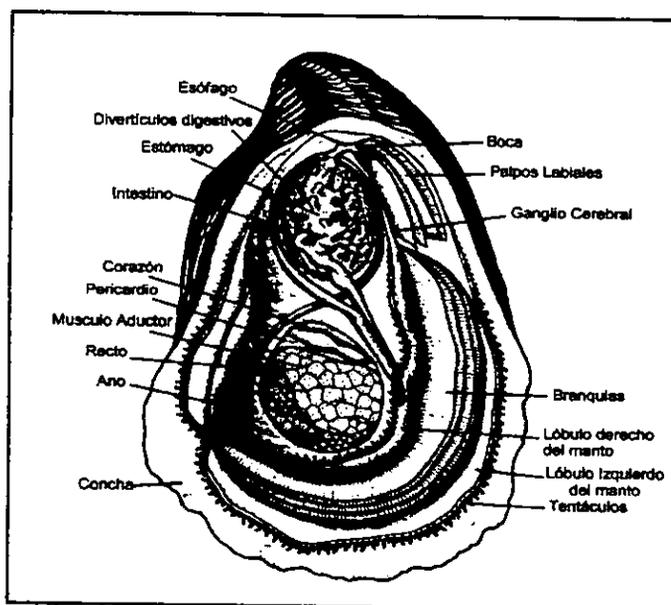


Fig. 1. Anatomía del ostión *Crassostrea spp.*

Las partículas más grandes con diámetros superiores a tres micras, son rechazadas, concentrándose en el manto, de donde son expulsadas al exterior junto

con el agua (Ruiz-Durá, 1992; Barnes,1984). Por las funciones referidas este organismo se le asigna el adjetivo de **filtrador y concentrador**. El estadio en que se encuentre la ostra también es importante con relación a su capacidad concentradora (Ruiz-Durá,1992;Frías-Espiricueta,1994; Barnes, 1984).

3.3.2. Hábitat

Estos moluscos bivalvos, se encuentran adheridos a superficies por medio de cementación. Existen especies que se fijan en fondos rocosos, algunas en arrecifes, otras permanecen unidas a objetos diversos en la zona de mareas (Barnes, 1984); hay especies tropicales que se adhieren a mangles (Odum,1972), los cuales llegan a formar grandes bancos ostrícolas localizados a lo largo de la orilla del mar de longitudes variables que van desde unos cuantos metros hasta cien o más. Los estuarios son los lugares en donde los ostiones mejor proliferan, ya que las sustancias que requieren para su alimentación son proporcionadas por los nutrientes que son transportados a través de los afluentes que llegan a la zona. Esto, sin embargo, los hace particularmente vulnerables a la contaminación, ya que junto con los alimentos, filtra y concentra tóxicos y microorganismos indeseables, los cuales tienen un efecto negativo en la salud de los consumidores (Odum, 1972).

3.4. Ostiones y Salud Pública

El ostión, puede concentrar microorganismos en cantidad suficiente para provocar infecciones en el humano que los consume; esto le origina enfermedades

diversas, de las cuales destacan las que se transmiten por la vía fecal-oral. La transmisión de enfermedades enteropatógenas por estos bivalvos contaminados, se notificó por primera vez a finales del siglo XIX, en esa ocasión, el brote fue causado por *Salmonella typhi* (Rippey, 1994); desde entonces, estos mariscos se han asociado con la transmisión de enfermedades de etiología bacteriana y viral, principalmente (Salas, 1989).

Dado el riesgo de salud que representa ingerir estos productos marinos contaminados, de manera permanente se realizan estudios en diversas partes del mundo a fin de evaluar la calidad sanitaria del ostión y del agua en que habita, así como de los brotes de enfermedad gastrointestinal que se originan por el consumo de este organismo.

En el sureste de Estados Unidos de Norteamérica, Paille *et al.* (1987), reportan la presencia de bacterias de origen fecal, tanto en ostión como en agua; asimismo, en el *Florida Department of health and Rehabilitative Services* (World Health Organization, 1993), reportaron enfermedad viral posterior al consumo de ostiones crudos; este mismo organismo de salud fue notificado en enero de 1995, de un brote de gastroenteritis aguda asociada al consumo de ostiones crudos (World Health Organization, 1995). Yamashita *et al.* (1992), refieren la presencia de virus en la bahía Mikawa en Japón y la asocian a padecimientos entéricos sufridos por la población que consumía ostiones en el lugar. En octubre de 1991, en Quebec, Canadá, se reportó un brote de gastroenteritis seguida del consumo de ostiones crudos, en el cual estuvieron involucrados más de 200 personas (Pontefract, 1993). En la Navidad de 1993, en el suroeste de Escocia se presentó un brote de

gastroenteritis tras el consumo de ostiones crudos (Chalmer, 1995).

En América Latina también existen reportes de la presencia de microorganismos patógenos tanto en ostiones como en su medio ambiente. En Cuba, se reporta la presencia de coliformes fecales en ostión (Vallejo, 1987; Leyva, 1989; Leyva 1991). Delazari *et al.* (1982), informan acerca de la presencia de contaminación fecal en ostiones colectados en la costa de Sao Paulo, Brasil. En México también la presencia de gérmenes de origen fecal ha sido estudiada en lugares de recolección del marisco, por ejemplo en el estuario del río Tuxpan, Veracruz (Licono-Moreno, 1995). En lo que respecta a la presencia de gérmenes de origen fecal en ostión, está referido por Nava Fernández *et al.* (1984), en especímenes colectados en mercados de la ciudad de México; también Rosas-Pérez *et al.* (1988), señalan la existencia de contaminación de origen fecal en ostión desconchado que se expende en el mercado de La Viga en México, D.F. Adicionalmente, en dicha ciudad Uribe-Beltrán encontró que el 90% de los ostiones estudiados, eran inadecuados para su consumo (Uribe, 1980).

3.4.1. Microorganismos asociados a enfermedades transmitidas por consumo de ostiones

Existen diversos grupos de microorganismos que han sido reportados como causantes de enfermedades; los más importantes son los que se transmiten por la ruta fecal-oral. Los padecimientos que comúnmente suelen presentarse tras el consumo del marisco contaminado son las infecciones gastrointestinales, siendo las **diarreas**, el signo constante en la mayoría de los episodios.

El síndrome diarreico es manifestación clínica de una patología extensa y variada (Sepúlveda, 1988). La diarrea es considerada como el aumento en el número de evacuaciones (tres o más en un día), la disminución en la consistencia de las heces o cuando se asocia moco o sangre a la materia fecal. La población más afectada son los niños menores de cinco años; se estima que en el mundo, aproximadamente un billón de episodios de diarrea y cinco millones de muertes ocurren en niños de edad preescolar (Sepúlveda, 1988).

En naciones industrializadas este síndrome ha dejado de ser un flagelo y estas infecciones han disminuido notablemente. En países como el nuestro este padecimiento sigue siendo un problema de salud y son muchos los esfuerzos realizados para abatir estas enfermedades; en 1980 la Organización Mundial de la Salud inició un programa de control de estas afecciones y se ha observado una disminución en las tasas de mortalidad; en el período 1990-2000, este organismo proyecta reducir los índices de mortalidad infantil en un 50% (World Health Association, 1991)

En México en 1997 (INEGI, 1997), se registraron 7426 muertes por enfermedad infecciosa intestinal y los niños menores de 5 años tuvieron cifras de 2619 por la causaba referida. La disminución de casos ha estado relacionada con la disposición de recursos asistenciales y para investigación, campañas de rehidratación oral y campañas de salud, principalmente debido a la epidemia de cólera en América (World Health Organization, 1991; Mota-Hernández, 1992). Sin embargo, como ya se indicó, las diarreas continúan siendo un problema de salud pública, poniéndose en evidencia que a menor desarrollo económico y social mayor

número de casos por diarrea (Mota-Hernández, 1992). La asociación diarrea-desnutrición es un binomio común en países en desarrollo (Sepúlveda, 1988).

Se han hecho diversos trabajos de investigación, cuyo objetivo ha sido determinar los factores de riesgo en las diarreas y entre los factores frecuentemente citados se encuentran: la edad, siendo los más susceptibles a este padecimiento, los que están en los extremos de la vida y existen reportes principalmente en el grupo etario menor de cinco años (Sepúlveda, 1988; World Health Organization, 1991; Mota-Hernández, 1992; Faith, 1988; Griffin, 1988; Black, 1989; Mpabalwani, 1995). La época del año es otro factor predisponente que frecuentemente se cita en la literatura, señalándose que los episodios de diarrea se presentan preferentemente en los meses cálidos (Sepúlveda, 1988; Griffin, 1988; Mc Donell, 1995; Becker, 1991); otros factores son las prácticas higiénico-alimenticias (Griffin, 1988, Black, 1989; Mc Donell, 1995; Zeitlin, 1995; Allaby, 1995; Mead, 1997), así como los hábitos relacionados con la alimentación al seno materno, la cual favorece la disminución de cuadros diarreicos en los lactantes (Zeitlin, 1995; Mondal, 1996; Academia Nacional de Medicina, 1989; Cravioto, 1987; Cruz, 1986; Benthey, 1991). También se ha señalado de manera reiterativa que la higiene doméstica juega un papel importante en el control de las infecciones gastrointestinales (Sepúlveda, 1988; Faith, 1988; Black, 1989; Zeitlin, 1995; Bartleth, 1992; Spriggs, 1993; World Health Organization, 1992).

Con relación a la etiología de la diarrea, existen numerosos reportes, en los que se señala a las de origen infeccioso como las más importantes. Al respecto se han identificado diversos microorganismos asociados a este síndrome siendo de los más

citados: *E. coli* enterovirulenta, *Shigella*, *Salmonella*, *Giardia*, *Entamoeba histolytica*, y recientemente, rotavirus, adenovirus, *Campylobacter* y *Cryptosporidium*, así como diversas especies de *Vibrio* (Cravioto, 1987; Cruz, 1986; Springs 1993; Cravioto, 1988; Pazzaglia, 1991; Iglesias, 1981; Blanco, 1995; Fernández, 1994).

Salmonella

Este género pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Contiene dos especies: *Salmonella bongori* que contiene 10 serovares y son extremadamente raros y *Salmonella choleraesuis* con seis subespecies: *arizonae*, *choleraesuis*, *diarizonae*, *houtanae*, *indica* y *salamae* con 2500 serovares; dentro de la subespecie *choleraesuis* se encuentran los serovares *typhi*, *paratyphi* y *choleraesuis* (Holt, 1994).

Los padecimientos que origina son fiebres entéricas (fiebre tifoidea y paratifoidea), septicemias y gastroenteritis (Davies, 1985). Se han reportado afecciones de tipo reumático posterior a cuadros de gastroenteritis por salmonelas (Archer, 1988; Lindsay, 1997). Otro desorden asociado con infecciones por *Salmonella* es el síndrome urémico hemolítico, cuando las cepas producen "toxinas semejantes a Shiga" (Lindsay, 1997).

La incidencia de salmonelosis, ha tenido un incremento en los últimos 20 años (Rusell, 1992). Existen especies que se han comportado como microorganismos emergentes; en 1987 se presentó en Estados Unidos de Norteamérica un brote originado por *S. serovar typhimurium* (actualmente denominada Definitive Type 104), la cual afectó a 197,581 personas (Altekruze, 1997; Ryan, 1987); en ese mismo país

en 1994 se registraron 224,000 casos provocados por *S. serovar enteritidis* cuyo vehículo fue helado (Hanessey, 1996); bacterias de este género han sido detectadas en alimentos de gran consumo en la actualidad, como botanas (Killalea, 1996), fórmulas de leche para lactantes (Ruiz, 1995), platillos cocinados en horno de microondas (Evans, 1995) y cebiche de pescado (Fernández, 1996).

La fiebre tifoidea, uno de los padecimientos más graves provocado por *S. typhi*, aunque ha tenido un decremento, continúa siendo un problema de salud en países en desarrollo. En México en 1990, se registró una tasa de 13.6 casos por 100,000 habitantes. El grupo de edad más afectado es el de los 15 a los 44 años, donde se presentan el 58.62% de los casos, lo que significa una pérdida anual de más de 500,000 días laborables (Isibasi, 1992).

Salmonella se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, forma parte de la microflora del hombre y de diversos animales principalmente aves de corral y cerdos; el origen ambiental de esta bacteria incluye agua, tierra, insectos, superficies de mesas de fábricas y cocinas, heces de animales, carnes crudas y mariscos crudos, entre otros (U.S. Food and Drug Administration, 1992). Los grupos más afectados por salmonelosis, son los que están en los extremos de la vida, asimismo, son blanco de estas afecciones los que están inmunodeficientes o inmunodeprimidos. La dosis infectante puede ser tan pequeña como 15-20 células, dependiendo del huésped, propiedades patogénicas de la bacteria y forma de transmisión (U.S Food and Drug Administration; Groisman, 1990). En estas enterobacterias, la información genética relacionada con su patogenicidad está contenida en transposones, plásmidos y en el cromosoma, particularmente en

segmentos de DNA conocidos como "islas de patogenicidad" (Groisman, 1990; Meccas, 1996). La penetración se realiza al nivel de intestino delgado y se multiplica en las placas de Peyer; la internalización a las células intestinales es crucial, siendo la adhesión y la penetración eventos complejos que han sido estudiados en diferentes modelos; investigaciones con *S. typhi* en células HeLa, han demostrado que se requiere que la bacteria esté viva para que se internalice y estudios con *S. choleraesuis* han demostrado que la invasión depende de la formación de microfilamentos similares a flagelos (Groisman, 1990; Rout, 1974); en ocasiones al unirse las dos células, *Salmonella* libera moléculas efectoras que se introducen en la célula huésped provocándole cambios que facilitan su acción patogénica (Meccas, 1996; Collazo, 1996).

Se ha encontrado que la invasión en *S. typhimurium* está relacionada con un microambiente bajo en oxígeno y que los genes Tn5lacZY regulan esta actividad, sin embargo, existen otros genes en esta bacteria (*spaO*, *spaP*, *spaQ* y *spaR*), que al expresarse le confieren a la bacteria la capacidad de ganar el acceso a cultivo de células epiteliales (Meccas, 1996; Collazo, 1996; Jones, 1994).

La endotoxina en *Salmonella* es un factor de virulencia muy importante, constituida de lipopolisacáridos y localizada en la membrana externa (Groisman, 1990); los efectos más importantes que causan en el hospedero son: fiebre, leucopenia, leucocitosis, hiperglucemia, aborto, fenómeno de Schwartzman, coagulación intravascular diseminada y shock (Davies, 1985; Bradley, 1979). La presencia del polisacárido de superficie llamado antígeno Vi, también se ha relacionado con un incremento en la virulencia de estas bacterias. También se han

detectado en estos microorganismos una enterotoxina termolábil que cruza antigénicamente con la toxina CT de *V. cholerae* (Groisman, 1990); y un compuesto con actividad citotóxica sobre células Vero y MDCK (Malik, 1995).

Shigella

El género *Shigella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* e incluye cuatro especies: *Shigella dysenteriae* (Serogrupo A) con 10 serovares, *Shigella flexneri* (Serogrupo B) con 6 serovares, *Shigella boydii* (Serogrupo C) con 15 serovares y *Shigella sonnei* (Serogrupo D) (Holt, 1994; Smith, 1992).

Los miembros de este grupo bacteriano son patógenos intestinales de humanos y otros primates (Holt, 1994). Aunque el principal cuadro clínico que desencadena es la disentería bacilar (Smith, 1992; Sing 1998), puede ser causa de diarrea acuosa o una combinación de disentería y diarrea acuosa. El sitio blanco de estas bacterias es la mucosa del epitelio intestinal (Davies, 1985; Muñoz, 1992), sin embargo se han reportado casos de artritis reactiva posterior a infecciones de *Shigella*, cuadros de síndrome urémico hemolítico (Lindsay, 1997) y adicionalmente, casos de encefalopatía letal tóxica en niños de países en desarrollo (Goren, 1992). Las enfermedades ocasionadas por *Shigella* son cosmopolitas, con una frecuencia más elevada en países en desarrollo ya que mientras que en Francia y Estados Unidos de Norteamérica. se reportan de un 1.2 a 2 % como Causa de diarrea aguda, en Guatemala y la India se refiere entre 16 al 30 %. En nuestro país se refiere que causan del 10 al 20 % de los casos de diarrea aguda (Muñoz, 1992). La mayor incidencia de shigelosis se presenta en niños menores de cuatro años, aunque en

lactantes ésta disminuye (Cravioto, 1987; Cruz, 1986; Muñoz, 1992). También se ha observado mayor susceptibilidad a la infección por *Shigella*, en aquellos individuos que se encuentran inmunodeficientes o inmunodeprimidos (Archer, 1988) y en los que no tienen montada una respuesta inmune contra la bacteria y que viajan a países en donde los padecimientos causados por *Shigella* son endémicos (Pazzaglia, 1991; Mikhail, 1996).

La bacteria es transmitida por agua y alimentos contaminados, siendo éstos últimos, los vehículos más comunes. Los alimentos que con mayor frecuencia se asocian a brotes epidémicos son: papa, pollo, pescados y mariscos (Smith, 1992; Muñoz, 1992; Cheftel, 1997). No obstante que se ha encontrado experimentalmente que tiene capacidad de tolerar niveles bajos de pH (Gorden, 1993) y crecer a temperaturas de 5 hasta 37°C (Islam, 1993), se le considera como una bacteria lábil a las condiciones ambientales que se transmite por vía directa. Algunos consideran que es posible que se encuentre en un estado viable pero no cultivable (Archer, 1988; Rahnan, 1996; Grimes, 1986).

La dosis infectante del microorganismo es baja y se requieren de 10 a 100 bacterias para que puedan inducir un cuadro clínico (Davies, 1985; Smith, 1992; Muñoz, 1992). Al llegar a intestino deberá adherirse a la mucosa intestinal, lo cual logra a través de adhesinas bacterianas IpaD. Se reconoce que células M localizadas en las placas de Peyer y enterocitos del colon representan un sitio excelente para iniciar la penetración (Sansonetti, 1996; Rico- Martínez, 1995). Existe una serie de compuestos que facilitan la penetración y supervivencia de *Shigella* en el intestino: mucinasas, lipopolisacárido, polisacárido de cápsula, superóxido

dismutasa, sideróforos y proteasas (Rico-Martínez, 1995; Tigyi, 1992; Brunton, 1990; Rajakumar, 1997).

Después de adherida la bacteria, se inicia la endocitosis, fenómeno estimulado por proteínas Ipa B y C (Mecsas, 1996; Brunton, 1990; Mourier, 1997); cuando la proteína bacteriana se une al receptor celular (integrina) se forma el endosoma que posteriormente será lisado por la citolisina Ipa B (Rico-Martínez, 1995). Una vez que la bacteria queda libre, se inicia el movimiento intracelular e intercelular, provocado por invasinas bacterianas y proteínas celulares como la actina, filamina, plastina, y catenina, correspondiendo la regulación microbiana a los genes Vir B y Vir F (Rico-Martínez, 1995; Prevost, 1992; Suzuki, 1988; Schuch, 1997). Además de las sustancias de protección ya mencionadas que permiten la sobrevivencia de *Shigella* en el intestino, esta bacteria desencadena una serie de eventos que le permiten eliminar células fagocíticas que acuden al tejido dañado (Renesto, 1996; Ramegowda, 1996).

La muerte de células invadidas por la bacteria se da por dos procesos: a). Apoptosis provocada por la proteína invasina Ipa B (Rico-Martínez, 1995; Zychlinski, 1996) y b). Actividad de la citotoxina Shiga que inhibe síntesis de proteínas (Rico-Martínez, 1995; Brunton, 1990). La toxina Shiga es sintetizada en grandes cantidades por *S. dysenteriae* y en una proporción menor por el resto de especies; está constituida por una subunidad A (31 kDa) y cinco subunidades B (7 kDa), sus receptores son glicolípidos, principalmente el globotriacilceramide (GB3) y tiene actividad citotóxica, neurotóxica y enterotóxica (Brunton, 1990). Se ha encontrado que *Shigella* produce otra toxina denominada enterotoxina ShET (1 y 2), quien es

responsable de la diarrea acuosa (Brunton, 1990; Nataro, 1995).

Los factores de virulencia se encuentran codificados a nivel cromosomal, en las "Islas de Patogenicidad" y en plásmidos, siendo el más importante un plásmido de 120 a 140 MDa (Rico- Martínez, 1995; Brunton, 1990).

Escherichia coli

Bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Posee un gran número de serogrupos que provienen de la combinación de sus antígenos somáticos (O), de los que se han detectado 175 variedades y 56 flagelares (H) además de los antígenos capsulares K (Davies, 1985). Puede provocar infecciones intestinales y extraintestinales (Holt, 1994; Milon, 1993). Dependiendo de sus mecanismos de patogenicidad para causar trastornos gastrointestinales, se han definido los siguientes grupos de *E. coli*.

***Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC)**

Grupo bacteriano frecuentemente asociado a cuadros de diarrea aguda en niños de los países menos desarrollados de América y de Asia, aunque también son causa frecuente de la diarrea del viajero (Mattila, 1992), de trastornos como el síndrome coleriforme de áreas endémicas, así como de brotes epidémicos en hospitales y estancias infantiles (Prado, 1988; Flores-Abuxapqui, 1994; Gatti, 1989; Warnars, 1991; Cravioto, 1985). El proceso infeccioso se inicia al consumir alimentos y agua contaminada; las bacterias que alcanzan el intestino deberán tener factores de adherencia de tipo fimbrial o afimbrial que les permita colonizar (F I, K88, K99, CFA,

AFA I y SC) (Milon, 1993; Oelschaeger, 1996; Sanz, 1992; Cravioto, 1984; Thomas, 1982; Tennent, 1990; Nataro, 1998).

Las enterotoxinas que produce ETEC, son la toxina termolábil (LT) y la termoestable (ST). La enterotoxina LT posee dos variantes (Lt-I y II), es inmunogénica y está estrechamente relacionada con la toxina del cólera (CT). Esta enterotoxina codificada en plásmidos, presenta la subunidad B que se une a gangliósidos GM1 de los enterocitos; la subunidad A de la toxina tiene dos fracciones A₁ y A₂, siendo la primera, la que tiene actividad enzimática inductora de una ADP ribosilación. Lo anterior conduce a un incremento en los niveles de AMPc que favorece la secreción de iones Cl⁻ y bloqueo en la absorción de Na⁺ y Cl⁻; esto en conjunto da lugar a la salida de iones y agua del interior de la célula. Las enterotoxinas termolábiles St poseen pesos moleculares entre 2 a 5 kDa, no son inmunogénicas y se conocen dos variables, la St I y la ST II, que activan el sistema guanilato ciclasa y están codificadas en transposones (Cravioto, 1984; Wasteson, 1990). Epidemiológicamente las cepas ETEC productoras de St se detectan más frecuentemente con los cuadros de diarrea (Cravioto, 1984; Wasteson, 1990). Los serogrupos "O" más comunes en las ETEC son 8,15, 20, 25, 27, 63, 115, 128, 148 y 159 (Cravioto, 1992).

***Escherichia coli* Enteroinvasiva (EIEC)**

Esta variable virulenta de *E. coli* está estrechamente relacionada con *Shigella*; ocasiona un cuadro disentérico, indistinguible del producido por la bacteria referida, con quien además comparte antígenos, características metabólicas, mecanismos de

patogenicidad, así como los procesos de regulación de los factores de virulencia (Rico-Martínez, 1995; Cravioto, 1992; Milón, 1993). Algunos de los serogrupos "O" frecuentemente asociados a este grupo virulento son: 28, 112, 124, 136, 143, 144, 147, 152 y 164 (Cravioto, 1992).

***Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC)**

Este grupo de microorganismos producen enfermedades tales como diarrea aguda, colitis hemorrágica y una complicación grave que es el síndrome urémico hemolítico. El serotipo más común asociado a estos padecimientos es el O157:H7 (Tauxe, 1997), sin embargo, otros serotipos como: O157:H-, O111:H-, O4:H-, O26:H11, O45:H2, O103:H2, O104:H21, O111:H8 y O145:H- han sido identificados (Milon, 1993; Buchanan, 1997). Estas bacterias soportan condiciones de pH por debajo de 4 (Buchanan, 1997; Brackett, 1994; Erickson, 1995; Palumbo, 1995) y tienen un amplio rango de tolerancia a la temperatura (Palumbo, 1995; Raghubeer, 1990; Ahmed, 1995). La ingesta de alimentos como: carne de bovinos insuficientemente cocinada, leche no tratada o contaminada, mayonesa, lechuga, sidra de manzana, papas, yoghurt, bivalvos, carnes de cerdo, aves de corral, venado y ovejas, además de aguas municipales, ha sido asociado a brotes epidémicos por EHEC (Buchanan, 1997; Meng, 1994; Samadpour, 1994; Cerqueira, 1994; Wilson, 1993; Jinneman, 1995; Abdoul-Raouf, 1994; Weagant, 1994; Raghubeer, 1995; Payle, 1995).

