

Especies de importancia clínica del género *Vibrio* en alimentos marinos de origen animal de establecimientos de Puerto Ángel, Oaxaca, México

José Franco-Monsreal¹, Erika Beatriz Lara-Zaragoza²,
Nemesio Villa-Ruano², Lizbeth Mota-Magaña², Lidia Esther del Socorro
Serralta-Peraza¹, Valeria Betzabé Cuevas-Albarrán¹,
Florinda Sosa-Castilla¹

Resumen

El medio marino ocupa prácticamente el 71% de la superficie terrestre y en las zonas costeras entra en relación con el hombre directamente por razones laborales y/o deportivas o indirectamente por la manipulación y/o por el consumo de productos del mar. El objetivo del presente estudio fue el determinar si los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por las especies *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria. Se obtuvo un listado de 38 establecimientos especializados en la venta de alimentos marinos para consumo humano. El número de alimentos marinos en dichos establecimientos fue 400. Para la homogeneización y el enriquecimiento de cada muestra, así como para el aislamiento y la identificación de las especies se procedió según la metodología descrita en el Bacteriological Analytical Manual (FDA). Por el método de Cornfield se construyeron intervalos de estimación al nivel de confianza del 95%. De las 400 muestras estudiadas en 22

Abstract

Temperature and oxygen The marine environment nearly 71% of the land surface and in coastal areas comes to terms with the man directly for work and/or sports or indirectly by handling and/or consumption of seafood. The aim of this study was to determine if raw, marinated without heat, partially cooked with heat and fully cooked with heat seafood represent potential risk factors for *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* species in the development of enteral and other secondary diseases. We obtained a list of 38 establishments specializing in the sale of seafood for human consumption. The number of seafood in these establishments was 400. For the standardization and enrichment of each sample and for the isolation and identification of species we proceeded according to the methodology described in the Bacteriological Analytical Manual (FDA). By the method of Cornfield estimation intervals to the confidence level of 95% were constructed. Of the 400 samples studied in 22 (5.50%), 14 (3.50%), 10 (2.50%), 16 (4.00%), 12 (3.00%), 10 (2.50%), 15 (3.75%), 12 (3.00%), 16 (4.00%), 26 (6.50%) and 25 (6.25%) samples we isolated an equal number of strains whose biochemical characteristics corre-

Universidad Intercultural Maya de Quintana Roo; Carretera Muna - Felipe Carrillo Puerto, km. 137 S/N; CP. 77870; La Presumida, José María Morelos, Quintana Roo, México

¹Responsable del seguimiento del manuscrito
José Franco Monsreal

E-mail: giuseppe56@yahoo.com.mx, jose.franco@uimqroo.edu.mx

²Universidad de la Sierra Sur. Calle Guillermo Rojas Mijangos S/N. Esquina Avenida Universidad. Colonia Ciudad Universitaria. CP. 70800. Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, México

(5.50%), 14 (3.50%), 10 (2.50%), 16 (4.00%), 12 (3.00%), 10 (2.50%), 15 (3.75%), 12 (3.00%), 16 (4.00%), 26 (6.50%) y 25 (6.25%) muestras se aisló un número igual de cepas cuyas características bioquímicas correspondieron a *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. Se concluye que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria.

Palabras clave: gastroenteritis aguda; septicemias primaria y secundaria; *Vibrionaceae*; zonas costeras

sponded to *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. It is concluded that raw, marinated without heat, partially cooked with heat and fully cooked with heat seafood represent potential risk factors for the development of enteral diseases and other secondary.

Key words: acute gastroenteritis; primary and secondary septicemia; *Vibrionaceae*; coastal areas

Introducción

El género *Vibrio* incluye bacilos Gram-negativos, aerobios y anaerobios facultativos, fermentadores de carbohidratos tales como la sacarosa, la D-celobiosa, la lactosa, la arabinosa, la D-manosa y el D-manitol, positivos a la prueba de la oxidasa (con excepción de *Vibrio metschnikovii*), positivos a la prueba de la catalasa, móviles por flagelos polares, sensibles al agente vibriostático O/129 y para su crecimiento requieren una concentración de 3% de cloruro de sodio (NaCl). Son ubicuos, ampliamente difundidos en la naturaleza en ambientes acuosos tanto dulces como salinos, en zonas de litoral y estuarios y cuya especie tipo, *Vibrio cholerae*, es un importante patógeno humano (Revista del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición No. 12).

La familia *Vibrionaceae* pertenece a la Clase III (*Gammaproteobacteria*) y al Orden XI (*Vibrionales*) encontrándose integrada por los géneros *Vibrio*, *Allomonas*, *Catenococcus*, *Enterovibrio*, *Grimontia*, *Listonella*, *Photobacterium* y *Salinivibrio* (Garrity et al. 2004).

De las 66 especies de *Vibrio* aceptadas las siguientes 12 se consideran patógenas (Pavia et al. 1989): *Vibrio alginolyticus* (Miyamoto

et al. 1961), *Vibrio carchariae* (Grimes et al. 1984), *Vibrio cholerae* (Pacini 1854), *Vibrio cincinnatiensis* (Brayton et al. 1986), *Vibrio damsela* (Love et al. 1981), *Vibrio fluvialis* (Lee et al. 1981), *Vibrio furnissii* (Brenner et al. 1983), *Vibrio hollisae* (Hickman et al. 1982), *Vibrio metschnikovii* (Gamaleia 1888), *Vibrio mimicus* (Davis et al. 1981), *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino et al. 1953) y *Vibrio vulnificus* (Reichelt et al. 1976).