Entre los factores de patogenicidad más importantes están la producción de citotoxinas denominadas verotoxinas (VT), toxinas semejantes a Shiga (SLTs) o

toxina Shiga (STx) (Nataro, 1998). Existen varios tipos de SLTs, la variante SLT-I (STx1), la cual es neutralizada por antisuero anti-Shiga y el resto de toxinas se agrupan como SLT-II (STx2). La fracción B de la mayoría de estas variantes se unen al glicolípido globotriosil ceramide (GB3). Producen el daño igual que la toxina Shiga. Estas toxinas están codificadas por fagos, excepto SLT-IIv que tiene su información genética en islas de patogenicidad (Milon, 1993; Gyles, 1992; Tarr, 1994; Kleanthous, 1990). Otras toxinas sintetizadas son los factores necrotizantes citotóxicos (CNF-1 y 2) y toxina distendedora citoletal (Milon, 1993; Gyles, 1992).

***Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)**

Este grupo bacteriano es una Causa frecuente de diarrea en el mundo; ha sido aislada en brotes registrados en estancias infantiles y guarderías en países en desarrollo; se estima que es una de las causas de diarrea infantil más importante y se calcula que anualmente ocurren un millón de muertes ocasionadas por esta bacteria. EPEC se une a la superficie del intestino delgado, presentándose una lesión denominada "unión y destrucción" attaching/effacing (A/E) (Finlay, 1996; Manjarrez-Hernández, 1992; Moyenuddin, 1989; Cravioto, 1991). Algunos de los serotipos que corresponden a EPEC son O55, O86, O111, O119, O125, O126, O127, O128ab, O142, O18, O44, O112 y O114 (Milon, 1993; Moyenuddim, 1989; Karch, 1987; Cobeljic, 1989; Tardelli, 1989).

***Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC)**

En 1979, Cravioto et al. reportan la existencia de cepas EPEC que se adhieren

a células HEP-2, las cuales se denominaron enteroadherentes. En la actualidad, aquellas E. coli que no secreten enterotoxina Lt o St, que se adhieren a células HEP-2 en un patrón agregativo se les llama enteroagregativas (Nataro, 1998-b).

Es considerada como un patógeno diarreogénico emergente, ligado a diarrea aguda y persistente en países en desarrollo y también industrializados. Ha sido asociada a desnutrición (Milon, 1993; Nataro, 1998). La bacteria a través de la formación de un "biofilm" (moco y bacterias) y la acción de toxinas e inflamación, provoca daño en la mucosa y secreción intestinal (Nataro, 1998; Vuopio-Varkila, 1991; Tickoo, 1992; Knutton, 1992). Savarino et al (1994, citado por Nataro, 1998). señalan haber detectado un gen que codifica para una enterotoxina termoestable; Baldwin et al. (1992), caracterizaron una toxina termolábil. En un brote de diarrea por EAEC en México, Eslava et al. encontraron que el suero de pacientes infectados por EAEC reconoce dos proteínas, una de aproximadamente 108 kDa y otra de 116 kDa. La primera ha sido llamada Pet (plasmid encoded toxin) y en ensayos in vitro ha mostrado actividad enterotóxica (Eslava, 1998; Navarro-García, 1998). Algunos serotipos de EAEC son: O44:H18, O86:H-, O126:H27, O7:H-, O77:H18, O?:H-, O?:H21 Y O-:H21 (Baldwin, 1992).

Vibrio parahaemolyticus

Bacteria halófila, perteneciente a la familia Vibrionace, frecuentemente es aislada tanto de aguas estuarinas y marinas, como de alimentos (moluscos y crustáceos) y heces de pacientes. Infecciones en humano producidas por la bacteria han sido reportadas en América, Europa, Africa y Asia (Nava-Fernández, 1984;

Vallejo, 1987; WHO Scientific Working Group, 1980; Hlady y Kont, 1996; Bravo, 1991; Magalhaes, 1991; Bocanegra, 1981; Fernández, 1988; Okuda, 1997). Por otro lado, en países orientales esta bacteria es Causa frecuente de diarrea, debido a la costumbre de consumir alimentos del mar crudos (WHO Scientific Working Group, 1980).

V. parahaemolyticus tolera condiciones ambientales adversas, como temperaturas desde 5.50C hasta 800C, aunque su rango de crecimiento generalmente es de 150C a 300C y a bajas temperaturas puede morir (Chai, 1996; Muntada-Garriga, 1995). El rango de pH óptimo es de 7.5 a 8.6, sin embargo, pueden crecer entre 4.8 y 8.6. Cuando crecen en ambientes pobres de nutrientes como glucosa, han demostrado gran resistencia a cambios osmóticos, calor y presencia de peróxido de hidrógeno (Chai, 1996; Koga, 1995). Tiene capacidad de producir quitinasa, lo cual es de gran utilidad cuando permanecen en el zooplankton en los meses de frío; cuando bajan las temperaturas y tienen pocos nutrientes en el ambiente, pueden entrar a un período de "letargo" (Chai, 1996; Koga, 1995).

El padecimiento que ocasiona es gastroenteritis aguda, aunque; se ha visto en algunos países que induce de manera predominante, un síndrome disentérico. Adicionalmente pueden ocasionar arritmias, infecciones de tejidos, septicemias y la muerte (WHO Scientific Working Group, 1980; Chai, 1996). Los primeros casos detectados en humanos, fueron ocasionados por cepas que producían hemolisina termoestable directa (TDH), la cual produjo una hemólisis en el medio de Wagatsuma, fenómeno denominado Kanagawa (KP); sobre la base de esta característica, *V. parahaemolyticus* se clasificó como Kanagawa positivos y negativos

(K+ y K-). La proteína TDH tiene un peso molecular de 40,000 Da y ha mostrado actividad citotóxica y enterotóxica en humanos y cardiotoxica en ratón; su lugar de fijación es el trisialogangliósido (GT1b) (WHO Scientific Working Group, 1980; Raimondi, 1995). Más recientemente se han identificado otros factores de virulencia, como la hemolisina relacionada a TDH (TRH) presente en cepas K- y cuyo gen trh está en el fragmento NOTL del cromosoma, al igual que el gen que codifica para la producción de ureasa (ure). Por tal motivo, se utiliza esta propiedad para predecir la capacidad patogénica de las cepas (Iida, 1997; Magalhaes, 1992; Kaysner, 1994; Suthienkul, 1995). Otros factores de virulencia caracterizados son: hemolisina delta, termolábil y hemolítica para la mayoría de eritrocitos; TDH-I, hemolisina relacionada con TDH; fosfolipasa dependiente de lecitina (LDH); VP-TDH/II que estimula la permeabilidad en piel de conejo y que es letal para el ratón; enterotoxina que induce cambios en células CHO; STx, citotóxica; lipopolisacárido endotóxico; diferentes enzimas como mucinasa, superóxidodismutasa, condroitinasa, colagenasa, elastinasa y lecitinasa (Chai, 1996; Nagayama, 1995; Rodríguez, 1993); adicionalmente, se ha asignado a los sideróforos un papel en la patogenia de esta bacteria (Yamamoto, 1994; Yamamoto, 1997; Wong, 1996). Con relación a la adherencia se ha encontrado que es inhibida por D-manosa y D-glucosa y que esta bacteria se puede fijar principalmente al folículo linfoide del íleon (Chai, 1996).

Virus Entéricos

Este es un grupo heterogéneo de microorganismos que incluye diversos géneros de virus y cuya característica común es que habitan en el intestino o

transitan por él; en ambos casos salen al exterior a través de las heces. Una gran mayoría de estos de virus son transmitidos al humano, por el agua y alimentos contaminados con heces (Cliver, 1994-a; Cliver, 1994-b; De León, 1988), los cuales al ser excretados se encuentran en concentraciones de hasta 1012 por gramo de heces. Se han encontrado alrededor de 120 tipos de virus en aguas negras y se tiene conocimiento de su gran resistencia a condiciones ambientales adversas (De León, 1988).

Con la aparición de nuevas técnicas para el diagnóstico de los virus entéricos, se ha valorado su participación como agentes de diversas enfermedades y ahora se sabe que son la Causa más frecuente de brotes por alimentos, a pesar de esto, todavía existe subregistro, principalmente en países en desarrollo (Cliver, 1994).

Los virus de la hepatitis A y E pertenecen a la familia Picornaviridae; producen una hepatitis infecciosa, autolimitada y ocasionalmente producen la muerte. Son altamente resistentes a pH ácidos, calor y deshidratación, pudiendo permanecer en el ambiente por varios meses. La hepatitis A es una enfermedad frecuente; estudios realizados en Asia y Africa demostraron que más del 90% de los niños eran seropositivos (Cromeans, 1994); por otro lado, mientras que escolares de la frontera de México y Usa, mostraron 17% de anticuerpos antihepatitis A (Redlinger, 1997); Kumate et al. (citado por Bustamante, 1992), encontraron en niños de la Ciudad de México de niveles socioeconómico bajo, medio y alto, anticuerpos anti-HAV con una frecuencia de 92, 73 y 36 %, respectivamente. Diversos alimentos marinos como ostiones, almejas y mejillones han sido asociados frecuentemente con brotes epidémicos (Cliver, 1994) y recientemente frutas frescas se reportan como vehículos

transmisores de estos virus (Tauxe, 1997). En la década de los años '80, fue identificada una partícula viral en pacientes con hepatitis no A, no B y cuya ruta de transmisión era fecal-oral; dicha partícula detectada fue el virus de la hepatitis E (HEV). Aún quedan muchas interrogantes acerca de este virus y de la enfermedad que producen, sin embargo, se sabe de la estrecha relación con HAV. De este virus se han detectado brotes en todo el mundo, incluyendo México; algunos estudios retrospectivos han determinado que algunos casos registrados como hepatitis A, fueron confirmados posteriormente como hepatitis E. (Cliver, 1994a).

Los enterovirus pertenecen a la familia Picornaviridae; se trata de partículas esféricas de 28 nanómetros de diámetro, desnudos de una hebra de RNA (Davies, 1985). Los enterovirus que infectan al humano incluyen los poliovirus, coxackievirus, echovirus y otros que han sido designados por números (Cliver, 1994b). Poliovirus produce la poliomiелitis, enfermedad con secuelas invalidantes, cuya afección se reconoce desde la antigüedad. Actualmente se estima una incidencia mundial de 250,000 casos de poliomiелitis parálitica al año; los países más afectados son los que tienen condiciones de sanidad muy precaria, con baja cobertura de inmunoprofilaxis (Ruiz1992). Se reconocen hasta la fecha 31 grupos diferentes de los Echovirus (*Enteric, cytophatic, human, orphan, virus*), estos son enterovirus que se han asociado a diversos síndromes clínicos que van desde enfermedades agudas leves de vías respiratorias e intestinales hasta afecciones del sistema nervioso central (SNC) como meningitis, encefalitis y parálisis (Davies, 1985). Se han reportado diversos brotes producidos por Echovirus en el cual el vehículo transmisor eran los alimentos (Cliver, 1994b). Coxackievirus, es un enterovirus muy similar a poliovirus,

sin embargo, solo demuestran 5% de homología en la secuencia de sus nucleótidos. Se conocen los grupos A y B que se han relacionado con síndromes clínicos como meningitis, parálisis, herpangina, infecciones de vías respiratorias, pleurodinia, miocarditis y pericarditis (Davies, 1985). Solo hay un reporte de brote epidémico transmitido por alimentos, el cual se presentó en una guardería de la Unión Soviética (Cliver, 1994-b).

El grupo denominado virus estructurados redondos pequeños (SRSV), son virus entre 30 y 38 nanómetros que han sido encontrados en las heces y han sido asociados a gastroenteritis; entre éstos se encuentran Norwalk, Amulree, Hawaii, Montgomery County, Otofuke, Sapporo, Snow Mountain y Tauton. El virus de Norwalk es el que ha sido mejor estudiado y ha sido clasificado formalmente dentro del grupo Calicivirus. Este virus usualmente es transmitido de persona a persona por la ruta fecal-oral, sin embargo puede diseminarse a través de la contaminación de agua y alimentos, provocando brotes epidémicos (Appleton, 1994). Los alimentos más frecuentemente relacionados con brotes son los moluscos bivalvos (ostiones y almejas). En muchas regiones del mundo existen registros como en Estados Unidos de Norteamérica, en donde se considera que el virus Norwalk y virus relacionados con él, son la Causa más frecuente de gastroenteritis viral, sin embargo, en la mayoría de países existe un subregistro de los casos (Viral Gastroenteritis Subcommittee of the PHLS Virology Committee, 1993).

Los Rotavirus pertenecen a la familia Reoviridae; posee 11 hebras dobles de RNA, dos cubiertas icosaédricas de proteínas y su diámetro es de 70-75 nanómetros. Los grupos reconocidos en la actualidad van de la A a la G, siendo el

primero el más importante. Este microorganismo se considera como el agente viral más importante causante de diarrea en niños menores de cinco años en países desarrollados (Abdus SS, 1994; Barnes, 1998); en países en vías de desarrollo se encuentran como agentes de diarreas después de las bacterias; Espinoza et al. detectaron que el 32.4% de un grupo de niños hospitalizados en Nicaragua, contenían Rotavirus (Espinoza, 1997); En México se han encontrado con una frecuencia de 25 a 15% en niños hospitalizados. La epidemiología de este virus es complicada por la existencia de múltiples serotipos, además de repetidas infecciones en los pacientes (Espejo, 1992).

Los Adenovirus son virus con DNA de doble cadena, tiene un diámetro de 60-90 nanómetros (Davies, 1985) y se han asociado a gastroenteritis principalmente en niños (Davies, 1985; De León, 1988). El virus ingerido con agua y alimentos o deglutido en las secreciones respiratorias, se multiplica en células del tracto gastrointestinal y es excretado por las heces. En casos de diarrea, se han identificado los tipos 1,2,5, y 6 (Davies, 1985) y en Sao Paulo, Brasil, el 10% de niños menores de dos años hospitalizados con gastroenteritis aguda, también se les detectó Adenovirus 40/41. En pacientes con inmunodeficiencia humana (Seropositivos), se encontró Adenovirus con una frecuencia de 8.7%, presentándose una diferencia significativa al contrastar estos resultados, con los obtenidos en el grupo control (Durepaire, 1995).

4. JUSTIFICACIÓN

La calidad de los productos marinos, como los mariscos, tiene impacto en la salud del hombre cuando estos alimentos se consumen crudos, ya que pueden ser vehículos de agentes que se transmiten por la ruta anal-oral, pudiendo ocasionar enfermedades gastroentéricas. Estas siguen siendo un problema de salud en nuestro medio, por lo que es importante determinar la contaminación fecal presente en estas especies, así como su origen.

Sinaloa, productor importante de mariscos que abastece el mercado local, nacional e internacional, posee áreas de pesquerías en sus costas y entre las más importantes se encuentran las del centro del estado. Con la finalidad de hacer una evaluación de la contaminación por microorganismos en esta área, Uribe et al. (1992), recolectaron muestras de ostión, almeja y camarón de los centros de acopio de mariscos en diferentes campos pesqueros durante un año. Los resultados encontrados mostraron que de 288 especímenes estudiados, el 97.2% contenían coliformes por encima de los recomendados por la Secretaría de Salud (considerando al ostión como base).

La información obtenida orientó hacia la búsqueda del origen de la contaminación encontrada, para lo cual se consideraron dos aspectos: 1) en la región costera estudiada desembocan afluentes y en sus márgenes se localizan asentamientos humanos quienes utilizan estos cuerpos de agua, como receptores de sus aguas residuales; 2) el río Culiacán recibe las aguas residuales de la ciudad de Culiacán sin tratamiento previo, existiendo reportes de su contaminación (Rojas-Corona, 1988).

Con relación a las aguas de drenes agrícolas construidos para ser utilizados en la irrigación de cultivos, se han hecho estudios con la finalidad de conocer su calidad microbiológica. Candil, *et al* (1990) realizaron un monitoreo en el que se detectaron Enterovirus en un dren agrícola; el punto de recolección de las muestras se localiza aproximadamente a 10 km de la orilla del mar, en cuyas márgenes se encuentran diversas poblaciones en las que habitan jornaleros agrícolas. Otro estudio se llevó a cabo en muestras de agua recolectadas en canales que se ubican dentro de una comunidad rural: Díaz-Camacho *et al* (1992), encontraron fagos de *Escherichia coli*, los cuales fueron utilizados como indicadores de contaminación fecal; adicionalmente, se recolectaron muestras de agua de los canales una vez que cruzaban el poblado y se encontró que los conformes fecales se incrementaban, en relación con las cifras obtenidas en el punto inicial, en donde también se lograron aislamientos de *Salmonella* spp. Las aguas de este sistema de canales, son depositadas en un dren agrícola que a su vez desemboca en el mar, aproximadamente a 15 km.

Lo anterior hace suponer que una proporción de los contaminantes presentes en los mariscos extraídos de esta región provienen de su hábitat, lo cual indica la importancia de realizar una evaluación de la calidad microbiológica de agua de zonas altamente productivas, además, valorar el impacto de ésta en un organismo que se consume crudo y que es usado como indicador: el ostión.

5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVOS

General

Determinar la contaminación fecal de agua y ostiones en zonas productoras de las costas del centro de Sinaloa, así como identificar los microorganismos potencialmente patógenos asociados a enfermedad gastroentérica en humanos.

Específicos

1. Cuantificar coliformes totales y fecales por la técnica de número más probable (NMP), para determinar la calidad microbiológica de agua en tres áreas productivas en las siguientes estaciones durante 1990: lluvias y secas termomenguante y en 1991, secas termocrecientes 1, lluvias y secas termocrecientes 2.
2. Medir los parámetros señalados para establecer la calidad microbiológica de ostión, en los lugares y tiempos mencionados.
3. Aislar e identificar las bacterias entéricas: *Salmonella*, *Shigella*, y *Vibrio parahaemolyticus* en agua y ostión.
4. Comparar la presencia de coliformes y las bacterias referidas en agua y ostión, para establecer grado de relación.

5. Determinar la presencia de enterovirus en ostión como indicador de virus entéricos, utilizando cultivos celulares, durante dos etapas estacionales del año (primavera y otoño).
6. Medir diversos factores fisicoquímicos (temperatura, pH, salinidad y oxígeno disuelto) para establecer su influencia en la variación de las bacterias coliformes.

HIPÓTESIS

El ecosistema marino de las zonas productoras del centro de Sinaloa, recibe microorganismos patógenos para el humano, los cuales contaminan especies comestibles particularmente bivalvos como el ostión, lo cual representa un riesgo para la salud de quienes los consumen. En este fenómeno influyen factores intrínsecos de lugar y climatológicos.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. MUESTREO

6.1.1. Zonas de Estudio

Las zonas objeto de estudio se encuentran localizadas en las bahías de Altata y Ensenada El Pabellón. Estas se ubican en las siguientes coordenadas en los extremos de su eje mayor: en el punto Noroeste su latitud Norte está en los $24^{\circ} 19' 4.2''$, su longitud Oeste es de $107^{\circ} 56' 45''$ y en el punto Sudeste se encuentra localizada su latitud norte en los $24^{\circ} 19' 53.4''$. En lo que se refiere a la ubicación transversal en la parte más ancha, el punto Noroeste se ubica en la latitud Norte $24^{\circ} 30' 32.6''$ y su longitud Oeste $107^{\circ} 31' 46.2''$; el punto Sudoeste se localiza en la latitud Norte en $24^{\circ} 23' 43.8''$, estando su longitud Oeste en los $107^{\circ} 37' 10.0''$ (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 1985).

Las bahías referidas abarcan los municipios de Navolato y Culiacán en el centro de Sinaloa; la distancia a la ciudad de Culiacán, capital del Estado, es de 35 kilómetros en su punto más cercano y están ubicadas al Sudoeste de la ciudad señalada.

6.1.2. Sitios Ostrícolas Estudiados

Se estudiaron tres zonas de las bahías de Altata y Ensenada El Pabellón, en donde son importantes las actividades de pesca: Altata, El Castillo y Las Arenitas.

Altata se encuentra ubicado en una zona de gran recambio de agua del mar y drenes agrícolas descargan en la zona; El Castillo está localizado en el estuario del

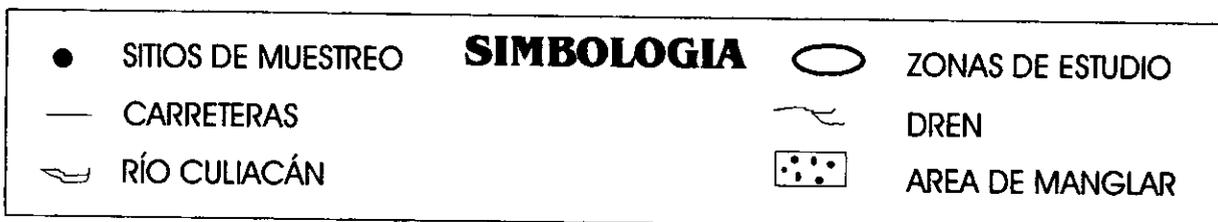
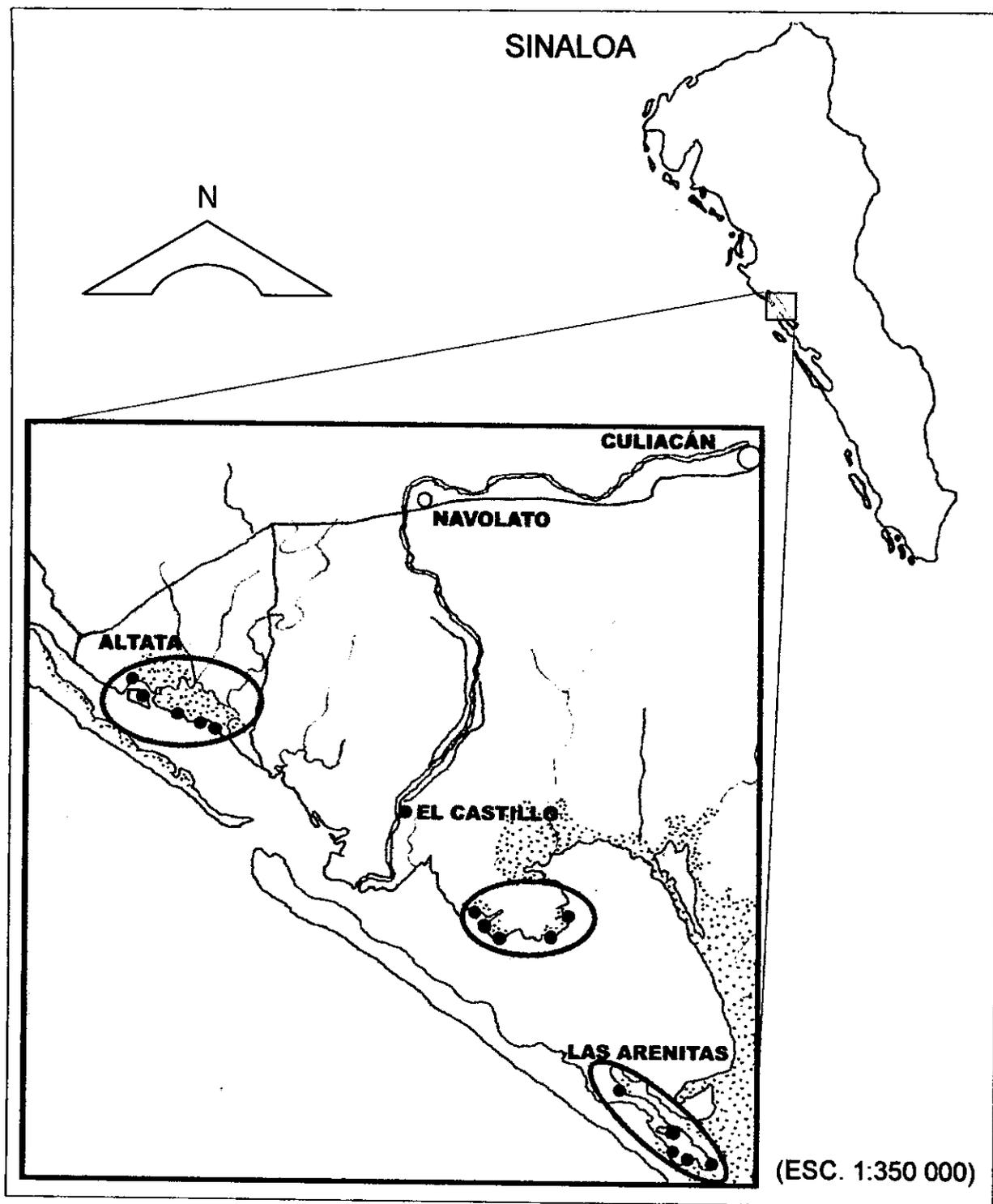


Fig. 2 SITIOS DE RECOLECCION DE MUESTRAS EN LAS BAHIAS DE ALTATA Y ENSENADA EL PABELLON

río Culiacán, el cual recibe las aguas residuales de la ciudad de Culiacán, aproximadamente 60 km río arriba y además drenes agrícolas desembocan en esa zona; Las Arenitas se encuentra localizado en un punto de la bahía en que existe poco recambio de agua y llegan algunos afluentes de uso agrícola.

Se obtuvo información de los pescadores del lugar, con relación a los principales bancos ostrícolas de cada zona productiva y buscando una representatividad en el muestreo se seleccionaron de manera aleatoria cinco puntos de cada zona, haciendo un total de 15 sitios distribuidos en las diferentes bahías (Figura 2). Lo anterior se realizó con la finalidad de establecer diferencias con relación a la contaminación fecal y los patógenos en estudio, entre las diferentes áreas elegidas para esta investigación. En cada sitio se tomaron muestras de agua y ostión.

Los nombres de los sitios seleccionados se proporcionan en un listado presentado en el anexo (Cuadro 13 del anexo)

6.1.3. Obtención de las muestras

Agua

Las muestras de agua se obtuvieron en recipientes de un litro de capacidad, estériles y envueltos en papel estraza. Una vez eliminado el empaque, se introdujeron los frascos en el agua, aproximadamente a 15 cm de profundidad (en zonas de profundidad variable), tapados e invertidos; una vez dentro se destaparon y se mantuvieron sumergidos hasta que estaban con un contenido cercano al 80% de su capacidad. Se sacaron los frascos del agua y se taparon rápidamente,

posteriormente se mantuvieron en hieleras a una temperatura de aproximadamente 6°C (Miescier, 1992).

En las condiciones referidas se trasladaron al laboratorio y se procesaron en un lapso no mayor de seis horas.

La colecta de muestras se realizaron durante diferentes estaciones del año: lluvias y secas termomenguante de 1990 y secas termocreciente 1, lluvias y secas termocreciente 2 de 1991.

Ostión

Se colectaron los especímenes de los organismos que habitan en agua superficial y que se encuentran adheridos a mangles, ayudándose de guantes y cuchillos. Se colocaron en bolsas estériles de cierre hermético. El número recolectado era de 30 a 40 ostiones tal como lo recomienda la APHA (Miescier, 1992). Las muestras recién obtenidas fueron colocadas en hielera para su mantenimiento a baja temperatura, lo cual se logró con hielo que cubría las bolsas. Los organismos recolectados fueron trasladados al laboratorio y fueron sometidos a su análisis en un lapso no mayor de seis horas (Miescier, 1992).

Las muestras obtenidas de ostión, al igual que en el caso anterior, se tomaron en cinco épocas del año para comparar variabilidad estacional. Para la detección de virus, las muestras se obtuvieron solo durante las secas termocreciente 1 y secas termocreciente 2 de 1991, para saber si existían diferencias antes y después de temporada de lluvias.

6.2. PROCESAMIENTO DE OSTIONES

Los moluscos recolectados fueron lavados y desconchados. El contenido de carne y líquido se colocó en un recipiente. Todo el proceso fue realizado en condiciones de esterilidad, asimismo, los materiales empleados fueron esterilizados previamente.

Se pesaron diferentes porciones de muestra, de acuerdo al tipo de análisis que iba a realizarse. Posteriormente las diferentes pesadas fueron sometidas a homogeneización agregándole diluyente y licuando a baja velocidad durante 30 segundos y 90 segundos a velocidad alta. Se dejó unos minutos para que disminuyera la espuma y posteriormente se hicieron las siembras correspondientes para cada uno de los análisis que se anotan a continuación (Miescier, 1992).

6.3. CUANTIFICACION DE COLIFORMES

Coliformes Totales

Se pesaron 10 g de ostión y se homogeneizaron con 90 ml de Caldo de peptona (Merck México, S.A. de C.V.) con pH 7. De esta dilución se sembraron tubos conteniendo 10 ml del medio Caldo de Lauril Triptosa (DIFCO Laboratorios, Detroit, Michigan, Estados Unidos de Norteamérica). Se sembraron series de tubos con diluciones incrementadas, con la finalidad de obtener el número más probable (NMP). Las muestras de agua se sembraron sin tratamiento alguno en los tubos con Caldo Lauril Triptosa. Tanto los caldos sembrados con agua como con ostión, se

incubaron a 35^o C durante 24 a 48 horas. Los tubos considerados como positivos son aquellos que presentaron gas y turbidez.

Se registró el número de tubos positivos y de cada uno de ellos se tomaron tres asadas para inocular Caldo de Bilis Verde Brillante 2% (BBL Becton Dickinson Microbiology Systems), para confirmar la presencia de las coliformes en el Caldo de Lauril Triptosa. Se incubaron a 35^o C durante 24 a 48 horas y al cabo de ese tiempo, los tubos positivos presentaron turbidez y gas. Se registraron los tubos positivos y se comparó con la tabla especial para determinar el NMP (Ver Cuadro 14). Para reconfirmar la presencia de coliformes se resembraron dos tubos con las diluciones positivas más altas del Caldo de Bilis Verde Brillante 2%, en cajas con Agar Mac Conkey (Becton Dickinson, Microbiology Systems, Estados Unidos de Norteamérica) (BBL). El agar se incubó a 37^o C durante 24 horas y al cabo de ese tiempo aparecieron colonias rosa intenso cuando había coliformes (Hitchins, 1992; Fernández Escartín, 1979; Thatcher, 1973).

A las colonias con las características señaladas, se les realizaron pruebas bioquímicas para su identificación final. Los medios utilizados para estas pruebas fueron: Agar citrato de Simmons (Merck México, S.A. de C.V.), Agar Hierro Kligler (BBL), Agar Hierro Lisina (BBL), MIO (Bioxón, México, S.A. de C.V.), SIM (BBL), Caldo Malonato de Edwin modificado (BBL), Caldo Sacarosa (Bioxón México, S.A. de C.V.) y Caldo Urea (Bioxón México, S.A. de C.V.)(Mac Faddin, 1993; Farmer III, 1995; Finegold, 1983).

Coliformes Fecales

Para la cuantificación de estas bacterias, se resembraron en Caldo E.C. (BBL) los cultivos positivos de los tubos de Caldo Bilis Verde Brillante (2%) obtenidos por la técnica de cuantificación de coliformes totales. Los tubos con Caldo E.C. inoculados se incubaron en baño María a 44.5⁰ C por 24 a 48 horas. Los tubos considerados positivos fueron aquellos que presentaron turbidez y gas. Los de mayor dilución se resembraron en Agar Mac Conkey con la finalidad de confirmar las coliformes fecales; se incubaron los cultivos a 37⁰C durante 24 horas. Al cabo de ese tiempo, se observaron las colonias y aquellas que fueran de color rosa intenso, se sometieron a pruebas bioquímicas para su identificación final. Las pruebas utilizadas fueron las ya referidas en la sección de coliformes totales (Hitchins, 1992; Fernández Escartín, 1979; Thatcher, 1973; Mac Faddin, 1993; Finegold, 1983).

6.4. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Salmonella*

Se pesaron 25 g de ostión y se colocaron en un vaso estéril de licuadora. Se les agregaron 225 ml de Caldo lactosado (BBL) y se procedió a homogeneizar, tal como ya se indicó en la sección correspondiente. Para el caso del agua se sembró directamente en Caldo Lactosado, incubándose a 37⁰ C durante 18 horas. Una vez transcurrido este tiempo, se tomó un mililitro de los cultivos y se resembraron en un tubo conteniendo Caldo Selenito y Cistina de Leifson (Merck México, S.A. de C.V.). Se incubaron a 37⁰ C durante 18 horas; a continuación se tomaron asadas y se sembraron en medios diferenciales y selectivos. Los medios utilizados fueron Eosina Azul de Metileno (EMB), (Bioxón México, S.A. de C.V.), Agar Salmonella-Shigella

(S.S.) (Merck México, S.A. de C.V.), Agar Verde Brillante (BBL) y Agar Sulfito de Bismuto (BBL). Los cultivos se incubaron a 37⁰ C durante 24 horas; al cabo de ese tiempo se seleccionaron colonias sospechosas de ser *Salmonella* y se les realizaron las pruebas bioquímicas referidas en el apartado 6.3. de cuantificación de coliformes totales. A las cepas bacterianas que mostraron el perfil bioquímico de *Salmonella*, se les sometió a prueba serológica con antisuero polivalente anti-*Salmonella* (Bigaux Diagnóstica, S.A.) (Flowers, 1995; Farmer III, 1995; Mac Faddin, 1993).

6.5. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Shigella*

Se pesaron 25 g de ostión y se licuaron con 225 ml de Caldo de GN de Hajna (BBL). El homogeneizado se colocó en frasco estéril y se incubó a 37⁰ C durante 12 a 18 horas; por otro lado, 25 ml de cada muestra de agua fue inoculada directamente en 225 ml de Caldo de GN. Después de transcurrido el tiempo de incubación se traspasó un mililitro del cultivo a 10 ml de Caldo de Selenito y Cistina. Se incubó a 37⁰ C durante un máximo de 18 horas; posteriormente se sembró con asa, en diversos medios: EMB, S.S. y Agar de Xilosa Lisina Descarboxilasa (XLD) (BBL). Se incubaron a 37⁰ C durante 24 horas; las colonias con morfología y características de *Shigella*, se sembraron en medios para pruebas bioquímicas. Los medios usados fueron los utilizados para coliformes totales. Las bacterias con perfil bioquímico compatible con *Shigella* se tipificaron por serología para su confirmación (Difco Laboratories, Detroit-Michigan, U.S.A.) (Smith, 1992; Mac Faddin, 1993; Finegold, 1983).

6.6. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Vibrio parahaemolyticus*

De las diferentes especies de *Vibrio*, se estudió solamente *V. parahaemolyticus* por tener antecedentes de su presencia, en mariscos obtenidos en la región. Para su aislamiento se pesaron 25 g de ostión; esta porción se licuó con 225 ml de Caldo Peptona con pH de 8.5 y 3% de Cloruro de Sodio (Backer Analyzed, Reagent). La mezcla se colocó en un frasco estéril y se incubó a 37⁰ C durante 12 horas. Las muestras de agua fueron sembradas directamente en agua peptonada, colocando 25 ml de agua en 225 ml de medio. Una vez transcurrido el tiempo requerido, los cultivos se inocularon en medio de Agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS) (BBL). Las cajas se incubaron durante 24 horas a 37°C; las colonias sospechosas de *V. parahaemolyticus*, se identificaron por pruebas bioquímicas a las cuales se les adicionó Cloruro de Sodio al (3%)(J.T. Baker S.A. de C.V.). Las bacterias que mostraron características bioquímicas correspondientes a *V. parahaemolyticus*, fueron confirmadas por pruebas adicionales como prueba de oxidasa con Cloruro de N-N dimetil, 1,4, difenilamina (E. Merck, Darmstadt, Alemania) y tolerancia a diferentes concentraciones de Cloruro de Sodio: 0, 3, 6, 8 y 10%, usando como diluyente caldo de peptona. Además se efectuaron las pruebas de fermentación de Manitol (E. Merck, Darmstadt, Alemania), fermentación de Arabinosa (Hofmann-Pinthor & Bosmorth, S.A.), fermentación de Rafinosa (E. Merck, Darmasdt, Alemania), fermentación de Sorbitol (E. Merck, Darmasdt, Alemania), prueba de Oxidación-Fermentación de Dextrosa en el Medio Basal OF (BBL), reducción de Nitratos (Merck, México, S.A. de C.V.), Reacción del rojo de metilo - Voges Proskawer (Medio MR-VP) (Bioxón de México, S.A. de C.V.) y licuefacción de

la gelatina en el medio de Gelatina Nutritiva (Bioxón de México, S.A. de C.V.) (Mac Laughlin, 1965; Mac Faddin, 1993; Finegold, 1983; Thatcher, 1973).

6.7. DETECCION DE ENTEROVIRUS EN OSTION

6.7.1. Concentración

Se desconcharon los ostiones y se colocaron en un recipiente estéril. Se pesaron y se registraron, manteniéndose a -20° C hasta su análisis.

Para la realización de la prueba se utilizó la técnica de Sobsey (1982, 1990) y De León (1988).

Primeramente se descongelaron las muestras y se les agregó el equivalente de su peso en volumen de agua destilada; a continuación se obtuvo una mezcla homogénea en licuadora marca Osterizer a baja y alta velocidad durante uno y dos minutos respectivamente. Se midió el volumen del homogeneizado, posteriormente se pasó al vaso de la licuadora y se le agregaron 3.5 volúmenes de agua destilada; a continuación se licuó a alta velocidad por 30 segundos. Se transfirió la mezcla a un vaso de precipitado y se ajustó el pH a 5 y la conductividad, al equivalente a la generada por 2,000 ppm. de NaCl. Se registró el pH y la conductividad detectada.

Se pasó el homogeneizado a tubos de 50 ml de capacidad y se centrifugó a 3,500 rpm durante 15 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con una solución de glicina-sal al 0.05N, adicionando una cantidad de mililitros igual a su peso multiplicado por siete; Se licuó a alta velocidad durante 30 segundos y posteriormente se ajustó la mezcla a un pH de 7.5. Se vertió a tubos de 50 ml para someterlos a centrifugación con una velocidad de 3,500 rpm. Se descartó

el sedimento y el sobrenadante se ajustó a pH de 4.5 y se mezcló a continuación durante 15 minutos.

La mezcla se colocó en tubos de centrifuga para someterlos a una velocidad de 3,500 rpm. Por 15 minutos; se desechó el sobrenadante y el sedimento se suspendió con Na_2HPO_4 0.1M (J.T. Baker S.A. de C.V.), a continuación se ajustó el pH a 7.3. Se agregó 0.1 ml de solución 1% de CAT-FLOC (Calgon, Corporation) por ml de resuspensión y se mezcló suavemente por 15 minutos. Posteriormente se centrifugó la mezcla a 7,000 rpm. por un lapso de 20 minutos; Se eliminó el sedimento y al sobrenadante se le adicionó 5 ml de Cloroformo (Sigma Chemical Company), agitándose posteriormente durante 5 minutos. Se recuperó la capa acuosa y se añadió un mililitro de solución Gentamicina-Kanamicina (United States Biochemical Corporation), por cada 10 ml de concentrado. Se registraron los volúmenes finales, tanto del concentrado de ostión como del antibiótico utilizado.

6.7.2. Titulación de Enterovirus

La cuantificación de virus se realizó en monocapas celulares de línea BGM, utilizando la técnica del número más probable (NMP). El procedimiento consistió en inocular 3 ml del concentrado de ostión en cinco monocapas de 75 cm², 5 monocapas de 25 cm² con 0.3 ml del concentrado y cinco monocapas con la misma área que la dilución anterior, con 0.03 ml del concentrado; adicionalmente se sembró una monocapa con solución salina para ser utilizada como control. Se adsorbió la muestra por hora y media a 37⁰ C, con inclinación de la monocapas cada 15 minutos. Se eliminó el inoculado de las células y se lavaron con un pequeño volumen de solución amortiguadora de fosfatos. Posteriormente se le añadió medio de

mantenimiento: Medio Esencial Mínimo (GIBCO Grand Island Biological Company) adicionado de bicarbonato de sodio (Sigma Chemical Company), solución de Hepes (Research Organics Inc), Glutamina (United States Biochemical Co.), Penicilina G sódica (GIBCO Grand Island Biological Co.), Sulfato de Estreptomina (Sigma Chemical Company), Micostatina (United States Biochemical Corporation) y suero bovino fetal (GIBCO Grand Island Biological Company). Se incubaron a 37⁰ C y se observaron las monocapas en el estereomicroscopio, con una periodicidad de cada 24 horas hasta que exhibían efectos citopatogénico; si éstos no aparecían, se desechaban a los 14 días. Aquellas monocapas positivas se confirmaron, en cultivos nuevos, inoculando 0.1 ml de la dilución original y filtrándolas previamente. Se adsorbieron por una hora, se eliminó el inóculo y se le añadió medio de mantenimiento. Se revisaron las monocapas incubadas a 37⁰ C durante 14 días o hasta que se observó efecto citopático.

6.8. Medición de parámetros fisicoquímicos

Temperatura: Se midió en el lugar de muestreo con un termómetro de escala - 10 a 110 °C (Bramman)

Salinidad: Se determinó este parámetro, utilizando un conductímetro (DS Meter). Se utilizaron como patrones de referencia sol. de NaCl a una concentración de 2,000 y 5,000 ppm.

pH: Se midió en el laboratorio con un potenciómetro (Ion Analyzer Corning, Modelo 255).

Oxígeno Disuelto: Se determinó en el sitio de muestreo con un medidor de oxígeno disuelto (Dissolved Oxygen meter ICM Modelo 31250).

6.9. ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACION

La información fue captada en una computadora personal mediante el programa Microsoft™ Excel 1997 y fue procesada mediante el paquete de cómputo denominado Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versión 5 para Windows 95.

La contrastación de las hipótesis planteadas en el apartado 5, requirió de un tratamiento estadístico de la información realizado de la siguiente manera:

1. Para conocer existía contaminación microbiana en agua y ostión de las zonas objeto de estudio en las diferentes estaciones, se determinaron estadísticas descriptivas de tendencia central (media geométrica) y de dispersión (desviación estándar (obtenida mediante el antilogaritmo de la transformación logarítmica de los valores); valores máximo y mínimo, para las variables: coliformes totales en agua (ACT), coliformes fecales en agua (ACF), coliformes totales en ostión (OCT) y coliformes fecales en ostión (OCF), en Altata, El Castillo y las Arenitas, durante secas termocreciente 1 (STC 1), lluvias, secas termocreciente 2 (STC 2) y secas termomenguante.
2. Para determinar el efecto estacional en las zonas productivas, en ACT, ACF, OCT y OCF, se aplicó prueba de Kruskal-Wallis, con distribución de Ji.-cuadrada, con dos colas y un alfa de 0.05.

3. Además, se contrastaron las variables ACT, ACF, OCT y OCF para cada sitio y tiempo de estudio, realizando una prueba estadística no paramétrica ya que en este tipo de estadística los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de la distribución muestral, tal como se requiere en estadística paramétrica, no necesitan cumplirse, supuesto que en el presente conteo de coliformes evidentemente no se cumplieron; la prueba no paramétrica utilizada fue la de Kruskal-Wallis. Cuando se detectaron diferencias significativas entre los sitios de estudio, se investigó cuáles diferían entre sí, mediante el cálculo de los intervalos de confianza, tal como lo señala Marascuilo (1977).

3. Con el propósito de evaluar el grado de asociación entre coliformes totales y fecales de agua y ostión se realizó un análisis de correlación lineal simple de Pearson.

4. Para el caso de las bacterias objeto de estudio y Enterovirus en alguna de las estaciones estudiadas, no se requirió análisis estadístico, solo se realizó un conteo de incidencia.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. MUESTREO

Se definieron tres zonas para el estudio, tal como se mencionó en la sección de Material y Métodos, con base al volumen de captación de productos marinos y a su ubicación geográfica: Altata, El Castillo y Las Arenitas. Asimismo, que la información proporcionada por los pescadores, permitió seleccionar al azar, cinco sitios por cada zona; de cada uno se obtuvieron ostión y agua, durante cinco periodos estacionales, que por haberse realizado el estudio en un lugar tropical se le asignarán los siguientes nombres: lluvias'90 (21 de junio al 21 de septiembre), secas termomenguante (21 de diciembre a 20 de marzo), secas termocreciente 1 (21 de marzo al 20 de junio), lluvias'91 (21 de junio al 21 de septiembre) y secas termocreciente 2 (22 de septiembre al 20 de diciembre). El total de muestras fue de 150, 75 de agua y 75 de ostión.

La especie de ostión recolectado fue *Crassostrea corteziensis* organismo identificado por el Dr. Isidro Osuna López de la Escuela de Ciencias del Mar, de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

El ostión referido, también fue objeto de estudio para analizar la presencia de enterovirus. En este caso se colectaron ostiones en los 15 sitios de las tres zonas investigadas, durante la estación de secas termocreciente 1 y 2. El total de muestras estudiadas fue de 30.

7.2. CUANTIFICACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES

7.3. Coliformes en Agua.

Con la finalidad de conocer la calidad sanitaria de las bahías en estudio, utilizando para tal efecto los coliformes totales, se obtuvieron las medianas de los valores encontrados en las muestras de agua recolectadas en los sitios estudiados; esto se realizó durante las estaciones del año en que se desarrolló la investigación. Las medianas se compararon con los valores de referencia en la Norma Oficial Mexicana (NOM-031-SSA1-1993: Diario Oficial de la Federación, 1995). En ella se indica que una área puede ser declarada como susceptible de explotación de bivalvos cuando la mediana no exceda de 70 coliformes totales / 100 ml y que el 10% de las muestras no excedan de 330 coliformes / 100 ml.

De acuerdo a los valores encontrados (Cuadro 1), se puede observar que el 60% de las áreas estudiadas en los diferentes tiempos se consideran sanitariamente inadecuadas. Durante las lluvias'90 y secas termomenguante, todos los lugares tuvieron valores por encima del estándar recomendado, en cambio, en cada una de las estaciones restantes, dos de las tres zonas estudiadas fueron aptas para la recolección de ostión.

En lo que respecta a los coliformes fecales la Norma NOM-031-SSA1-1993 (Diario Oficial de la Federación, 1995), señala que la mediana de al menos 5 muestras no deben exceder de 14 coliformes fecales/100 ml y el 10% de las muestras no tener cuentas por encima de 49 coliformes fecales/100 ml. Considerando dichos valores, los resultados obtenidos de coliformes fecales muestran que la zona que de manera permanente fue sanitariamente inadecuada

CUADRO 1

**MEDIANAS DE COLIFORMES TOTALES* Y FECALES* / 100 ML
EN AGUA DE BAHÍAS DEL CENTRO DE SINALOA**

	LLUVIAS 1990	SECAS TM* 1990	SECAS TC* 1	LLUVIAS 1991	SECAS TC* 2
	TOTALES FECALES				
ALTATA	1100† 9	1100† 210‡	4 4	43 43‡	210† 9‡
EL CASTILLO	460† 460‡	93† 23‡	4† 4‡	15† 15‡	23 4‡
LAS ARENITAS	460‡ 64‡	240† 93‡	23 23‡	9 4	43 23‡

TM = Termomenguantes; TC = Termocrecientes; 1=1990; 2=1991

(†) Zonas no aptas para crecimiento de bivalvos según Norma Oficial (>70 CT/100 ml, > 10% de la muestra > 330 CT/100 ml)
(‡) >14 CF/100 ml; >10% >40 CT/100 ml

para crecimiento de bivalvos, fue El Castillo ya que durante todas las estaciones del año se registraron valores por encima de la Norma (Cuadro 1). En esta zona se encuentran estuarios del río Culiacán y de drenes agrícolas

Por otro lado se puede observar que Altata fue el sitio en que el número de coliformes fecales resultó más bajo, comportándose en lluvias'90 y en secas termocreciente 2 como una zona adecuada para el crecimiento de bivalvos. Con relación a la discrepancia que se observa de considerar Altata durante lluvias'90 apto para el crecimiento de bivalvos, basándose en el número de coliformes fecales y no apto considerando las coliformes totales, puede deberse al tipo de microorganismos presentes, ya que se identificaron principalmente cepas de coliformes no fecales como *Klebsiella* y *Enterobacter*, ambas consideradas como bacterias resistentes a condiciones ambientales diversas (Paille *et al*, 1986). Se ha descrito a *Klebsiella* como el género más frecuente en ambientes con temperaturas elevadas y Muñoz Escobedo (1995), encontró que *Klebsiella pneumoniae* toleraba concentraciones de cloruro de sodio hasta de 17.25 g / l. En lo que respecta al resto de estaciones en las que se observó una falta de coincidencia, como en Altata, se debe a que los valores de coliformes totales y fecales son iguales o muy semejantes,.

Considerando de manera individual las lecturas de coliformes en las muestras estudiadas, se observa una gran variabilidad, tal como se aprecia en el Cuadro 2. En éste, se pueden visualizar medias geométricas de 8 en termocreciente 1 y de 416 en lluvia'90, valores mínimos de 4 y 0 en las diferentes estaciones del año y máximos de 1100 y 93, con desviaciones estándar que van de 4 a 7.

El comportamiento de las cifras de coliformes fecales obtenidas en agua también se observan en el Cuadro 2 y en las diferentes estaciones del año se pueden apreciar medias geométricas que van desde 6 hasta 109, con valores máximos desde 75 hasta 1,100 y valores mínimos de 0 a 4. Las cifras de las desviaciones estándar fluctuaron entre 6 y 7.

La variabilidad detectada nos habla de contaminación intermitente en los lugares (punteal), la cual se debe a innumerables factores, tales como la ubicación geográfica de los puntos de recolección, ya que a estas zonas llegan afluentes (Figura 10 y 11 en anexo), que traen caudales y contaminantes diferentes (Cuadro 15 en anexo); también existen diversas poblaciones cercanas a sitios de muestreo, que depositan sus desechos directamente al mar. Adicionalmente, la contaminación puede estar influida por factores climatológicos y también por variables de sitio del ecosistema marino, tales como pH, salinidad, temperatura, etc. (Bouchriti, 1992; Paille, 1987). Bouchriti *et al.* reportan variaciones desde 0 hasta 8,300 coliformes totales/100 ml en agua de áreas ostrícolas de Florida; Licona-Moreno *et al.* señalan la presencia de coliformes totales en el estuario del río Tuxpan desde menos de 100 hasta cerca de 100,000 coliformes totales/100 ml.

Con relación a valores registrados por otros autores para coliformes fecales, se puede observar que Kaysner (1987) encontró en la costa oeste de Estados Unidos de Norteamérica, cifras hasta de 369 coliformes fecales/100 ml; Motes *et al.* (1991) encontró rangos desde 1.8 hasta 28,000 coliformes fecales/100 ml. Licona-Moreno *et al.* (1995), señalan la presencia de estas bacterias en el río Tuxpan desde aproxi-

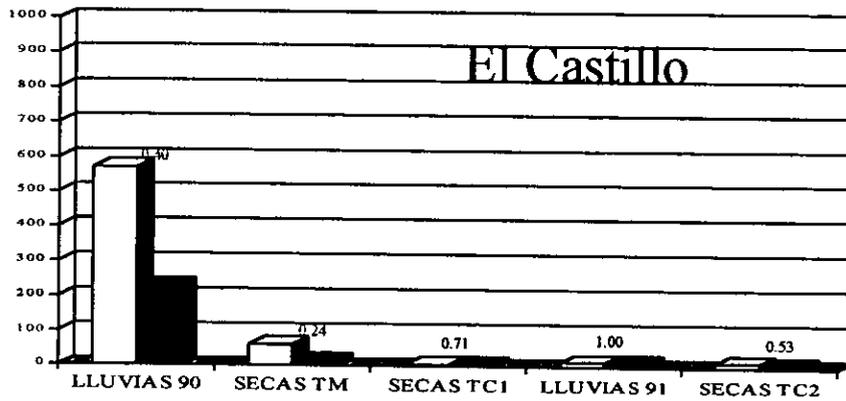
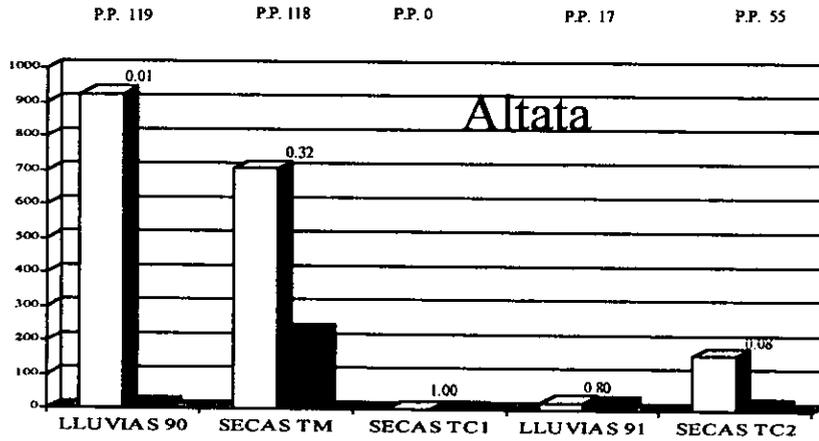
madamente 50 hasta alrededor de 10,000 coliformes fecales/100 ml.

En el Cuadro 2 y en la Figura 3 se puede observar que las cuentas de coliformes eran muy altas durante las dos primeras estaciones de estudio (lluvias'90 y secas termomenguante) y llama la atención las cifras altas obtenidas durante las secas referidas en Altata y Las Arenitas, las cuales pudieran estar relacionadas con la llegada de jornaleros agrícolas a la región (información de dominio público), lo que acarrea el incremento en el volumen de aguas residuales vertidas a los afluentes. Por otro lado, durante ese año se presentó una precipitación pluvial (hasta 236 mm) superior a la observada en los diez años anteriores, según información proporcionados por la Comisión Nacional del Agua (1996), lo que favoreció probablemente el arrastre de microorganismos al mar.

En esta gráfica (Figura 3), también se puede apreciar que los valores obtenidos en lluvias'90, son más elevados que los de lluvias'91, lo que probablemente se deba a la diferencia de precipitación pluvial: en julio de 1990 la CNA reportó 118.9 mm y en 1991, 17.4 mm (Comisión Nacional del Agua, 1996). Asimismo, se observa que el valor más alto registrado en lluvias'90, corresponde a Altata y lo mismo ocurre en secas termomenguantes. En esta área desembocan drenes que provienen de lagunas costeras que reciben aguas residuales de la ciudad de Navolato (Figura 11 y Cuadro 15 en el Anexo)

La relación coliforme fecal/coliforme total observado en la Figura 3, nos permite ver en qué proporción se encuentran las primeras con relación a las coliformes totales. De manera general se puede apreciar que no existe un patrón homogéneo,

Figura 3
Coliformes totales y fecales en agua de bahias del
centro de Sinaloa (medias geométricas)



COLIFORMES

□ TOTALES

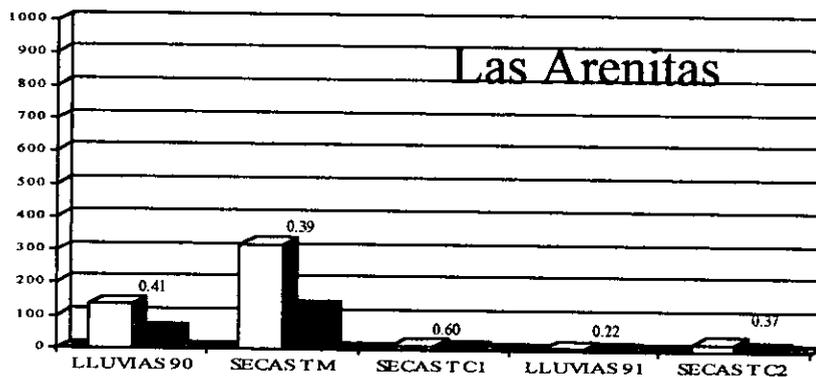
■ FECALES

■ CF / CT

P.P. = PRECIPITACIÓN PLUVIAL

T.M. = TERMO MENGUANTE

T.C. = TERMO CRECIENTE



salvo en secas termomenguante y termocreciente 1. La variabilidad encontrada en el resto de los casos fluctúa entre 0.01 y 1. Esto nos habla de condiciones ambientales diversas, además de respuestas diferentes de los microorganismos a tales condiciones.

La diferencia en las estaciones del año, fue determinada por la prueba de Kruskal-Wallis, cuyos resultados se observan en el Cuadro 3. Tanto para coliformes totales como fecales en agua, se encontró que presentaban diferencias significativas ($p < 0.05$), al comparar los valores obtenidos para cada zona, en los diferentes tiempos; el único caso en que no se observó significancia fue para las coliformes fecales en el Castillo.

Al contrastar los valores encontrados de coliformes totales en los diferentes sitios, por medio de la prueba de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias significativas en lluvias'90 ($p = 0.04$) y en secas termocreciente 1 ($p = 0.069$).

Basándose en los intervalos de confianza se determinó para el lluvias'90, que tal diferencia fue entre las zonas de Altata y las Arenitas, teniendo el primero el valor más alto de coliformes totales (Figura 4). Como se muestra en el Cuadro 7, las temperaturas registradas durante la época referida pudieron influir en lo observado en Altata.

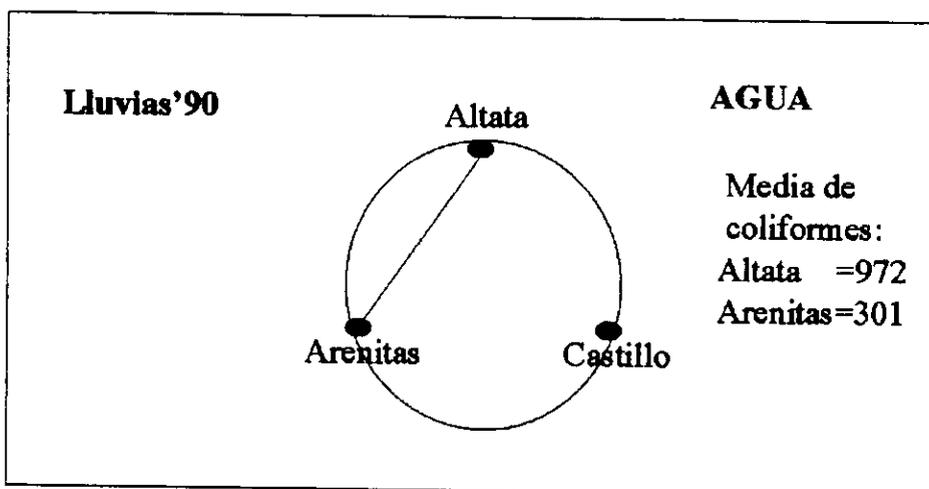
La homogeneidad de los valores obtenidos para coliformes fecales, también se determinó utilizando la prueba de Kruskal-Wallis, encontrándose que lluvias'90 fue la época que presentó diferencia significativa ($p = 0.02$); al analizar la diferencia entre zonas se encontró que ésta se daba entre El Castillo y Altata (Figura 5), encontrándose que en El Castillo se tuvo el mayor registro de coliformes fecales.

**Cuadro 3. Coliformes en bahías del Centro de Sinaloa:
Prueba de Kruskal Wallis**

Sitio:	Aislamiento Coliformes		Estadístico de	p =
	en:		Kruskal-Wallis,	
			de Ji-cuadrada	
			<small>(g.l.=4)</small>	
Altata	Agua	Totales	19.32	0.0007*
El Castillo	"	"	10.99	0.03*
Las Arenitas	"	"	12.6	0.01*
Altata	Ostión	"	18.68	0.0009*
El Castillo	"	"	10.99	0.03*
Las Arenitas	"	"	19.32	0.0007*
Altata	Agua	Fecales	12.65	0.01*
El Castillo	"	"	6.79	0.1
Las Arenitas	"	"	11.97	0.01*
Altata	Ostión	"	10.68	0.03*
El Castillo	"	"	6.79	0.1
Las Arenitas	"	"	12.65	0.01*

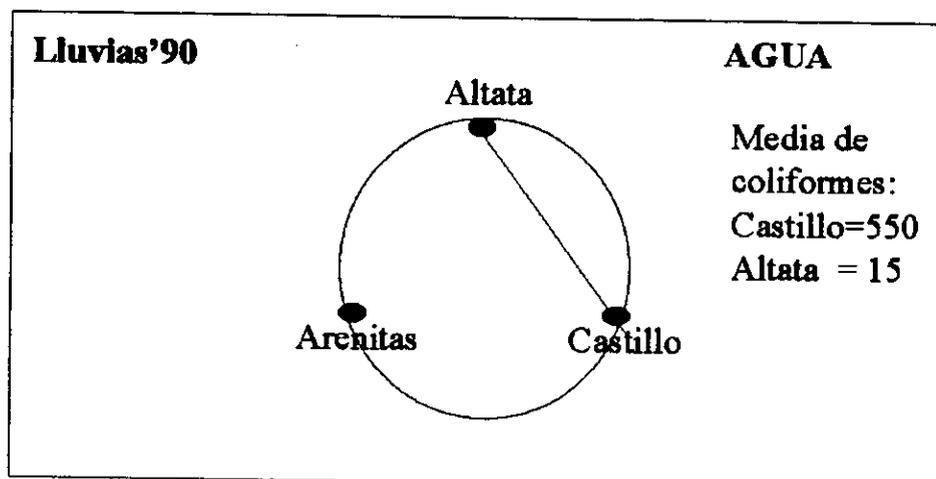
Nota. La significancia estadística se denota con *

Figura 4. Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes totales en agua de Lluvias'90



Nota: El segmento de recta que une a las dos zonas, significa que estos presentan diferencias ($p < 0.05$).

Figura 5. Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes fecales en agua del Lluvias'90



Nota: El segmento de recta que une las dos zonas indican que estos presentan diferencias ($p < 0.05$).

7.2.3. Coliformes en ostión

Los valores de coliformes totales no son considerados por la NOM (Diario Oficial de la Federación, 1995), como base para indicar si el ostión es sanitariamente adecuado para su consumo, sin embargo, desde el punto de vista de contaminación, los resultados obtenidos al estudiar esta variable resultan importantes. En lo que se refiere a las cifras de coliformes fecales, éstas son contempladas en la NOM; considerando las especificaciones de la norma NOM-031-SSA1-1993 (Diario Oficial de la Federación, 1995), en la que se señala que el valor máximo permitido para ostión es de 230 coliformes fecales/100 gramos, el 72% de las 75 muestras de ostión recolectadas, tuvieron cuentas de coliformes por encima de las cifras de referencia señaladas. Siguiendo este mismo criterio, se puede observar (Cuadro 4), que el

Cuadro 4. Muestras de Ostión que No Cumplen con la Norma Sanitaria para Consumo Humano*

	Lluvias'91	Secas TM	Secas TC1	Lluvias'91	Secas TC1
Altata	5/5	5/5	2/5	5/5	2/5
El Castillo	5/5	5/5	0/5	4/5	5/5
Las Arenitas	5/5	5/5	5/5	2/5	1/5

*Norma Oficial Mexicana: >230 coliformes fecales/100g
TM=termomenguante TC=Termocreciente

mayor número de muestras por arriba de la Norma se detectó en secas termomenguante 15/15 (100%), lluvias'90 14/15 (86.7%) y lluvias'91 11/15 (73.3%) y el menor número de muestras positivas se registró en secas termocreciente 1 (7/15).

Con relación al comportamiento de las coliformes en ostión se puede señalar que también existe variabilidad (Cuadro 5).

Las medias geométricas obtenidas para las diferentes estaciones del año oscilaron entre 618 hasta 8,334. Se observaron valores máximos de 11,000 y mínimos que van de 40. Las desviaciones estándar fueron de 2 a 6. En lo que respecta a las coliformes fecales, se observa también en el Cuadro 5 cifras de: media, desviación estándar, valor máximo y mínimo para los tiempos estudiados.

Los valores registrados muestran nuevamente la variabilidad referida en los resultados de coliformes totales y fecales de las muestras de agua. Las causas de tales diferencias probablemente también obedecen a la participación de factores intrínsecos de lugar y tiempo ya citados. Sin embargo, las fluctuaciones de los valores registrados en el agua, no siempre concordaron con los observados en el ostión, probablemente porque los microorganismos que se encuentran en el agua que él introduce, se van acumulando requiriendo tiempo para que el ostión exhiba la contaminación promedio del agua (Bouchriti, 1992).

Para apreciar de que época del año provenían los ostiones que presentaban una mayor contaminación, se elaboró una gráfica con las medias geométricas de los valores encontrados (Figura 6). En ésta se puede apreciar que en lluvias del '90 se registran los valores de coliformes totales más elevados, comportándose de manera similar en secas termomenguante, excepto en El Castillo, en donde el promedio de

CUADRO 5

**COLIFORMES TOTALES* Y FECALES* EN
OSTIÓN DE BAHÍAS DEL CENTRO DE SINALOA**

	LLUVIAS 1990	SECAS T.M.	SECAS T.C.1	LLUVIAS 1991	SECAS T.C.2
ALTATA	TOTALES FECALES				
	11000	4600	230	2400	230
	11000	11000	430	2400	1500
	11000	11000	430	2400	930
	1500	+11000	1	2400	90
	11000	11000	90	430	2400
M. GEOM**	7385	9240	245	1702	586
EL CASTILLO					
	11000	930	30	+11000	11000
	9200	2400	230	4600	+11000
	+11000	430	40	930	+11000
	11000	930	1	430	430
	1500	11000	280	230	1500
M. GEOM**	7125	1579	228	1360	3861
LAS ARENITAS					
	11000	280	4600	930	230
	11000	11000	4600	930	1500
	11000	11000	2400	2400	230
	11000	11000	2400	930	230
	+11000	11000	11000	930	4600
M. GEOM**	11000	5279	4221	1124	609
PARA TODA LA ESTACIÓN:					
M. GEOM*	8334	4255	618	1375	1113
DESV. EST	2	4	6	3	5
	5		21	3	6

(*) NMP/100ml M. GEOM**= Media geométrica, T. M. = Termomenguante; T. C.- = Termocreciente; 1 = No cultivable

coliformes tuvo una baja sensible. Por otro lado, durante secas termocreciente 1 se observó una disminución de los coliformes, encontrándose un ligero incremento en lluvias'91 principalmente en El Castillo.

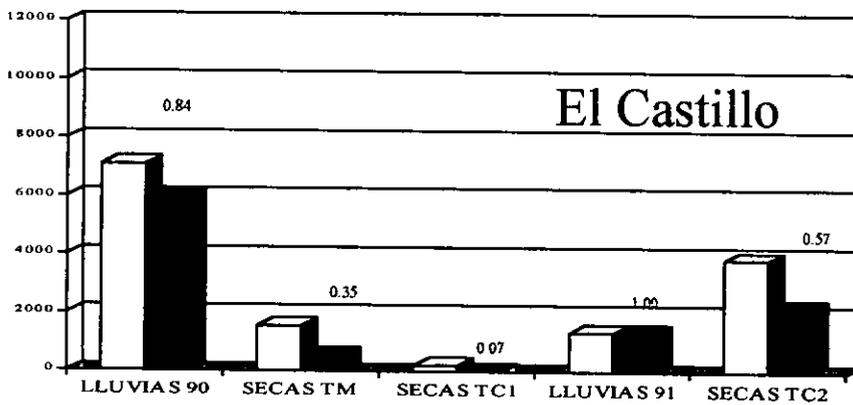
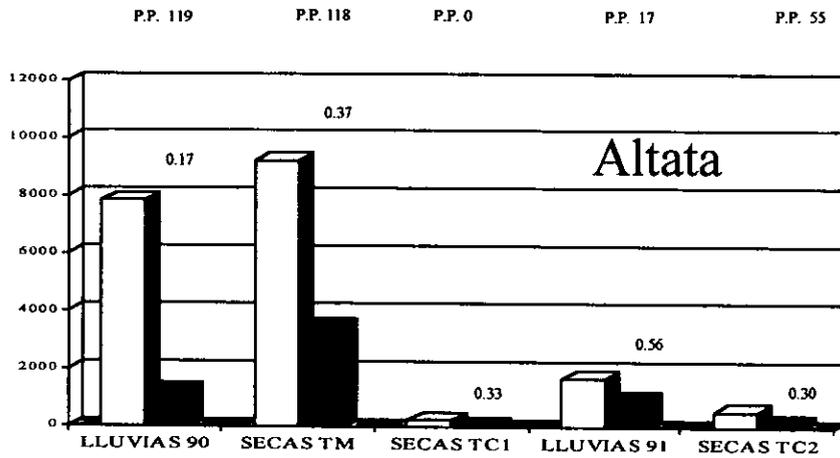
En secas termocreciente 2 el punto más contaminado fue El Castillo con una media geométrica de coliformes totales de 3,861 coliformes/100 gramos. En general se puede observar que las lecturas tanto de lluvias'90 como de lluvias'91 fueron similares a las obtenidas para agua, siendo éstas superiores en el primer año, lo cual posiblemente se debe como ya se mencionó, a la diferencia de precipitación pluvial en las épocas estacionales señaladas, entre otros factores (Comisión Nacional del Agua, 1996).

El comportamiento de las cuentas de coliformes fecales a lo largo del tiempo fue similar al referido en los datos obtenidos para coliformes totales. Las medias geométricas más elevadas se encontraron durante las lluvias del 90 y 91 y secas termocreciente 2 en El Castillo, por otro lado, Las Arenitas tuvo los registros más altos durante secas termomenguante y termocreciente 1.

La relación coliforme fecal/coliforme total anotada en la Figura 6, al igual que para agua tampoco presenta un comportamiento homogéneo en las diferentes estaciones del año, solo Altata presentó pocas fluctuaciones (de 0.17 a 0.56). La causa de estas variaciones es similar a lo referido para las coliformes en agua, además de las condiciones fisiológicas del ostión.

Con la finalidad de establecer la significancia estadística al comparar los valores obtenidos a lo largo del tiempo en las diferentes zonas estudiadas, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados obtenidos (Cuadro 3) señalan que existió

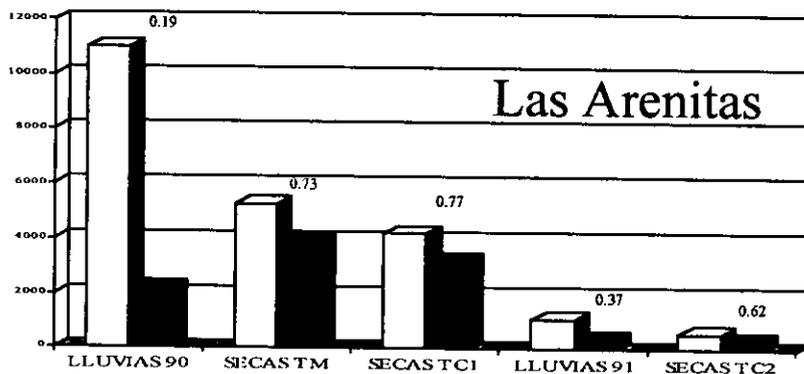
Figura 6
Coliformes totales y fecales en ostión de bahías
del centro de Sinaloa (medias geométricas)



COLIFORMES

- TOTALES
- FECAL
- CF / CT

P.P. = PRECIPITACIÓN PLUVIAL
T.M. = TERMO MENGUANTE
T.C. = TERMO CRECIENTE



diferencia significativa, en todas las contrastaciones en los diferentes tiempos, excepto para las coliformes fecales en el Castillo.

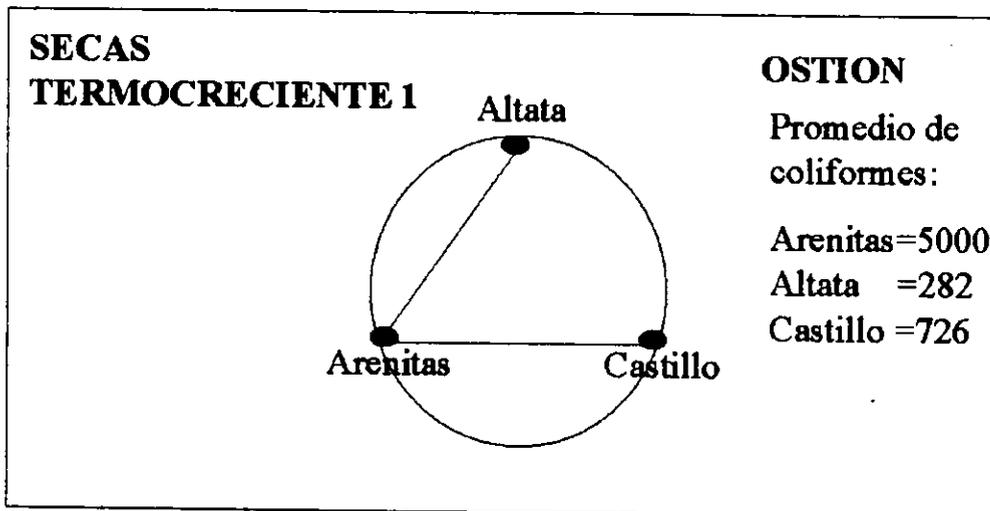
Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis, las comparaciones de los valores de coliformes totales en los sitios de muestreo: Altata, Las Arenitas y El Castillo, durante las diferentes estaciones del año, determinó que solo en secas termocreciente 1 hubo diferencias significativas entre dichos sitios, encontrándose una $p=0.01$. Al realizar los cálculos de intervalos de confianza se encontró que la diferencia fue significativa entre Las Arenitas y Altata y Las Arenitas y El Castillo, encontrándose que en este último lugar, se registró el promedio de coliformes totales más elevado (Figura 7).

Con relación a las coliformes fecales, en Las Arenitas se tuvieron los registros más elevados durante secas termomenguante y secas termocreciente¹, sin embargo, solo en este último se encontraron diferencias significativas entre los sitios estudiados, obteniéndose una $p=0.006$.

Al calcularse los intervalos de confianza, el resultado fue similar al observado para coliformes totales, ya que se encontró la diferencia entre las zonas de Las Arenitas y Altata y Las Arenitas y El Castillo, siendo la primera en ambos casos la que tiene los valores de coliformes más altos (Figura 8).

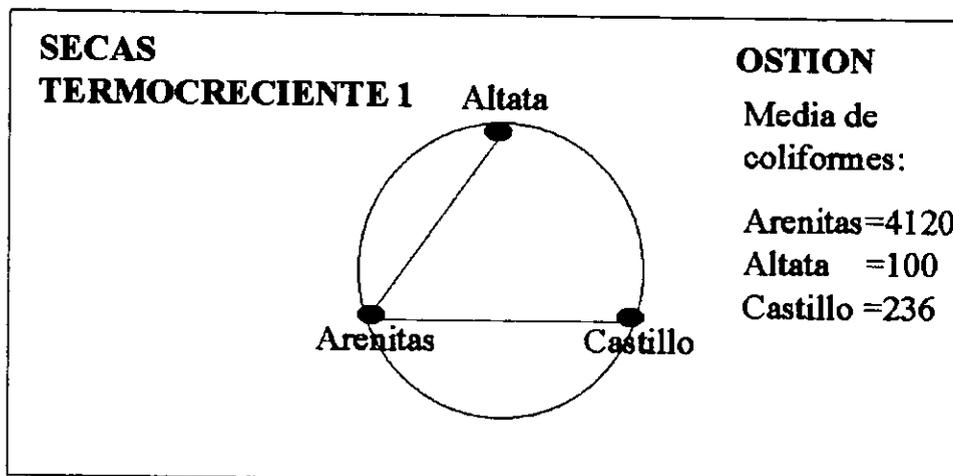
Lo anterior puede deberse a que a Las Arenitas llegan a través de las corrientes, agua de drenes agrícolas (Figura 12 en el Anexo), que pasan por asentamientos de jornaleros y los usan para depósito de aguas residuales y de basura, además aguas provenientes de la zona del poblado del El Dorado, desembocan cerca del área de estudio (Figura 13 en el Anexo).

Figura 7. Contrastes por medio de intervalos de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes totales en Ostión de Secas Termocreciente1



Nota: Los segmentos de recta que une a dos zonas indican que estas presentan diferencias ($p < 0.05$).

Figura 8. Contrastes por medio de limites de confianza entre zonas con diferencias significativas en los valores de coliformes fecales en ostión en Secas Termocreciente1.



Nota: Los segmentos de recta que une a dos zonas indican que estas presentan diferencias ($p < 0.05$).

7.2.5. Relación entre los valores de coliformes en agua y ostión.

Para establecer la relación entre los valores de las variables estudiadas, se obtuvieron las estructuras de correlaciones muestrales de las variables: coliformes totales en agua (ACT), coliformes fecales en agua (ACF), coliformes totales en ostión (OCT) y coliformes fecales en ostión (OCF), para cada uno de los tiempos en estudio.

En el Cuadro 6 se presenta la estructura de correlación, medida a través del coeficiente de correlación muestral de Pearson para todas las estaciones del año.

En este cuadro se puede observar que en lluvias'90 no existe alta correlación al realizar el análisis entre las medidas de las variables estudiadas; solamente se observó entre ACT y ACF con un coeficiente de correlación $r=0.6983$ con una $p=0.004$. Llama la atención el bajo valor obtenido de r obtenido de la correlación entre OCT y OCF, lo cual puede deberse a condiciones climáticas como temperaturas elevadas que provoca que bacterias de tipo ambiental como *Klebsiella*, predominen (Paille, 1987); este autor reporta ausencia de correlación al analizar coliformes totales y fecales en las lluvias.

Adicionalmente, otros parámetros fisicoquímicos pudieron haber influido en la fisiología del ostión (Vázquez, 1988).

Las comparaciones entre las variables durante secas termomenguante se pueden observar en el cuadro referido, encontrándose relación entre los valores de ACT y ACF, ($r=0.6638$), la cual fue estadísticamente significativa ($p=0.007$). También al comparar OCT y OCF se encontró correlación ($r=0.58$), con un valor de $p=0.02$.

Cuadro 6. Coeficiente de correlación de Pearson para coliformes

	ACF (n=15)	OCT (n=15)	OCF (n=15)
LLUVIAS 1990			
ACT	0.70**	-0.44	-0.28
ACF	-	-0.32	0.21
OCT	-	-	0.35
SECAS TM			
ACT	0.66**	-0.44	-0.01
ACF	-	0.05	0.14
OCT	-	-	0.58*
SECAS TC 1			
ACT	0.76**	0.76**	-0.86
ACF	-	0.65**	0.75**
OCT	-	-	0.95**
LLUVIAS 1991			
ACT	0.99**	0.90**	0.89**
ACF	-	0.90**	-0.89
OCT	-	-	0.98**
SECAS TC 2			
ACT	0.65**	0.29	-0.26
ACF	-	-0.26	-0.26
OCT	-	-	0.86**

A=Agua O=Ostión CT=Coliformes totales CF=Coliformes fecales
 TM=Termomenguante TC=Termocreciente *p>0.05 **p>0.001

Al analizar ACT con OCT y ACF con OCF no se observaron correlaciones. Las salinidades durante este periodo fueron las más bajas registradas (Cuadro 7); esto probablemente influyó en la capacidad concentradora del ostión (Vázquez;1988), por otro lado, también es posible que la lectura de coliformes del agua en el momento de hacer la medición, no corresponda a la del ostión, porque el valor registrado para este último se debe a la exposición prolongada del organismo en su hábitat (Bouchriti, 1992).

En secas termocreciente 1 se observaron comportamientos de r diferentes a los valores obtenidos en secas termomenguante, ya que los coeficientes de correlación fueron más altos en la primera estación señalada y al relacionar los valores de las variables ACT y ACF se obtuvo una $r=0.76$, con un nivel de significancia de $p=0.001$; asimismo, al comparar ACT con OCT se encontró un coeficiente de correlación de 0.76 ($p=0.001$); la correlación encontrada al relacionar los valores de ACT y OCF fue elevada, obteniéndose un valor de 0.87 con una $p=0.001$. Cuando las comparaciones se realizaron entre ACF y el resto de variables, el coeficiente de correlación encontrado fue moderadamente alto. Por otro lado, al contrastar OCT y OCF se encontró una correlación elevada ($r=0.96$) con un alto nivel de significancia ($p=0.001$).

En el Cuadro 6 también se muestran las cifras correspondientes a las comparaciones efectuadas entre las variables ACT, ACF, OCT y OCF durante el lluvias'91, observándose una relación elevada entre todas ellas.

Con respecto secas termocreciente 2, se encontró que al relacionar ACT y ACF se obtuvo una correlación de $r=0.64$, con un nivel de significancia de $p=0.009$. Para

el caso de la relación OCT y OCF, el coeficiente fue más elevado ($r=0.86$), resultando altamente significativo con una probabilidad de $p=0.001$ (Cuadro 6).

De manera general se pudo observar que se presentó una relación entre coliformes totales y fecales para todas las estaciones, tanto para agua como para ostión. Además de esto, se encontró un alto grado de relación entre agua y ostión durante secas termocreciente y lluvias'91. En secas termocreciente 1 no se presentaron precipitaciones pluviales, por lo que al existir condiciones menos cambiantes en el agua, ésta presentó niveles de coliformes similares a los obtenidos en las muestras de ostiones estudiadas. En lo que respecta a lluvias'91 la correlación obtenida, probablemente se debió a las condiciones fisiológicas del ostión; se sabe que posee una gran capacidad de filtrar durante las lluvias (Bouchriti, 1992). Por otro lado, fue una estación del año con baja precipitación pluvial (Comisión Nacional del Agua, 1996).

En lo que se refiere a las cifras negativas encontradas al correlacionar los valores en secas termocreciente 1 y lluvias'91, son erróneas y se debe probablemente a la prueba estadística aplicada a resultados de muestras con mucha variabilidad. Pudiera deberse también a aspectos fisiológicos del ostión.

La información proporcionada por las coliformes totales y fecales estudiadas aportó datos que permitieron valorar el problema de contaminación fecal en zonas dedicadas a pesquerías, lugares en donde previamente no se habían realizado estudios con tal fin. Es importante continuar con estas investigaciones con la finalidad de obtener mayor información, orientándolas al uso de indicadores

alternativos para detectar contaminación fecal, adicionalmente ampliarlas al estudio de agua del fondo y sedimento.

7.3. Parámetros Físicoquímicos

pH

En el Cuadro 7, se encuentran los valores promedio de este parámetro. En él se pueden observar niveles ligeramente alcalinos, lo cual es frecuente en áreas estuarinas (Odum, 1972). Los rangos en los que se registró esta variable, son adecuados para la sobrevivencia y la reproducción de las bacterias objeto de estudio, por tal motivo, al realizar las correlaciones con la presencia de coliformes no se encontró prácticamente ninguna asociación.

Salinidad

La media de los registros de este parámetro se presentan en el Cuadro 7, en donde se puede apreciar la gran variabilidad de los valores obtenidos en las diferentes estaciones del año; es necesario indicar que las mediciones en El Castillo y Las Arenitas no se pudieron efectuar, por daño en el equipo. De manera general se observa que los valores más altos se presentan en las estaciones cálidas, lo que era de esperarse debido al fenómeno de evaporación.

Para conocer el grado de asociación de este parámetro con las cifras de coliformes, se determinó el coeficiente de correlación, tal como ya se ha mencionado. Los resultados encontrados nos señalan que se presentaron asociaciones en el ostión ($r > 0.5$ y $p < 0.05$), entre salinidad y la presencia de coliformes durante secas termomenguante y termocreciente 1 y 2, lo cual pudo deberse a respuestas

Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos* en muestras de agua superficial

	ph	Temperatura	Salinidad	Oxígeno disuelto
ALTATA				
LLUVIAS 1990	7.7	35.2	19.9	4.9
SECAS TM	7.4	19.8	12.4	3.6
SECAS TC 1	7.5	28.4	15.7	4.9
LLUVIAS 1991	7.5	31.9	33.2	3.8
SECAS TC 2	7.3	26.8	19.4	5.3
EL CASTILLO				
LLUVIAS 1990	7.7	30.0	-	4.6
SECAS TM	7.8	20.0	12.3	4.8
SECAS TC 1	7.7	29.6	21.5	6.1
LLUVIAS 1991	7.7	27.4	22.1	5.8
SECAS TC 2	7.7	27.4	8.3	5.7
LAS ARENITAS				
LLUVIAS 1990	7.7	31.2	-	2.9
SECAS TM	7.5	20.1	12.4	5.9
SECAS TC 1	7.5	28.2	28.0	4.3
LLUVIAS 1991	7.3	31.4	33.4	4.6
SECAS TC 2	7.6	25.8	17.8	5.6

(*) = Unidades: Temperatura en °C; Salinidad: 0/00; Oxígeno disuelto: mg/l

TM=Termomenguante TC=Termocreciente

fisiológicas del organismo a las condiciones de salinidad, ya que su actividad óptima es cuando este parámetro tiene valores entre 23,000 y 28,000 ppm (Velázquez, 1988). En el agua, solo en secas termocreciente 1 se presentó una ligera correlación, lo que puede deberse al tipo de coliformes identificadas; se sabe de algunas bacterias que cuando los nutrientes se encuentran en bajas cantidades, se activa la capacidad de resistencia a diversas condiciones ambientales adversas (Grimes, 1986; Koga, 1995; Chai, 1986).

Temperatura

En el cuadro previamente señalado, se pueden observar las lecturas de este parámetro y se puede visualizar la variabilidad principalmente con relación a las estaciones del año, encontrándose los valores más altos en lluvias y los más bajos en secas termomenguante.

El rango de las lecturas de temperatura puede considerarse como adecuada para el desarrollo de las bacterias en estudio, ya que el valor mínimo registrado fue de 19.8 °C. Muñoz Escobedo (1995) reporta que diversas enterobacterias no presentaban diferencias en su crecimiento, cuando se ponían a crecer en agar nutritivo-agua de mar a una temperatura de 17 y 32 °C

Oxígeno disuelto

En el Cuadro 7 se puede ver que las medias de las lecturas de oxígeno disuelto, en agua de Altata, El Castillo y Las Arenitas es muy variable.

A pesar de esto, se puede apreciar que el rango de valores determinado, corresponde a cifras en que los coliformes pueden crecer de manera óptima.

Al efectuar las correlaciones entre las cifras de oxígeno disuelto y coliformes fecales se puede considerar que no se encontraron valores significativos.

De manera general se puede observar que los parámetros fisicoquímicos estudiados presentaron concentraciones en las que las bacterias, objeto de estudio, pueden sobrevivir y reproducirse, salvo el caso de algunas lecturas elevadas de salinidad.

7.3. Identificación Bacteriana

El tipo y frecuencia de las bacterias objeto de estudio es de gran importancia, específicamente en lo que se refiere a las que tienen un potencial patogénico para el humano.

7.3.1. Frecuencia de bacterias entéricas potencialmente patógenas en las estaciones del año

7.3.1.1. Presencia de bacterias en agua.

Las muestras de agua recolectadas en el mismo lugar de donde se obtuvieron los ostiones, contenían diferentes géneros de importancia médica, los cuales presentaron frecuencias diversas en las estaciones del año estudiadas (Cuadro 8).

En el caso de *Salmonella*, se puede apreciar que la frecuencia de aislamiento registrada en secas termocreciente 1 fue la más elevada, siendo 5 los aislamientos en 15 muestras (5/15). En secas termoenguate el número de muestras positivas también se presentó elevado (4/15); durante los dos periodos de lluvia estudiados, la frecuencia de *S. spp.* fue igual, detectándose en 2/15. En secas termocreciente 2 no hubo ningún aislamiento. Llama la atención la elevada frecuencia de esta bacteria durante secas termomenguante ya que las temperaturas son las más bajas, aunque

Cuadro 8

Aislamientos bacterianos en agua de los cinco sitios de
Altata, El Castillo y Las Arenitas, en los tiempos estudiados

	LLUVIAS 1990	SECAS T.M.	SECAS T.C.1	LLUVIAS 91	SECAS T.C.2	TOTAL
<i>Escherichia coli</i>	10	15	12	7	10	54
<i>Enterobacter spp</i>	9	12	9	5	5	40
<i>Pseudomonas spp</i>	8	4	3	9	8	32
<i>Cedecea spp</i>	2	11	2	9	5	29
<i>Klebsiella spp</i>	10	4	5	4	6	29
<i>Serratia spp</i>	5	3	4	6	5	23
<i>Vibrio parahaemolyticus spp</i>	5	7	1	3	0	16
<i>Citrobacter spp</i>	4	4	0	3	2	13
<i>Proteus spp</i>	4	4	3	2	0	13
<i>Salmonella spp</i>	2	4	5	2	0	13
<i>Hafnia spp</i>	7	3	0	2	0	12
<i>Kluyvera spp</i>	3	5	2	2	0	12
<i>Shigella spp</i>	0	0	1	0	0	1
TOTAL	69	76	47	54	41	287

TM=Termomenguante TC=Termocreciente

en esta entidad las lecturas de este parámetro son de moderadas a altas (Cuadro 19); las cifras obtenidas probablemente están asociadas con el período de tiempo en que llegan los jornaleros agrícolas ya mencionados previamente, además de las lluvias registradas en esa temporada.

La presencia de esta bacteria en ambientes marinos fue posible debido a la resistencia de ella a las condiciones ambientales. Martins *et al.* (1986), reportan el 30.6% de *Salmonella spp* en aguas residuales crudas, Jiménez *et al.* (1989), estudió la actividad bacteriana en ambientes acuáticos (no salinos) de *S. typhimurium* LT2, encontrando que después de 105 horas, la actividad era positiva. Muñoz Escobedo (1995), encontró que *S. typhimurium* incubada por 180 horas en agua de mar, permanecía virulenta, matando a un ratón de tres inoculados intraperitonealmente y a dos de tres infectados oralmente. Knight *et al.* (1990) reportaron presencia de *Salmonella spp.* en agua de estuarios del noroeste de Estados Unidos de Norteamérica, detectándolas por medio de cultivo, con una frecuencia de 6/16 muestras y por medio de la técnica de PCR (Polimerase chain reaction), la frecuencia fue de 12/16 muestras.

Shigella es una bacteria muy lábil a las condiciones ambientales como las que prevalecieron en este estudio (salinidad, substancias tóxicas, radiaciones etc.); por tal motivo, no se obtuvieron aislamientos, salvo en secas termocreciente 1 cuando se logró aislar una cepa. Durante la temporada referida, según datos de los Servicios Coordinados de Salud en Sinaloa, se reportaron casos de shigelosis en el municipio de Culiacán.

Escherichia coli, indicador de contaminación fecal y bacteria potencialmente patógena, estuvo presente en la mayoría de los aislamientos obtenidos durante el tiempo que duró el estudio; sin embargo, podemos observar la variabilidad en los registros positivos, en las diferentes estaciones del año. Durante secas termomenguante y secas termocreciente se obtuvieron las frecuencias más elevadas para esta bacteria, presentándose en 15/15 y en 12/15 respectivamente. Les siguieron en frecuencia, lluvias'90 y secas termocreciente 2 con 10 aislamientos en 15 muestras.

El halófilo *Vibrio parahaemolyticus*, al igual que *Salmonella spp.* y *E. coli*, presentó el mayor número de aislamientos en secas termomenguante, aislándose en 7 casos de las muestras recolectadas en el periodo señalado. Tanto en lluvias'90 como en lluvias'91, esta bacteria se presentó con una frecuencia considerable: 5/15 y 3/15 respectivamente. En secas termocreciente 1 fue relativamente bajo y nulo en secas termocreciente 2. La alta frecuencia observada en secas termomenguante tal vez esté relacionado con un alto registro de contaminación fecal; Watkins (1985) refiere la relación de este parámetro con la presencia de este vibrio.

El resto de las bacterias entéricas encontradas son de menor importancia médica, sin embargo, cada vez con mayor frecuencia se aíslan en procesos patológicos, tal es el caso de *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* (Linsay, 1997). La frecuencia de la primer bacteria referida, varió de 9/15 a 3/15 y para *Klebsiella spp.* fluctuó entre 10/15 y 4/15; como se puede observar, la incidencia de ambas bacterias es elevada.

Existe un tercer grupo de bacterias que fueron aisladas, a las cuales podemos considerar de menor importancia médica, ya que son pocos los casos que se asocian a procesos morbosos. De estas bacterias sobresale por la frecuencia en que fueron aisladas, *Enterobacter* spp. Estas bacterias estuvieron presentes durante todo el año, siendo secas termomenguante la estación en que los registros estuvieron más elevados (12/15). La bacteria referida ha sido aislada frecuentemente de muestras ambientales, principalmente de agua y suelos (Holt, 1994).

7.3.1.2. Bacterias en ostión.

La presencia de las bacterias objeto de estudio en el ostión, tuvo un comportamiento no homogéneo, además las frecuencias de aislamiento más elevadas generalmente se presentaron en lluvias, secas termocreciente 2 y/o secas termomenguante, a diferencia de las aguas, en las cuales se presentaron preferentemente en las primeras lluvias y en secas termomenguante; es conveniente mencionar que el ostión tiene una elevada capacidad de concentración durante las lluvias (Bouchriti, 1992), lo cual podría explicar los resultados obtenidos en ese periodo estacional; por otro lado, para el caso de la región estudiada, secas termocreciente 2 es cálida lo cual pudo haber influido en la capacidad concentradora del ostión. En el Cuadro 9 se presentan las diferentes bacterias identificadas en ostión durante las estaciones del año estudiadas.

Como puede apreciarse *Salmonella* spp. fueron detectadas en un número mayor de muestras recolectadas durante lluvias '90 (6/15); le siguió en frecuencia secas termomenguante y secas termocreciente 1 (3/15), finalmente durante lluvias'91 y secas termocreciente 2 se presentaron con una menor frecuencia, 1 aislamiento en

Cuadro 9

Aislamientos bacterianos en ostión de los cinco sitios de
Altata, El Castillo y Las Arenitas, en los tiempos estudiados

	LLUVIAS 1990	SECAS T.M.	SECAS T.C.1	LLUVIAS 91	SECAS T.C. 2	TOTAL
<i>Escherichia coli</i>	9	12	10	11	9	51
<i>Enterobacter spp</i>	8	7	4	9	9	37
<i>Klebsiella spp</i>	9	5	3	7	12	36
<i>Citrobacter spp</i>	8	9	6	4	4	31
<i>Cedecea spp</i>	3	4	5	8	2	22
<i>Vibrio parahaemolyticus spp</i>	4	5	1	3	9	22
<i>Serratia spp</i>	2	5	5	4	2	18
<i>Proteus spp</i>	2	2	5	5	4	18
<i>Pseudomonas spp</i>	5	1	2	2	4	14
<i>Salmonella spp</i>	6	3	3	1	1	14
<i>Kluyvera spp</i>	1	3	4	2	0	10
<i>Hafnia spp</i>	2	4	1	0	0	7
<i>Shigella spp</i>	0	0	0	0	0	0
TOTAL	59	60	49	56	56	280

TM=Termomenguante TC=Termocreciente

ambas estaciones. Tratándose de un alimento que se consume crudo, los valores obtenidos en ambas estaciones resultan de gran relevancia.

Wilson y Moore. (1996), reportan el 8% de aislamientos en ostiones recolectados en Irlanda. Leyva *et al.* (1989), encontraron en Cuba que el 3.9% de ostiones congelados contenían *Salmonella*. En la ciudad de México Nava *et al.* (1981), reportan presencia de *Salmonella* en ostiones recolectados del mercado de abastos, con una frecuencia de 3/200; Rosas *et al.* (1988), encontraron esta bacteria en 3 muestras de 31 recolectadas en un mercado de México, D.F. Es importante indicar que esta bacteria resulta afectada por el proceso de congelación (Smith, 1995), por lo que disminuye en el ostión, cuando es congelado para su almacenamiento, como es el caso de la investigación de Leyva *et al.* (1989).

Para el caso de *Shigella*, el número de aislamientos fue nulo, tal como era de esperarse, por lo ya mencionado en la sección anterior.

E. coli, indicador de contaminación fecal, estuvo presente en todas las estaciones del año, siendo secas termomenguante al igual que para las muestras de agua, la temporada con el registro más elevado (12/15). Las frecuencias más bajas se dieron en lluvias'90 y secas termocreciente 2 con 9/15.

La bacteria *V. parahaemolyticus* resultó aislada durante secas termocreciente 2 en un número elevado de ostiones (9/15), siguiendo en importancia por la frecuencia en aislamientos, secas termomenguante (5/15). Durante las dos lluvias también se logró identificar, aunque en una proporción menor, sin dejar de ser importantes los valores obtenidos: en lluvias'90 se observó en una frecuencia de 4/15 de los especímenes y en lluvia'91 con 3/15. En un estudio realizado por Villalpando

Guzmán (1999), encontraron una frecuencia de *V. parahaemolyticus* de 8%, lo que representa un valor menor a la detectada en este estudio, pudiendo deberse a que este ostión se colectó en un mercado de la Cd. de México y en ocasiones es sometido a congelación, lo cual afecta la viabilidad de la bacteria (Muntada-Garriga, 1995); pudiera ser también la competencia con el resto de bacterias presentes en este organismo.

Con relación a *Pseudomonas* la variabilidad fluctuó entre 5/15 en lluvias'90 y 1/15 en secas termomenguante. Llaman la atención los registros menores en todas las estaciones del año, cuando se comparan con los aislamientos en el agua. *Klebsiella* spp. estuvieron presentes durante todo el año, variando las frecuencias de aislamientos entre 12/15 en secas termocreciente 2 y 3/15 en secas termocreciente 1.

Enterobacter, con menor asociación a enfermedades del ser humano, sobresale de su grupo, por el número de ostiones que fueron positivos, presentando esta bacteria la mayor frecuencia en lluvias'91 y en secas termocreciente 2 (9/15).

7.3.2. Detección de bacterias entéricas potencialmente patógenas en diferentes lugares

La ubicación geográfica de las tres áreas de estudio, como ya se mencionó es diferente. Por tal motivo se consideró importante conocer la flora predominante de cada área para relacionarla con el riesgo de ingestión del ostión.

7.3.2.1. Aislamiento de bacterias en agua.

Las condiciones ambientales diversas permitieron que los diferentes grupos de bacterias fueran detectados en diferentes proporciones, ya que las condiciones adversas fueron diferentes para cada especie bacteriana.

Bacterias del género *Salmonella*, fueron aisladas con mayor frecuencia en muestras de agua provenientes de Las Arenitas; en el Cuadro 10 se puede observar que estas bacterias se presentaron en una relación de 6 aislamientos en 25 muestras, en cambio en las otras zonas, fueron marcadamente menores: en Altata se aisló en 4/15 y en El Castillo en 3/15. La presencia elevada de esta bacteria, no es de extrañar ya que también se observó alta contaminación fecal.

Shigella sp. fue aislada en una de las muestras de aguas recolectadas en El Castillo, el cual se encuentra localizado en la zona estuarina del río Culiacán. Esto resulta de gran interés ya que la cepa detectada sobrevivió a las condiciones ambientales que prevalecen en esa zona.

En el caso de *E. coli*, indicador con capacidad patogénica, fue aislada en las tres zonas estudiadas; sin embargo, las frecuencias más elevadas se registraron en Las Arenitas y Altata (20/25) (Cuadro 10).

La bacteria *V. parahaemolyticus*, se presentó con un índice mayor de detección en la zona de Las Arenitas, obteniéndose una frecuencia de 7/25. Lo anterior puede deberse a lo señalado respecto de contaminación fecal elevada y la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* (Walkins, 1985). En El Castillo también se obtuvieron valores altos (6/25), en cambio en Altata, se puede apreciar un valor bajo con relación a las dos zonas previamente mencionadas.

Cuadro 10

**Aislamientos bacterianos en agua de los cinco sitios de
Altata, El Castillo y Las Arenitas**

	Altata n=25	El Castillo n=25	Las Arenitas n=25	Total
<i>Escherichia coli</i>	20	14	20	54
<i>Enterobacter spp</i>	14	15	11	40
<i>Pseudomonas spp</i>	13	9	10	32
<i>Cedecea spp</i>	10	10	9	29
<i>Klebsiella spp</i>	8	13	8	29
<i>Serratia spp</i>	13	3	7	23
<i>Vibrio parahaemolyticus spp</i>	3	6	7	16
<i>Citrobacter spp</i>	5	7	1	13
<i>Proteus spp</i>	5	3	5	13
<i>Salmonella spp</i>	4	3	6	13
<i>Hafnia spp</i>	5	5	2	12
<i>Kluyvera spp</i>	3	2	7	12
<i>Shigella spp</i>	0	1	0	1
TOTAL	103	90	93	286

Las bacterias *Pseudomonas* y *Klebsiella*, se aislaron en las tres zonas. *Pseudomonas* se identificó en un número elevado de muestras recolectadas en Altata. *Klebsiella* spp. fueron identificadas con mayor frecuencia en El Castillo, con valores de 13/25; en Altata y Las Arenitas se obtuvieron frecuencias de 8/25 (Cuadro 10).

De las bacterias aisladas e identificadas en la presente investigación, tal como ya se ha referido, existe un grupo de menor importancia como agentes de enfermedad en el humano. Las frecuencias con que fueron detectados son variables, sin embargo, los valores más altos corresponden a *Enterobacter* spp., las cuales aparecieron más frecuentemente en El Castillo (15/25).

7.3.2.2. Bacterias entéricas en ostión.

La presencia de bacterias principalmente de patógenas en el ostión recolectado en las tres zonas estudiadas, resultó de interés ya que seguramente su ingestión representa un riesgo potencial. Los resultados que aquí se comentan podrán observarse en el Cuadro 11.

Salmonella se presentó con una mayor frecuencia en Las Arenitas, alcanzando un elevado valor (8/25), tal como se observó para agua. Le sigue en importancia Altata, zona de la que se recuperó *Salmonella* en 4/25 de los ostiones estudiados.

E. coli fue aislada un número mayor de veces en El Castillo, presentándose en 20/25 de los especímenes colectados. También en Las Arenitas la frecuencia de aislamientos fue alta, alcanzándose valores de 17/25, lo cual era de esperarse por los registros de coliformes fecales detectadas en esta zona. En el caso de Altata se obtuvieron los valores más bajos (14/25).

Cuadro 11

Aislamientos bacterianos en ostión de los cinco sitios de
Altata, El Castillo y Las Arenitas

	Altata n=25	El Castillo n=25	Las Arenitas n=25	Total
<i>Escherichia coli</i>	14	20	17	51
<i>Enterobacter spp</i>	13	9	15	37
<i>Klebsiella spp</i>	11	12	13	36
<i>Citrobacter spp</i>	12	9	10	31
<i>Cedecea spp</i>	7	9	6	22
<i>Vibrio parahaemolyticus spp</i>	5	5	12	22
<i>Proteus spp</i>	5	7	6	18
<i>Serratia spp</i>	12	3	3	18
<i>Pseudomonas spp</i>	6	3	5	14
<i>Salmonella spp</i>	4	2	8	14
<i>Kluyvera spp</i>	3	4	3	10
<i>Hafnia spp</i>	3	1	3	7
<i>Shigella spp</i>	0	0	0	0
TOTAL	95	84	101	280

TM=Termomenguante TC=Termocreciente

La bacteria marina *V. parahaemolyticus*, se detectó en los ostiones de las tres zonas estudiadas, aislándose en mayor proporción en la zona de Las Arenitas (12/25); la razón ya ha sido mencionada cuando se discutió la presencia de esta bacteria en agua (Sección 7.3.2.1.). En las otras zonas las frecuencias fueron menores, sin embargo, los valores obtenidos son de considerarse (5/20), recordando que el ostión se consume crudo.

En lo que respecta a la presencia de las bacterias *Pseudomonas* y *Klebsiella*, presentaron frecuencias diferentes. En *Klebsiella*, al igual que para agua, las cifras fueron más elevadas en las muestras obtenidas de Altata (6/25), en cambio para *Klebsiella* los valores más altos se registraron en Las Arenitas (13/25); aunque también El Castillo presentó registros altos (12/25).

Enterobacter registró elevadas frecuencias de aislamientos, principalmente en la zona de Las Arenitas, donde se presentó en 15 de las muestras de ostión estudiadas.

Para el caso particular del ostión, no siempre se observó coincidencia en las frecuencias bacterianas con las de agua, lo cual puede deberse, como ya se ha mencionado, a que el ostión requiere tiempo para alojar las bacterias que están en el agua de su hábitat; adicionalmente es posible que influyan las condiciones fisiológicas del ostión, ocasionadas por la etapa del ciclo biológico en que se encuentre o bien originadas por las condiciones ambientales prevalecientes, como salinidad y temperatura así como también la presencia de plaguicidas en las aguas estudiadas (Bouchriti, 1992; Vázquez, 1996; Ramírez-Cabanillas, 1993).

7.3.2.3. Presencia de *Salmonella* spp., *Shigella* spp., y/o *V. parahaemolyticus* en las áreas estudiadas.

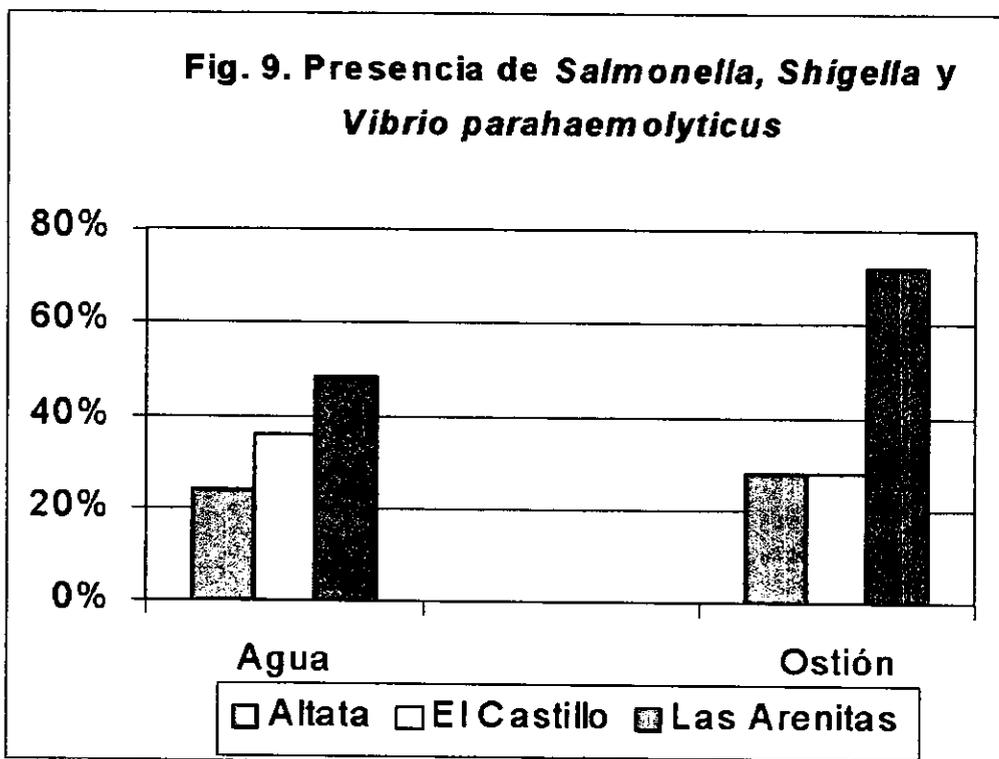
Con la intención de conocer la frecuencia con que cualquiera de las bacterias patógenas se presentaba en el agua y ostiones colectados, se cuantificaron los aislamientos de las bacterias con las características mencionadas, cuando al menos una bacteria de los géneros *Salmonella*, *Shigella* o *V. Parahaemolyticus*, estaba presente en los especímenes.

Los datos encontrados se pueden observar en el Cuadro 12; en él se aprecia que en el sitio de Las Arenitas se encontraron las frecuencias más elevadas: en agua las bacterias patógenas referidas se presentaron en 12/25 y en ostión en 18/25. En los sitios restantes las frecuencias obtenidas de ostiones positivos presentaron valores muy por debajo de los registrados en las Arenitas, siendo éstas de 7/25.

Cuadro 12. Presencia de *Salmonella*, *Shigella* y/o *Vibrio parahaemolyticus*

	Agua N=25	Ostión N=25
Altata	6(24.0)	7(28.0)
El Castillo	9(36.0)	7(28.0)
Las Arenitas	12(48.0)	18(72.0)
Total	27(36.0)	32(42.7)

* Número de Positivos (Porcentaje)



En agua la diferencia fue menos marcada (Figura 9). A pesar de las diferencias señaladas, las cifras en todos los casos resultan relevantes, por representar un riesgo para la salud.

7.4. Indicadores de Contaminación Fecal y Presencia de Bacterias Entéricas Patógenas

7.4.1. Agua y ostión con aislamientos positivos a *Salmonella*, relacionados con muestras insalubres.

Considerando los límites permisibles para coliformes fecales para que tanto agua como ostión sean sanitariamente aprobadas según la recomendación de el

Diario Oficial de la Federación (1995), se establecieron comparaciones entre los especímenes insalubres y en los que se aislaron bacterias del género *Salmonella*.

Los resultados encontrados nos indican comportamientos diferentes en lo que se refiere a ostión y agua en los tiempos estudiados. En el Cuadro 13, se aprecia que no en todas las muestras de agua en que se aisló *Salmonella*, resultaron aguas insalubres en términos de los coliformes fecales. Esto se observó particularmente en secas termocreciente 1, en la que hubo cinco aislamientos de *Salmonella*, de aguas sanitariamente aprobadas. Esto ya ha sido reportado por Wilson y Moore. (1996), así como también por Leyva *et al* (1989). En relación con el ostión se observó que en todos los especímenes en donde *Salmonella* fue detectada, estuvieron presentes las coliformes fecales.

Cuadro 13. Coliformes Fecales en Muestras Positivas a *Salmonella*

	Agua *	Ostión *
Lluvias'90	2 / 2	6 / 6
Secas TM	3 / 4	3 / 3
Secas TC1	0 / 5	3 / 3
Lluvias'91	0 / 2	1 / 1
Secas TC2	0 / 0	1 / 1

*Presencia de Coliformes Fecales / Muestras Positivas a *Salmonella*

Por otro lado, se encontró que en un 79% de las muestras de agua que contenían *Salmonella*, también se encontraba *E. coli*. Por lo anterior se puede señalar que esta bacteria resultó mejor indicador que las coliformes fecales para salmonelas en el agua, haciendo la aclaración que *E. coli* provenía de cualquiera de las técnicas utilizadas para aislamiento e identificación de Enterobacterias.

7.5. Detección de Enterovirus

7.5.1. Análisis Cualitativo

Como es sabido, los indicadores bacterianos no son útiles para señalarnos la presencia de virus, ya que estos últimos tienen patrones de resistencia a diversos factores fisicoquímicos, diferentes a las bacterias. Por tal motivo, resulta de gran importancia su detección de manera específica, sabiendo que son agentes de diversas enfermedades para el humano (Martins, 1986; Hazen, 1987).

De los especímenes recolectados, la presencia de enterovirus fue detectada en uno de los sitios estudiados: Altata. La estación del año en que estuvieron presentes fue en secas termocreciente 1, es decir, en tiempo de secas, lográndose detectar en dos de los cinco puntos analizados en esa zona: La Iguana y El Pintor. No existen datos en México para comparar estos resultados, sin embargo, en otras partes han realizado estudios, como los datos encontrados por Divizia *et al.* (1997) en la costa de Alejandría, Egipto, en donde encontró 3 muestras positivas de un total de 27. Estas cifras son similares a las encontradas en el presente estudio.

Seguramente la frecuencia de enterovirus es mayor, sin embargo, se requiere de técnicas de Biología Molecular, ya que al encontrarse en la región gran cantidad de plaguicidas, algunos llegan hasta el ecosistema marino y se hacen presentes en los ostiones (Ramírez Cabanillas, 1994), volviéndose altamente tóxicos para las líneas celulares.

7.5.2. Análisis Cuantitativo

El resultado encontrado en las muestras de agua analizadas y que fueron positivas a la presencia de enterovirus, fue muy diferente en los dos puntos en que se detectaron. En la Iguana se logró cuantificar un NMP=131 Unidades Formadoras de Placa/litro, cifra muy por debajo de la encontrada en el punto denominado El Pintor, en el cual se tuvo un registro del NMP=2992 Unidades Formadoras de Placa/litro, lo cual se considera como un valor elevado.

Se encontró que en el sitio La Iguana se cuantificaron un NMP=430 coliformes/100 g, lo cual se considera inadecuado para su consumo, en cambio en El Pintor en el cual los ostiones tuvieron un registro mayor de enterovirus eran sanitariamente aptos para su consumo (230 coliformes fecales/100 g), aunque estaban en los límites permisibles. Estos datos resultan de gran relevancia, ya que ponen de manifiesto, que el indicador de bacterias entéricas ampliamente utilizado, las coliformes, no resulta de utilidad para los enterovirus.

En las dos zonas restantes que fueron objeto de estudios, no se logró poner en evidencia la presencia de enterovirus.

La presencia de estos virus es indicativa de la posibilidad de encontrar otros virus entéricos, como los de la Hepatitis A y Virus Estructurados Pequeños, frecuentemente aislados de ostiones que han ocasionado brotes gastroentéricos (Townsend, 1995; World Health Organization, 1994; World Health Organization, 1995).

8. CONCLUSIONES

1. Las zonas estudiadas se encuentran en una área de amortiguamiento del drenaje terrestre, el cual no es sometido a ningún tipo de tratamiento y parte de los microorganismos que conduce, según datos del presente estudio, alcanzan a llegar a zonas de explotación pesquera importantes, contaminando aguas que albergan especies comestibles para el hombre.
2. Los ecosistemas acuáticos tienen capacidad de autodepuración para contaminantes bacterianos, sin embargo en las zonas de estudio se pudo apreciar que este ecosistema no logra eliminar a todos los microorganismos de origen humano y de animales que llegan a las zonas productoras. Esto condujo a la detección de contaminación fecal, bacterias patógenas como *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Shigella*, además de enterovirus. Lo anterior resulta particularmente riesgoso en algunos bivalvos como el ostión, organismo indicador de esta investigación, ya que frecuentemente se consumen sin cocción.
3. Los coliformes, indicadores de contaminación fecal empleados, no presentaron una relación con los virus detectados y en ocasiones, tampoco con los patógenos bacterianos estudiados.
4. La calidad microbiológica del agua influyó en la calidad del ostión estudiado, encontrándose que este organismo frecuentemente presentó la contaminación detectada en su hábitat.
5. Se observaron características muy cambiantes, propias de un ecosistema marino que se encuentra localizado cerca de una región estuarina. Los datos

obtenidos nos indican que existe una gran variabilidad bacteriana, la cual estuvo influenciada por drenes agrícolas, el río Culiacán y escurrimientos de las poblaciones costeras, quienes tienen diferencias en los niveles de contaminación microbiológica. Adicionalmente, también influyeron las condiciones climatológicas como la precipitación pluvial presente en algunas estaciones del año, favoreciendo probablemente, que los microorganismos sean arrastrados hacia los afluentes y éstos finalmente sean transportados hacia el mar o bien que lleguen directamente a través de los escurrimientos.

6. Las propiedades fisicoquímicas como las aquí estudiadas, están sujetas a cambios climatológicos, características del drenaje terrestre, mareas y corrientes marinas, entre otros factores. Estos cambios se tradujeron en variabilidad de los parámetros fisicoquímicos, sin embargo, los intervalos en que se presentaron estos valores, no afectaron el crecimiento o disminución de los microorganismos estudiados, a excepción de la salinidad.
7. Es urgente el tratamiento de las aguas residuales de los asentamientos humanos localizados en la orilla del mar, en las márgenes del río y de los drenes agrícolas, para lo cual se requiere de la participación gubernamental, de los propietarios de los campos agrícolas y de diferentes empresas que utilizan los cuerpos de agua mencionados, como depósito de las aguas de desecho. De manera complementaria se deberán promover campañas de educación para la salud a jornaleros agrícolas y población rural que vive en esta región.
8. Se requiere un programa de vigilancia de la calidad microbiológica en las zonas productivas. Además, llevar a cabo investigaciones, orientándolas al estudio de

los diferentes indicadores de contaminación fecal y a la búsqueda y caracterización de patógenos.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Abdul-Raouf UM, Beuchat LR, Zhao T, Ammar MS. Growth and verotoxin 1 production by *Escherichia coli* O157:H7 in ground roasted beef. *Int J Food Microbiol* 1994;23:79-88.
2. Abdus SS, Springthorpe VS, Alam AS. Rotavirus. En: Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO, eds. *Foodborne disease handbook*. New York: Marcel Dekker INC, 1994:81-111.
3. Academia Nacional de Medicina. Alimentación al seno materno y resistencia a las infecciones. *Bol Inform Clin-Terap* 1989;9(1):1-2.
4. Ahmed NM, Conner DE, Huffman DL. Heat-resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition. *J Food Sci* 1995;60(3):606-10.
5. Altekruse SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne diseases. *Emerging Infect Dis* 1997;3(3):1-12.
6. Allaby MA, Mayon-White R. *Escherichia coli* O157: Outbreak in a day nursery. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1995;5(1):R4-6.
7. Ando T, Jin Q, Gentsch JR, Monroe SS, Noel JS, Dowell SF, *et al.* Epidemiology application of novel molecular methods to detect and differentiate Small Round Structure Virus (Norwalk-like viruses). *J Med Virol* 1995;47(2):145-52.
8. Anónimo. *Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins*. Washington: US Food and Drug Administration, 1992:1-8.

9. Appleton H. Norwalk virus and the small round viruses causing foodborne gastroenteritis. En Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO, eds. Foodborne disease handbook. New York: Marcel Dekker INC, 1994:57-79.
10. Archer D. The true impact of foodborne infection. Food Technol 1988;Julio:53-8.
11. Baldwin TJ, Knutton S, Sellers L, Manjarrez-Hernandez HA, Aitken A, et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* strains secrete a heat-labile toxin antigenically related to *E. coli* hemolysin. Infect Immun 1992;60(5):2092-5.
12. Barnes DR. Zoología de los invertebrados. 3a ed. México: Interamericana, 1984:414-57.
13. Barnes GL, Uren E, Stevens KB, Bishop RF. Etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. J Clin Microbiol 1998;36(1);36(1):133-8.
14. Bartlett AV, Hurtado E, Schroeder DG, Méndez H. Association of indicator of hygiene behavior with persistent diarrhea of young children. Acta Pediatr 1992;381:Suppl 66-71.
15. Baumgartner DJ. Surface water pollution. En Pepper IL. Gerba Ch P, Brusseau ML eds. Pollution Science. San Diego, Cal: Acad Press, 1996:90-4.
16. Becker S, Black RE, Brown KH. Relative effects of diarrhea, fever, and dietary energy intake on weight gain in rural Bangladeshi children. Am J Clin Nutr 1991;53:1499-1503.
17. Bentey ME, Stallings RY, Fukumoto M. Maternal feeding behavior and child acceptance of food during diarrhea, convalescence, and health in the Central

- Sierra of Peru. En: Northrup, ed. Actualización sobre diarrea. PRITECH tecnologías para atención primaria en salud. 1991;7(3):1-3.
18. Black RE, López RG, Brown KH, Bravo N, Grados BO, Creed KH. Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Peru. *Am J Epidemiol* 1989;129(4):785-99.
 19. Blanco JE, Blanco M, Blanco J. Enterotoxigenic, verotoxigenic, and necrotoxigenic *Escherichia coli* in food and clinical samples. Role of animal as reservoirs of strains pathogenic for humans. *Microbiol* 1995;11(1):97-110.
 20. Bocanegra FA, Mercado PE, Saldaña W. *Vibrio parahaemolyticus*: presencia en ambientes marinos y mixohalinos de la provincia de Trujillo, Perú. *Rev Lat-Amer Microbiol* 1981;23:134-40.
 21. Bouchriti NE, Marrackchi A, Fahim A, Goyal SM. A bacterial survey of an oyster-growing area: the Oualidia Lagoon, Morocco. *World J Microbiol Biotechnol* 1992;8:546-9.
 22. Brackett RE, Hao YY, Doyle MP. Ineffectiveness of hot acid sprays to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on beef. *J Food Prot* 1994;57(3):198-203.
 23. Bradley SG. Cellular and molecular mechanism of action of bacterial endotoxins. *Ann Rev Microbiol* 1979;39:67-94.
 24. Bravo Fariñas LB, Monte Boada RJ, Gómez Blanco M, Pimentel Turiño T, Dumas Valdivieso S. Identificación de especies de microorganismos del género *Vibrio*. *Rev Cubana Med Trop* 1991;43(2):107-10.

25. Brown DA, Gossett RW, Hershelman GP, Ward ChF, Westcott AM, Cross JN. Municipal waste water contamination in the Southern California Bight: Part I - Metal and organic contaminants in sediments and organisms. *Marin Environ Res* 1986;18:291-310.
26. Brunton JL. The Shiga toxin family: molecular nature and possible role in disease. En: Sokatch JR, Ornston LN eds. *The bacteria. A treatise on structure and function*. San Diego: Acad Press, 1990;(11):377-98.
27. Buchanan RL, Doyle MP. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technol* 1997;51(10):69-76.
28. Bustamante CME, Alvarez y Muñoz MT. Prevención de la Hepatitis A. En Escobar GA, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ. *Vacunas ciencia y salud*. México: Secretaría de Salud, 1992:381-7.
29. Candil RA, Uribe BM, Díaz SP, De León R, Naranjo J, Gerba CP. Calidad microbiológica del agua de la zona centro de Sinaloa. VII Congreso Nacional La Ingeniería Ambiental y la Salud. Oaxaca: Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 1990.
30. Cerqueira AMF, Tibana A, Gomes TAT, Guth BEC. Search for LT-II and STb DNA sequences among *Escherichia coli* isolated from bovine meat products by colony hybridization. *J Food Protection* 1994;57(8):734-6.
31. Cliver DO. Epidemiology of foodborne viruses. En Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO, eds. *Foodborne disease handbook*. New York: Marcel Dekker INC, 1994:159-175.

32. Cliver DO. Other foodborne viral disease. En Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO, eds. Foodborne disease handbook. New York: Marcel Dekker INC, 1994:137-143.
33. Cobeljic M, Mel D, Arsic B, Krstic LJ. The association of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* and other enteric pathogens with childhood diarrhoea in Yugoslavia. *Epidem Inf* 1989;103:53-62.
34. Collazo CM, Galán JE. Requirement for exported proteins in secretion through the invasion-associated Type III system of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1996;64(9):3524-31.
35. Cravioto A. Prospectos para la elaboración de una vacuna antiadhesiva contra cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea en humanos. (Segunda parte). *Bol Med Hosp Infant Mex* 1984;41(4):188-96.
36. Cravioto A, Eslava CC. Vacunas contra *Escherichia coli* causante de diarrea en humanos. En: Escobar AJ, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ. Vacunas ciencia y salud. México: Secretaría de Salud, 1992:493-501.
37. Cravioto A, Ortega R, Rodríguez P, Reyes RE, López D, Fernández D. Estudio longitudinal de colonización intestinal en una cohorte de niños rurales mexicanos. I. Diseño del estudio y hallazgos iniciales durante el periodo neonatal. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1985;42(5):287-96.
38. Cravioto A, Reyes RE, Ortega R, Fernández G, Fernández R, López D. Incidencia y etiología de la diarrea aguda durante los primeros dos años de vida de una cohorte de niños rurales. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1987;44(6):316-21.

39. Cravioto A, Tello A, Navarro A, Ruiz J, Villafán H, Uribe F, et al. Association of *Escherichia coli* Hep-2 adherence patterns with type and duration of diarrhoea. *Lancet* 1991;337:262-4.
40. Cravioto A, Vázquez V, Soria A, Navarro A, Ortiz M. Producción de citotoxinas tipo Shiga (SLT)1 en cepas de *Escherichia coli* aisladas en niños con diarrea en una comunidad rural. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1988;45(4):206-9.
41. Cromeans T, Nainan OV, Fields HA, Favorov MO, Margolis HS. Hepatitis A and Hepatitis E. En Hui YH, Gorham JR, Murrell KD, Cliver DO, eds. *Foodborne disease handbook*. New York:Marcel Dekker INC,1994:1-53.
42. Cruz JM, Cano F, Cáceres P, Chew F. Etiología de diarrea aguda en infantes de áreas marginales de Guatemala. Guatemala: Memorias del 3er Congreso Nacional de Microbiología, 2-6 diciembre de 1986.
43. Cruz SE, Ricque MD, Mendoza R. Evaluación de dos productos de camarón en forma de harina como fuente proteica en dietas balanceadas para *Penaeus vannamei*. Memorias del 1er Simposio Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. México:1997;12.
44. Chai TJ, Pace J. *Vibrio parahaemolyticus*. En Hui YH, Gorham JR, Murell KD, Cliver DO, eds. *Foodborne disease handbook*. New York:Marcel Dekker INC,1994:395-425.
45. Chalmer JW, McMillan JH. An outbreak of viral gastroenteritis associated with adequately prepared oysters. *Epidemiol Infect* 1995;115(1):163-7.

46. Cheftel E, Spiegel A, Bonnet E, Morell E, Michel A, Buisson Y. Toxic alimentary *Shigella flexneri* in a fire fighting unit. Cahiers Santé. John Libbey Eurotext 1997;5:1.
47. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS. Tratado de microbiología. 3a. ed Barcelona: Salvat Edit, 1985.
48. De León R, Gerba CP, Rose JB. Manual de vigilancia de virus entéricos en el agua. Tucson:Universidad de Arizona,1988:2-8.
49. Delazari Camargo R, Leitao MF. *Chlostridium botullinum* in seafood-food from the Coast of Sao Paolo State. II. Occurrence in oysters (*Crassostrea brasiliiana*) in shrimps (*Xiphopenaeus kroyeri*) and effects of bacteriological methodology. Celatanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos 1982;2:179-90.
50. Diario Oficial de la Nación. Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. 6 de marzo de 1995:4-24.
51. Díaz CS, Uribe M, Zazueta M, Baylilis S, Ponce E, Osuna I. Epidemiología de parasitosis intestinales y enterobacterias en población rural y urbana de Sinaloa, Mex. XXIII Congreso Nacional de Microbiología. Acapulco:Asociación Mexicana de Microbiología A. C., Servicios Estatales de Salud en el Estado de Guerrero, 1992: M-92.
52. Divizia M, RuscioV, Donia D, Ghazzawi E, Elcherbini E, Gabrieli R, *et al.* Microbiological quality of coastal seawater of Alexandria, Egypt. Ann Ig 1997;9(4):289-94.

53. Durepaire N, Ranger-Rogez S, Gandji JA, Weinbreck P, Rogez JP, Denis F. Enteric prevalence of Adenovirus in human immunodeficiency virus seropositive patients. *J Med Virol* 1995;45(1):56-60.
54. El Congreso de los Estados Unidos Mexicanos. Ley Federal de protección al ambiente 1982;26:195-206.
55. Erickson JP, Stamer JW, Hayes M, Mckenna DN, van Alstine LA. An assessment of *Escherichia coli* O157:H7 contamination risks in commercial mayonnaise from pasteurized eggs and environmental sources, and behavior in low-pH dressings. *J Food Prot* 1995;58(10):1059-64.
56. Eslava C, Navarro-García F, Czczulin JR, Henderson IR, Cravioto A, Nataro JP. Pet, an autotransporter enterotoxin from Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1998;66(7):3155-3163.
57. Estrada AJA. Estrategias de acción urbano regionales para el desarrollo sustentable de la bahía Ensenada del Pabellón: El caso de El Castillo. [Tesis Maestría]. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa.
58. Espejo R. Vacunas para Rotavirus. En Escobar GA, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ. Vacunas ciencia y salud. México: Secretaría de Salud, 1992:389-394.
59. Espinoza F, Paniagua M, Hallander H, Hedlund KO, Svensson L. Prevalence and characteristics of severe rotavirus infections in Nicaraguan children. *Ann Trop Paediatr* 1997;17(1):25-32.
60. Evans MR, Parry SM, Ribeiro CD. *Salmonella* outbreak from microwave cooked food. *Epidemiol Infect* 1995;115(2):227-30.

61. Farmer III JJ. *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. En Murray PT ed. Manual of Clinical Microbiology. 6a. Ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1995:438-449.
62. Fatih ZE, Samani E, Willeth WC, Ware JH. Association of malnutrition and diarrhea in children aged under five years. Am J Epidemiol 1988;128(1):93-105.
63. Fernández ED, Torres VMR. Contaminación de ceviche de pescado por *Salmonella* en Guadalajara, Jalisco, México. Bol Of Sanit Panam 1996;120(3):198-203.
64. Fernández EE, Costarrica GML, Parrilla CC. Técnicas para el muestreo y análisis microbiológico de los alimentos. México D. F.: Secretaría de Salubridad y Asistencia, Dirección General de Investigación en Salud Pública, 1979.
65. Fernández HZK, Carpintero RJL, Belenguer JP, Verde LC, García L. A study of 2 food poisoning outbreaks in Mora (Toledo) with the same source of infection. Rev Sanid Hig Publica 1994;68(5-6):589-95.
66. Fernández Rendón E, Nava Fernández L, Mota de la Garza L. Ausencia de *Vibrio parahaemolyticus*: en pescado crudo. Rev Lat-Amer Microbiol 1988;30:91-6.
67. Finegold SM, Martin WJ, eds. Bailey-Scott Diagnóstico Microbiológico. 6a. Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1983.

68. Finlay BB, Ruschkowski, Kenny B, Stein M, Reinscheid DJ, Stein MA, et al. Enteropathogenic *E. coli* exploitation of host epithelial cells. New York: Ann NY Acad Sci 1996:26-31.
69. Flores-Abuxapqui, Suárez-Hoil GJ, Puc-Franco MA, Heredia-Navarrete MR. *Escherichia coli* enterotoxigénica asociada a diarrea aguda en niños. Rev Mex Pediatr 1994;61(2):68-72.
70. Frías-Espiricueta MG, Osuna-López JI, Páez-Osuna F. Bioacumulación de plomo en relación al ciclo reproductivo de la ostra *Crassostrea iridescens*. Ciencias del Mar 1994;13:1-4.
71. Gatti MSV, Ricci LC, Serafim MB, Pestana de Cadastro AF. Incidência de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), Rotavírus E, *Clostridium perfringens* de casos de diarréia em crianças, na Região de Campinas, SP, Brasil. Bol Of Sanit Panam 1988;104(1):51-62.
72. Gordon J, Smal PL. Acid resistance in enteric bacteria. Infect Immun 1993;61(1):364-7.
73. Goren A, Freier S, Passwell JH. Lethal toxic encephalopathy due to childhood shigellosis in a developed country. Pediatrics 1992;89(6):1189-92.
74. Grabow WOK, DeVilliers JC, Schildaver CI. Comparison of selected methods for the enumeration of fecal coliforms in *Escherichia coli* in shellfish. Appl Environ Microbiol 1992;58(9):3203-4.
75. Griffin PM, Ryan CA, Nyaphisi M, Hargrett-Bean M, Widman RJ, Blacke PA. Risk factor for fatal diarrhea. A case-control study of African children. Am J Epidemiol 1988;128(6):1322-9.

76. Grimes DJ, Atwell RW, Brayton PR, Palmer LM, Rollins DM, Rozak DB, et al. The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments. *Microbiol Sci* 1986;3(11):324-9.
77. Grimes DJ, Colwell RR. Viability and virulence of *Escherichia coli* suspended by membrane chamber in semitropical ocean water. *FEMS Microb Lett* 1986;34:161-5.
78. Groisman EA, Fields PI, Heffron F. Molecular biology of *Salmonella* pathogenics. En, Sokatch JR, Ornston LN eds. *The bacteria. A treatise on structure and function*. San Diego: Acad Press, 1990;(11):251-72.
79. Gutteridge W, Haworth EA. An outbreak of gastrointestinal illness associated with contamination of the main supply by river water. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1994;4(4):50-1.
80. Gyles CL. *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Can J Microbiol* 1992;38:734-46.
81. Hannessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wisk JM, Moen ME, et al. A national outbreak of *Salmonella enteritidis* infection from ice cream. *N Engl J Med* 1996;334(20):1281-86.
82. Heernard M, Chávez A, Burgez H. Valores nutritivos de los alimentos mexicanos. 9a ed. México: Dir Gral Nutr. Inst Nal Salud, 1983:325.
83. Hitchins AD, Hartman PA, Todd CD. Coliforms-*Escherichia coli* and its toxins. En Vanderzant C, Splittstoesser DF eds. *Compendium of methods for the microbiological examination of food*. 2a. Ed. Washington:Am Publ Health Assoc 1992:371-422.

84. Hlady WG, Klontz KC. The epidemiology of *Vibrio* infection in Florida, 1981-1983. *J Infect Dis* 1996;173(5):1176-83.
85. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Stanley JT. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994:175-289.
86. Horsi CM, Rolin DP, Gomes SA, Gilio AE, Stewien KE, Baldacci ER, et al. Adenovirus genome types isolated from stools of children with gastroenteritis in Sao Paulo, Brazil. *J Med Virol* 1995;45(2):127-34.
87. Horwitz KM. El rumbo de la nutrición en el mundo. *Cuad Nutr* 1989;12(2):3-11.
88. Iglesias JF, Hernández A, Montás M, Guzmán RW, Lantigua MH, Terrero C. Etiología bacteriana de la diarrea aguda. *Arch Dominic Ped* 1981;17(2):125-33.
89. Iida T, Suthienkul O, Park KS, Tang GQ, Yamamoto RK, Ishibashi M, Yamamoto K, Honda T. Evidence for genetic linkage between the ure and trh genes in *Vibrio parahaemolyticus*. *J Med Microbiol* 1997;46(8):639-45.
90. INEGI, SSA/DGI, 1998. Estadísticas Vitales: Mortalidad. [http://cenids.ssa.gob.mx/DGEI/vital95/vital/cuadro 3 y 4](http://cenids.ssa.gob.mx/DGEI/vital95/vital/cuadro%203%20y%204).
91. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. México:1995:267-8.
92. Isibasi AA, Paniagua J, González BCR, García JA, Kumate RJ. Vacunación contra la fiebre tifoidea. En Escobar G, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ, eds. *Vacuna, ciencia y salud*. México: Secretaría de Salud. Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo, 1992:317-25.

93. Islam MS, Hasan MK, Khan SI. Growth and survival of *Shigella flexneri* in common Bangladeshi food under various conditions of time and temperature. *Appl Environ Microbiol* 1993;59(2):652-4.
94. Jaykus LA, De Leon R, Sobsey MD. A virion concentration methods for detection of human enteric viruses in oyster by PCR and oligoprobe hybridization. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(6):2074-80.
95. Jinneman KC, Trost PA, Hill WE, Weagant SD, Bryant JL, Kaysner CA, Wekell ME. Comparison of template preparation methods from foods for amplification of *Escherichia coli* O157 Shiga-like toxins Type I and II DNA by multiplex polimerase chain reaction. *J Food Protection* 1995;58(7):722-6.
96. Jones BD, Talkow S. Identification and characterization of *Salmonella typhimurium* oxigen regulated gene required for bacterial internalization. *Infect Immun* 1994;62(9):3745-52.
97. Kaisner CA, Abeyta C Jr, Trost PA, Wetherington JH, Jinneman KC, Hill WE *et al.* Urea hydrolysis can predict the potencial pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in the Pacific Northwest. *Appl Environ Microbiol* 1994;60(8):3020-2.
98. Karch H, Heesemann J, Laufs R. Phage-associated cytotoxin production by and enteroadhesiveness of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from infants with diarrhea in West Germany. *J Infect Dis* 1987;153(4):707-15.
99. Kaynser ChA, Abeyta C Jr, Wekell MM, De Paola A Jr, Stott RF, Leitch JM. Incidence of *Vibrio cholerae* from estuaries of the United States West Coast. *Appl Environ Microbiol* 1987;53(6):1344-8.

100. Killalea D, Ward LR, Roberts D, de Louvois J, Sufi F, Stuart JM, et al. International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella agona* infection from a ready to eat savoury snack. 1. England and Wales, and the United States. *Br Med J* 1996;313(7065):1105-7.
101. Kleanthous H, Smith HR, Scotland SM, Gross RJ, Taylor CM. Haemolytic uraemic syndromes in the British Isles 1985-8: association with Verocytotoxin producing *Escherichia coli*. Part 2: microbiological aspects. *Arch Dis Child* 1990;65:722-7.
102. Knight IT, Schultz S, Kaspar CW, Colwell RR. Direct detection of *Salmonella* spp. in estuaries by using a DNA probe. *Appl Environ Microbiol* 1990;56(4):1059-66.
103. Knutton S, Shaw RK, Bhan MK, Smith HR, McConnell M, et al. Ability of enteroaggregative *Escherichia coli* strains to adhere in vitro to human intestinal mucosa. *Infect Immun* 1992;60(5):2083-91.
104. Koga T, Takumi K. Nutrient starvation induces cross protection against heat, osmotic, or H₂O₂ challenge in *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol Immunol* 1995;39(3):213-5.
105. Leyva CV, Valdés AE, Cisneros DE, Rivero LL. Caracterización bioquímica de cepas de coliformes fecales aisladas de alimentos. *Rev. Cubana Aliment Nutr* 1991;5(2):118-21.
106. Leyva CV, Vallejo V, Valdés AE, Rodríguez MC, Pérez V, Arocha OC. Estudio microbiológico de ostión congelado. *Rev Cubana Aliment Nutr* 1989;3(1):115-20.

107. Licona-Moreno D, Méndez-Sánchez JL. Contaminación bacteriana del estuario del río Tuxpan, Veracruz, Méx [tesis Licenciatura]. Veracruz, Ver: Universidad Veracruzana, 1995.
108. Lindsay JA. Chronic sequelae of foodborne disease. *Emerging Infect Dis* 1997;3(4):1-12.
109. Lizárraga AP. Nombres y piedras de Sinaloa. Petroglifos hechos a escala. No. 2. Gobierno del Estado de Sinaloa. Secretaría de Desarrollo Económico. 1980.
110. Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México D. F.: Editorial Médica Panamericana, 1993.
111. Magalhaes M, Malgahes V, Antas MG, Tateno S. Isolation of urease-positive *Vibrio parahaemolyticus* from diarrheal patients in Northeast Brasil. *Rev Inst Med Sao Paulo* 1991;33(4):263-5.
112. Magalhaes M, Takeda Y, Magalhaes V, Tateno S. Brazilian urease-positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* carry genetic potencial to produce the TDH-related hemolysin. *Mem. Ins. Oswaldo Cruz* 1992;197-168:167-168.
113. Malik P, Shama VD, Chandra R. Cytotoxigenicity in *Salmonella* serovars. *Indian J Exp Biol* 1995;33(3):177-81.
114. Manjarrez-Hernandez HA, Baldwin TJ, Aitken A, Knutton S, Williams PH. Intestinal epithelial cell protein phosphorylation in enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhoea. *Lancet* 1992;339:521-3.
115. Marascuilo AL, Mc Sweeney M. Non parametric and distribution-free methods for the social sciences. Monterey: Books/case Publishing, 1977.

116. Mattila L, Siitonen A, Kyronseppa H, Simula I, Oksanen P, Stenkiv M, et al. Seasonal variation in etiology of travelers' diarrhea. *J Infect Dis* 1992;165:385-88.
117. McDonald RJ, Wall PG, Adak GK, Evans HS, Cowden JM, Caul EO. Outbreak of infectious intestinal disease associated with person to person spread in hotels and restaurants. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1995;5(10):150-2.
118. McLaughlin JC. *Vibrio*. En Murray PT ed. *Manual of Clinical Microbiology*. 6a. Ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1995:465-476.
119. Mead PS, Finelli L, Lambert-Fair MA, Champ D, Tournes J, Hut-Wagner L, et al. Risk factors for sporadic infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Arch Intern Med* 1997;157(2):204-8.
120. Meccas J, Strauss EJ. Molecular mechanisms of bacterial virulence: Type III secretion and pathogenicity islands. *Synopses. Emerging Infect Dis* 1996;2(4):1-21.
121. Meng J, Doyle MP, Zhao T, Zhao S. Detection and control of *Escherichia coli* O157:H7 in foods. *Trends Food Sci Technol* 1994;5:179-84.
122. Miescier JJ, Hunt DA, Redman J, Saliger A, Lucas JP. Molluscan shellfish: oyster, mussels, and clams. En Vanderzant C, Splittstoesser DF eds. *Compendium of methods for the microbiological examination of food*. 2a. Ed. Washington: Am Publ Health Assoc 1992:371-422.
123. Mikhail MM, Mansour MM, Oyofa BA, Malone JD. Immune response to *Shigella sonnei* in US Marines. *Infect Immun* 1996;64(9):3942-5.

124. Milon A. Mécanismes moléculaires de pathogénicité des *Escherichia coli* inducteurs de diarrhées chez l'homme et l'animal. *Revue Néd Vét* 1993;144(11):857-878.
125. Mondal SK, Gupta PG, Gupta DN, Ghosh S, Sikder, SN, Rajendran K, *et al.* Occurrence of diarrhoea diseases in relation to infant feeding practices in a rural community in West Bengal, India. *Acta Paediatr* 1996;85(10):1159-62.
126. Mota-Hernández F. Enemigo solapado a vencer en tiempos de cólera. *Rev Fac Med UNAM* 1992;35(4):188-95.
127. Motes ML Jr, Peller JT. Field evaluation of the MUG assay for enumerating *Escherichia coli* in seawater in oysters from Southeastern United States. *J Food Protection* 1991;54:246-8.
128. Mourier J, Baharani FK, Sansonetti PJ. Secretions of *Shigella flexneri* Ipa on contact with epithelial cell subsequent entry of the bacterium into cell are growth stage dependent. *Infect Immun* 1997;65(2):774-82.
129. Moyenuddin M, Wachsmuth IK, Moseley SL, Bopp CA, Blake PA. Serotype, antimicrobial resistance, and adherence properties of *Escherichia coli* strains associated with outbreaks of diarrheal illness in children in the United States. *J Clin Microbiol* 1989;27(10):2234-9.
130. Mpabalwani M, Oshitani H, Kasolo F, Mizuta K, Luo M, Matsubayashi N, *et al.* Rotavirus gastro-enteritis in hospitalized children with acute diarrhoea in Zambia. *Ann Trop Paediatr* 1995;15(1):39-43.
131. Muntada-Garriga JM, Rodríguez-Jerez JJ, López Sabater EI, Mora-Ventura MT. Effect of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio*

- parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. Lett appl Microbiol 1995;20(4):225-7.
132. Muñoz HO, Solórzano SF. Vacunación contra la shigelosis. En Escobar G, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ, eds. Vacuna, ciencia y salud. México: Secretaría de Salud. Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo, 1992:317-25.
 133. Muñoz-Escobedo JL. Investigación de enterobacterias de origen humano en aguas marinas [tesis Maestría]. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.
 134. Murphy AM, Grohmann GS. Epidemiological studies on oyster-associated gastroenteritis. Food Technol in Australia 1980; 32:86-8.
 135. Naciones Unidas. Agua y sanidad. México: Bol Mensual Centro Naciones Unidas;1996(7):7.
 136. Naciones Unidas. Las megaciudades del siglo XXI. Bol Mensual Centro Inform Naciones Unidas, 1996;7:6.
 137. Nagayama K, Yamamoto K, Mitawani T, Honda T. Characterisation of haemolysin related to Vp-TDH produced by a Kanagawa phenomenon-negative clinic isolate of *Vibrio parahaemolyticus*. J Med Microbiol 1995;42(2):83-90.
 138. Nataro J, Steiner T, Guerrant T. Enteroaggregative *Escherichia coli*. Emerging Infect Dis. Consultado en <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/nataro.htm>. Consultado en 13/VI/98.

139. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998;11(1):142-201.
140. Nataro JP, Seriwatana J, Fasano A, Maneval DR, Guers LD, Noriega F, et al. Identification and cloning of a novel plasmid-encoded enterotoxin of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* strain. Infect Immun 1995;63(12):4721-8.
141. Nava-Fernández LM, Parrilla CMC, Salcedo CN. Aislamiento de *Vibrio parahemolyticus*. Salud Publica 1984;23(3):275-9.
142. Navarro-García F, Eslava C, Villaseca JM, López-Revilla R, Czeczulin JR, Srinivas S, et al. In vitro effects of high-molecular-weight heat-labile enterotoxin from Enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect Immun 1998;66(7):3149-3154.
143. Neri R. La contaminación y sus repercusiones en la salud. Salud Publica 1978;20(3):287-95.
144. Odum EP. Ecología. 3a ed. México: Interamericana, 1972;388-400.
145. Oelshlaeger TA, Morschhäuser J, Meier C, Schipper C, Hacker J. Adhesion and invasion of *Escherichia coli*. Studies on function and regulation. Kahane O, ed. Toward anti-adhesion therapy for microbial diseases. Nueva York: Plenum Press, 1996:57-62.
146. Okuda J, Ishibashi M, Hayakawa E, Nishino T, Takeda Y, Mukhopadhyay AK, et al. Emergence of a unique O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan. J Clin Microbiol 1997;35(12):3150-5.

147. Osuna-López JI, Cervantes A, Zazueta H, Roiz R, Ibarria J. Efectos letales de aguas residuales urbanas sobre organismos acuáticos del Estero del Infiernillo, Mazatlán, Sin. Ciencias del Mar 1994;13:5-10.
148. Páez-Osuna F, Tron-Mayen L. Distribution of heavy metals in tissues of the shrimp *Panaeus californiensis* from the Northwest Coast of Mexico. Bull Environ Contam Toxicol 1995;55:209-15.
149. Paille D, Hackney C, Reily L, Cole M, Keilgen M. Seasonal variation in the fecal coliform population of Louisiana oysters and its relationship to microbiological quality. J Food Protection 1987;50(7):545-9.
150. Palumbo SA, Call JE, Schultz FJ, Williams AC. Minimum and maximum temperatures for growth and verotoxin production by hemorrhagic strains of *Escherichia coli*. J Food Prot 1995;58(4):352-6.
151. Parissi Crivelli MA. Análisis de coliformes fecales en dos lagunas costeras del estado de Veracruz, por medio de la técnica de filtración de membranas [tesis licenciatura]. Xalapa, Veracruz: Universidad Veracruzana, 1990.
152. Pazzaglia G, Escamilla J, Batchelor R. The ethiology of diarrhea among American adults living in Peru. Mil Med 1991;156(9):484-7.
153. Pontefract RD, Bishai FR, Hockin J, Bergeron G, Parent R. Norwalk-like viruses associated with a gastroenteritis outbreak following oyster consumption. J Food Protection 1993;56:604-7.
154. Prado JV, Braun JS, Siri AMT, Marambio LA, Reyes ML. *Escherichia coli* enterotoxigena y *Campylobacter jejuni* en el síndrome diarreico agudo en lactantes chilenos. Bol Of Sanit Panam 1988;104(1):51-62.

155. Prevost MC, Lesourd M, Aipin M, Vernel F, Mournier J, Hellio R, et al. Unipolar reorganization of F-actin layer of bacterial division and bundling of actin filaments by plastin-correlated movement of *Shigella flexneri* within Hela cells. *Infect Immun* 1991;60(10):4088-99.
156. Pruginin Y. Cultivo de peces comerciales. México:Limusa,1991:1-11.
157. Pyle BH, Broadway ASC, McFetters GA. A rapid, direct method for enumerating respiring enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water. *Appl Environ Microbiol* 1995;61(7):2614-9.
158. Raghuber EV, KE JS, Campbell ML, Meyer RS. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and other coliforms in commercial mayonnaise and refrigerated salad dressing. *J Food Protection* 1995;58(1):13-8.
159. Raghuber EV, Matches JR. Temperature range for growth of *Escherichia coli* O157:H7 and selected coliforms in *E. coli* medium. *J Clin Microbiol* 1990;28(4):803-5.
160. Rahman I, Shahamat M, Chowdhury MA, Coldwell RR. Potential virulence of viable but nonculturable *Shigella dysenteriae* Type I. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(1):115-20.
161. Raimondi F, Kao JP, Kaper JB, Guandalini S, Fasano A. Calcium-dependent intestinal chloride secretion by *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin in a rabbit model. *Gastroenterology* 1995;109(2):381:6.
162. Rajakumar K, Sasakawa C, Adler B. Use of a novel approach, termed island probing, identifies *Shigella flexneri* which encodes a homologue of the

- immunoglobulin A protease-like family of proteins. *Infect Immun* 1997;65(2):4606-14.
163. Ramegowda B, Tesh VL. Differentiation associated toxin receptor modulation, cytokine production, and sensitivity to Shiga-like toxins in human monocytes and monocytic cell lines. *Infect Immun* 1996;64(4):1173-80.
164. Ramírez-Cabanillas J, Ríos-Morgan A, Bastidas-Bastidas P, Osuna-Ramírez I. Análisis de plaguicidas órganoclorados en ostión. *Tecnol Aliment* 1993;28:(1)8.
165. Redlinger T, O'Rourke K, VanDerslice J. Hepatitis A among schoolchildren in US-Mexico border community. *Am J Public Health* 1997;87(10):1715-7.
166. Renesto P, Mounier J, Sansonetti PJ. Induction of adherence and degranulation of polymorphonuclear leukocytes: a new expression of the invasive phenotype of *Shigella flexneri*. *Infect Immun* 1996;64(3):719-23.
167. Rico-Martínez MG. Biología molecular en la patogenia de *Shigella* sp y *Escherichia coli* enteroinvasiva. *Rev Lat-Amer Microbiol* 1995;37:367-85.
168. Rippey SR. Infectious disease associated with molluscan shellfish consumption. *Clin Microbiol Rev* 1994;7(4):419-25.
169. Robert S. Coliform bacteria from aquatic source in Fiji. *J Appl Bacteriol* 1992;73:263-8.
170. Rodrigues DP, Ribeiro RV, Alves RM, Hofer E. Evaluation of virulence factors in enviromental isolates of *Vibrio* species. *Mem Ins Oswaldo Cruz* 1993;88(4):589-92.

171. Rojas-Corona A. Aspectos de la calidad del agua de la Cuenca del río Culiacán. Memorias del 6o Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Querétaro: Soc Mex Ing Sanit Ambient, 1988.
172. Rosas I, Vela MA, Meza MG, Pérez MJ, Romo GL, Almanza MY. Cuantificación de bacterias coliformes y aislamientos de *Salmonella* en ostiones crudos colectados en un mercado de mariscos. Rev Fac Med UNAM 1988;31:2:39-42.
173. Rout WR, Formal SB, Dammin JG, Gianella AR. Pathophysiology of *Salmonella* diarrhea in the Rhesus monkey: intestinal transport, morphological and bacteriological studies. Gastroenterology 1974;67:59-70.
174. Ruiz GJ. Inmunoprofilaxia de la poliomiелitis. En Escobar GA, Valdespino GJL, Sepúlveda AJ. Vacunas ciencia y salud. México: Secretaría de Salud, 1992:131-42.
175. Ruiz J, Núñez ML, Sempere MA, Díaz J, Gómez J. Systemic infection in three infants due to a lactose fermenting strain of *Salmonella virchow*. Eur J Clin Microbiol 1995;14(5):454-6.
176. Ruiz-Durá MF. Recursos pesqueros de las costas de México. 2a. Ed. México: Limusa, 1992:14-22;147-152.
177. Russell SF, D'Aoust JY, Andrews WH, Bayley JS. Salmonella. En Vanderzent C, Splittstoesser DF, eds. Compendium of methods for the microbiological examination of food. 2a. ed. Washington: Am Publ Health Assoc 1992:371-422.

178. Ryan CA, Nickels MK, Hargrett-Bean NT, Potter ME, Endo T, Mayer L, et al. Massive outbreak of antimicrobial-resistant salmonellosis traced to pasteurized maternal feeding behavior and child acceptance of food during diarrhea, convalescence, and health in the Central Sierra of Peru. *JAMA* 1987;258(22):3269-74.
179. Salas HJ. Calidad del agua en el medio marino. Historia y aplicación de normas microbiológicas. *Bol Of Sanit Panam* 1989;107(3):226-38.
180. Samadpour M, Ongerth JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, et al. Occurrence of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Appl Environ Microbiol* 1994;60(3):1038-40.
181. Sansonetti PJ, Arondel J, Cantey JR, Prevost MC, Huerre M. Infection of rabbit Peyer's patches by *Shigella flexneri*. Effect of adhesive or invasive bacterial phenotypes on follicle associated epithelium. *Infect Immun* 1996;64(7):2752-64.
182. Sanz ME, Parma AE. Desarrollo de un ensayo de dot-blot para la detección de adhesinas en *Escherichia coli* enterotoxigénica. *Acta Bioq Clin Lat-Amer* 1992;26(3):295-8.
183. Schuch R, Maurelli AT. Virulence plasmid instability in *Shigella flexneri* 2a is induced by virulence gene expression. *Infect Immun* 1997;65(9):3686-92.
184. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Mazatlán, Sin: Dirección General de Política y Fomento Pesquero. Dirección de Estadística y Registro Pesquero. Archivo 1996.

185. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Mazatlán, Sin:Delegación Federal en el Estado de Sinaloa. Archivo 1996.
186. Sepúlveda J, Willet W, Muñoz A. Malnutrition and diarrhoea. A longitudinal study among urban Mexican children. *Am J Epidemiol* 1988;127(2):365-76.
187. Sing SW, Borczuk AC, Dominitz R, Goldberg MB. An essential role for gamma interferon in innate resistance to *Shigella flexneri* infection. *Infect Immun* 1998;66(4):1342-8.
188. Smith JL, Buchanan RL. *Shigella*. En: Vanderzant C, Splittstoesser DF, eds. Compendium of methods for microbiological examination of food. 2a. ed. Washington: Am Publ Health Assoc 1992:423-31.
189. Sobsey MD. Detection of viruses in Shellfish. En: Gerba CP, Goyal SM, eds. *Methods in Environmental*. New York: Marcel Dekker, 1982:243-259.
190. Spriggs DR, Guerrant RL. Summary of the United States-Japan Joint Conference on cholera and related diarrheal diseases. *J Infect Dis* 1993;167:1-6.
191. Stephenson MD, Martin M, Tijeerdema RS. Long-term trends in DDT, Polychlorinated byphenils, and chlordane in California mussels. *Arch Environ Contam Toxicol* 1995;28(4):443-50.
192. Suthienkul O, Ishibashi M, Iida T, Nettip N, Supavej S, Eampokalap B *et al*. Ureasa production correlates with possession of the *trh* gene in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in Thailand. *J Infect Dis* 1995;172(5):1405-8.

193. Suzuki T, Miki H, Tadaomi T, Sasakawa CH. Neural Wiskott-Aldrich syndrome is implicated in the actin-based motility of *Shigella flexneri*. EMBO J 1988;17:2767:76.
194. Tardeili, G T, Midolli VM, Waschmuth IK, Plake PA, Trabulsi LR. Serotype-specific prevalence of *Escherichia coli* strains with EPEC adherence factor genes in infants with and without diarrhea in Sao Paulo, Brazil. J Infect Dis 1989;160(1):131-5.
195. Tarr P. *Escherichia coli* O157:H7: Overview of clinical and epidemiological issues. J Food Protection 1994;57(7):632-6.
196. Tauxe RV. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. Emerging Infect Dis. Consultado en <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no4/tauxe.htm>. Consultado en 5/28/98.
197. Tennent JM, Hultgren S, Marklund BI, Forsman K, Goransson M, Uhlin BE *et al*. Genetics of adhesin expression in *Escherichia coli*. En Gunsalus IC, Sockatch JR, Ornston LN, eds. The bacteria. A treatise on Structure and function. San Diego: Academic Press, 1990(11):79-110.
198. Thatcher FS, Clark DS. Análisis Microbiológico de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1973.
199. Thomas LV, Cravioto A, Scotland SM, Rowe B. New fimbrial antigenic Type (E8775) that may represent a colonization factor in enterotoxigenic *Escherichia coli* in humans. Infect Immun 1982;35(3):1119-24.

200. Tickoo SK, Bhan MK, Srivastava R, Dass BK, Shariff M, Saini S, et al. Intestinal colonization & production of diarrhoea by enteroadherent-aggregative pathogenic *Escherichia coli*. *Ind J Med Res* 1992;[A]95:278-83.
201. Tigyi Z, Kishore AR, Maeland JA, Forsgren A, Naidua AS. Lactoferrin binding proteins in *Shigella flexneri*. *Infect Immun* 1992;60(7):2619-2626.
202. Townsend CM, Kilgen MB, Hackney CR. Evaluation of methods for extraction of Enteric virus from Louisiana oysters. *J Food Protection* 1985;8:592-5.
203. Uribe BM, Mendoza HP. Investigación de bacterias patógenas en mariscos. VII Reunión de Provincia de Microbiología. Oaxaca:Asociación Mexicana de Microbiología, 1980:30.
204. Uribe BM, Sotelo SJA, Valdez TV, Osuna RI. Determinación de la calidad sanitaria de mariscos recolectados en campos pesqueros de la zona centro de Sinaloa. XXIII Congreso Nacional de Microbiología. Acapulco: Asociación Mexicana de Microbiología A. C., Servicios Estatales de Salud en el Estado de Guerrero, 1992: M-19.
205. Vallejo V, Leyva CV, Pérez V, Valdés AE, Rodríguez MC, Arocha OC. Aislamiento de *Vibrio parahemolyticus* en ostiones. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 1987;25(3):189-98.
206. Vázquez C, Arriaga R. Cultivo de moluscos, método de cultivo. Serie básica de maricultura. No 2. Dirección general de Acuacultura. Secretaría de Pesca. México:1988.
207. Vázquez FG, Sharma VK, Alexander VH, Frausto CA. Metals in some lagoons of Mexico. *Environ Health Perspect* 1995;103:33-4.

208. Viral Gastroenteritis Sub-Committee of the PHLS Virology Committee. Outbreaks of gastroenteritis associated with SRSV'S. PHLS Microbiology Digest 1993;10(1):2-8.
209. Vuopio-Varkila J, Scholnik GK. Localized adherence by enteropathogenic *Escherichia coli* is an inducible phenotype associated with the expression of new outer membrane proteins. J Exp Med 1991;174:1167-77.
210. Walkins WD, Cabelli VJ. Effect of fecal pollution on *Vibrio parahaemolyticus* densities in an estuarine environment. Appl Environ Microbiol 1985;49(5):1307-13.
211. Wasteson Y, Olsvik O. Specific DNA fragments codify for ST1 and LT1 toxins and K88 (F4) adhesin in enterotoxigenic *Escherichia coli*. J Vet Med B 1991;38:445-52.
212. Watson JE. Pesticides as a source of pollution. En Pepper IL, Gerba ChP, Brusseau ML eds. Pollution Science. San Diego, Cal: Acad Press, 1996:253-65.
213. Weagant S, Bryant JL, Bark DH. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in mayonnaise and mayonnaise-based sauces at room and refrigerated temperature. J Food Protection 1995;57(7):629-31.
214. Wendt PH, Van Dolah RF, Bobo MY, Mathews TD. Leachates from docks in an estuarine environment. Arch Environ Contam Toxicol 1996;31:24-37.
215. Wernars K, Delfgou E, Soentoro PS, Notermans S. Successful approach for detection of low numbers of enterotoxigenic *Escherichia coli* in minced meat by

- using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 1991;57(7):1914-9.
216. WHO Scientific Working Group. Cholera and other vibrio-associated diarrhoeas. *Bull World Health Organiz* 1980;58(3):353-74.
217. Wilson IG, Moore JE. Presence of *Salmonella* spp and *Campylobacter* in shellfish. *Epidemiol Infect* 1996;116(2):147-53.
218. Wilson JLB, McEwen SA, Clarke RC, Leslie KE, Waltner-Towes, Gyles CL. Risk factors for bovine infection with verocytotoxigenic *Escherichia coli* in Ontario, Canada. *Prev Vet Med* 1993;16(8):159-70.
219. Wong HC, Lui CC, Yu CM, Lee YS. Utilization of iron sources and its possible roles in the pathogenesis of *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol Immunol* 1996;40(11):791-8.
220. World Health Organization. Viral gastroenteritis associated with consumption of raw oysters. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994;43(24):446-9.
221. World Health Organization. Multistate outbreak of viral gastroenteritis associated with consumption of oysters. Appalachicola Bay, Florida, December, 1994-January 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44(2):37-9.
222. World Health Organization. Diarrhoeal Disease Control Program. Report of the Twelfth Meeting of the Technical Advisory Group. Geneva, 18-22 March, 1991:1-23.
223. World Health Organization. Diarrheal diseases. *Weekly Epidemiol Record* 1992;67(37):273-80.

224. Yamamoto S, Funahashi T, Ikai H, Shinoda S. Cloning and sequencing of the *Vibrio parahaemolyticus* fur gene. *Microbiol Immunol* 1997;41(9):737-40.
225. Yamamoto S, Okujo N, Matsuura S, Fujiwara I, Fujita Y, Shinoda S. Siderophore-mediated utilization of iron bound to transferrin by *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol Immunol* 1994;38(9):687-93.
226. Yamashita T, Sakae K, Ishihara Y, Isomura S. A 2-year survey of the prevalence of enteric viral infections in children compared with contamination in locally harvested oysters. *Epidemiol Infect* 1992;108:155-63.
227. Zeitlin MF, Ahmed NU, Beiser AS, Zeitlin JA, Super CM, Guldan GS. Developmental behavioural, and environmental risk factors for diarrhoea among rural Bangladeshi children of less than two years. *J Diarrhoeal Dis Res* 1995;13(2):99-105.
228. Zychlinski A, Tirumalai K, Arondel J, Cantey JR, Aliprantis AO, Sansonetti PJ. In vivo apoptosis in *Shigella flexneri* infection. *Infect Immun* 1996;64(12):5357-65.

ANEXO

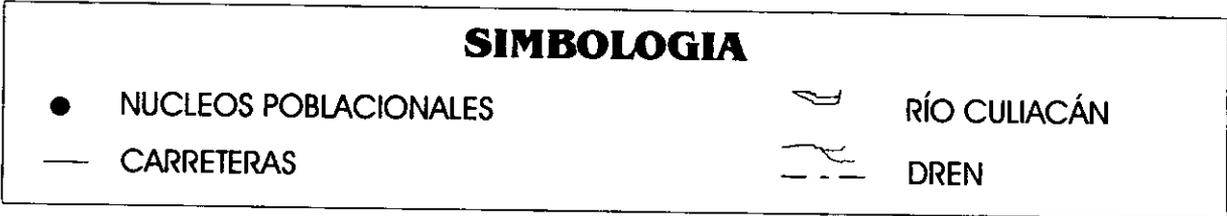
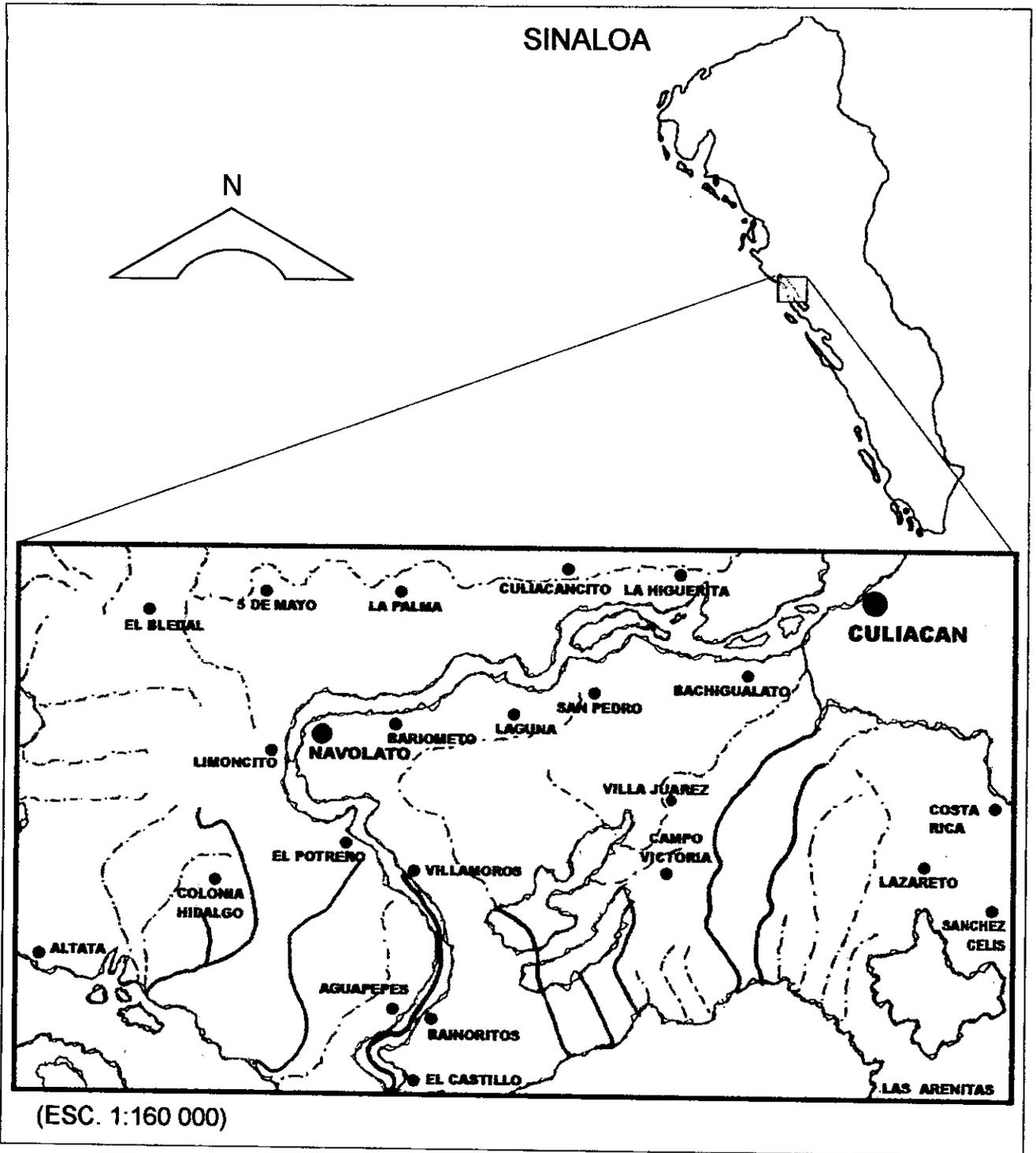


Fig. 12. AFLUENTES DE LAS BAHIAS DE ALTATA Y ENSENADA EL PABELLON

Altata	1. El Pintor
	2. La Iguana
	3. El Cuate
	4. El Pasito
	5. La Mula
El Castillo	1. Santo Esteban
	2. Pericón
	3. Chirimilla
	4. Monte Atravezado
	5. El Palo
Las Arenitas	1. La Morena
	2. Mezcalito
	3. El Ebanito
	4. Ponce
	5. Sal si Puedes

Cuadro 15. Índice del NMP y límites de Confianza 95% para varias combinaciones de resultados cuando se utilizan tres alícuotas de 10 ml, tres de 1 ml y tres de 0.1 ml.

Número de tubos positivos del total de			Índice del NMP por 100 ml	Límites de confianza 95%	
3 tubos de 10 ml	3 tubos de 1 ml	3 tubos de 0.1 ml		Inferior	Superior
0	0	1	3	0.5	9
0	1	0	3	0.5	13
1	0	0	4	0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

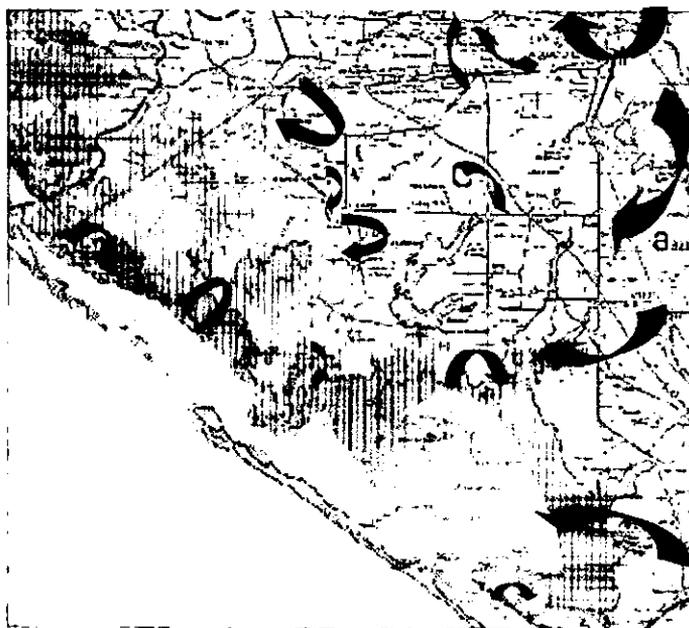


Figura 11. Carta hidrológica, INEGI, con sentidos indicativos de los desechos líquidos vertidos (Estrada, 1999)

	No. de descargas		población
Culiacán	66,857	1,354	468,000
Costa Rica	1,489	53	8,934
Navolato	2,000	27	12,000
Aguaruto	1,150	15	7,000
Villa A. L. Mateos	638	31	3,830
Villa A. Flores	584	17	3,504
San Pedro	916	13	9,500
Villa Juárez	172	9	1,032
	73,872		

Cuadro 16. Número y volumen de descargas de aguas residuales en poblaciones del centro de Sinaloa (Estrada, 1999)