Vibrio alginolyticus

La especie *V. alginolyticus* fue aislada por vez primera por Miyamoto et al. en 1961. La especie *V. alginolyticus* produce el desarrollo de infecciones gastrointestinales en el ser humano y, esporádicamente, el desarrollo de infecciones extraintestinales. Posee escasa virulencia (Janda & Bryant 1987, Hoge et al. 1989, West 1989) y se encuentra asociada frecuentemente con otros microorganismos patógenos (Pien et al. 1977, Hansen et al. 1979, Janda et al. 1988, Hoge et al. 1989, Dronda et al. 1991); su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas. No fue considerada una especie patógena hasta el año 1973 (Zen-Yoji et al.) pero, desde entonces, el número de procesos infecciosos en los que ha sido implicada ha ido en aumento. Clínicamente, la especie *V. alginolyticus* se

encuentra relacionada con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio carchariae

La especie *V. carchariae* fue aislada por vez primera por Grimes *et al.* en 1984. Las especies del género *Vibrio* son bacterias Gram-negativas en forma de bastón que se han generalizado en los entornos tanto costeros como estuarinos. Algunas especies como, por ejemplo, *V. anguillarum* y *V. tapetis* comprenden graves patógenos de vertebrados acuáticos e invertebrados. Otras especies tales como *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. hollisae*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* pueden causar enfermedad en los animales acuáticos y en los seres humanos. Aunque bajos en número, los brotes humanos generalmente implican infecciones de heridas y enfermedades gastrointestinales frecuentemente con diarrea acuosa. En una minoría de casos, por ejemplo la especie *V. vulnificus*, existe buena evidencia para asociar efectivamente las infecciones humanas con animales enfermos. En otros casos, el vínculo es ciertamente factible pero la evidencia fuerte falta en su mayoría (Austin 2010). La especie *V. carchariae* es la más recientemente descrita en patología humana. Patógena de tiburones, ha sido relacionada con infecciones extraintestinales en el hombre, particularmente de heridas por mordedura de tiburón (Pavia *et al.* 1989). Se distingue de la especie *V. alginolyticus* por su menor halotolerancia y resistencia a la colimicina. La especie *V. carchariae* se encuentra relacionada con infección de herida (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio cholerae

La especie *V. cholerae* fue aislada por vez primera por Pacini en 1854. Existen dos variedades de la especie *V. cholerae* que son potencialmente patógenas para el ser humano. El principal tipo que causa el cólera es la especie *V. cholerae* O1 y los otros tipos son conocidos como no-O1. La especie *V. cholerae* O1 es la responsable de la epidemia asiática o cólera.

Los brotes son muy escasos en Europa y en Norteamérica ocurriendo, principalmente, en las regiones subtropicales. El cólera se encuentra siempre asociado con el agua contaminada o con los pescados y mariscos provenientes de la misma. Por otro lado, la especie *V. cholerae* no-O1 se encuentra relacionada a la variedad anterior pero sólo infecta a los humanos y a otros primates causando una enfermedad menos severa que el cólera. Tanto las cepas patogénicas como las no patogénicas son habitantes normales de los ambientes marinos y de los estuarios. El cólera es el nombre de la infección causada por la especie *V. cholerae*. Los síntomas del cólera asiático pueden variar desde una diarrea leve y acuosa hasta una diarrea severa. Por lo general, la aparición de la enfermedad es repentina con períodos de incubación que varían desde 6 hr hasta 5 d. Entre los síntomas que pueden ocurrir se encuentran calambres abdominales, náusea, vómito, deshidratación, shock e, inclusive, la muerte cuando la pérdida de fluidos y de electrolitos es muy severa. La enfermedad es causada por la ingestión de bacterias viables que se adhieren al intestino delgado y producen la toxina del cólera resultando en una diarrea acuosa característica de esta enfermedad. Estudios realizados en personas saludables ofrecidas voluntariamente han demostrado que para causar la enfermedad se necesita la ingestión de aproximadamente un millón de microorganismos. Además, el consumo de antiácidos, tal como el bicarbonato de sodio (NaHCO_3), disminuye marcadamente la dosis infecciosa requerida. Entre los síntomas de la enfermedad causada por la especie *V. cholerae* no-O1 se encuentran diarrea, calambres abdominales y síntomas de fiebre asociados con vómito y náusea que ocurren en aproximadamente el 25% de los individuos infectados. Asimismo, un porcentaje similar presenta sangre y moco en las heces fecales. La diarrea puede ser severa en algunos casos durando de 6-7 d y presentándose, generalmente, dentro de las 48 hr siguientes a la ingesta del microorganismo. Es desconocida la forma en cómo éste causa la enfermedad; sin embargo, se sospecha de una enterotoxina así como de un mecanismo invasivo. La

enfermedad se produce cuando el microorganismo se adhiere al intestino delgado del individuo infectado y es probable que después lo invada. El cólera sólo puede confirmarse mediante el aislamiento del microorganismo a partir de las heces diarreicas del individuo afectado. Del mismo modo, el diagnóstico de la infección producida por la especie *V. cholerae* no-O1 se realiza aplicando la metodología anterior pudiéndose utilizar también como muestra la sangre de los pacientes con septicemia. El cólera es una enfermedad generada en la mayoría de los casos por la falta de higiene que resulta en la contaminación de las fuentes de agua. Este es el principal mecanismo para su distribución en las comunidades pobres de América del Sur. Las buenas condiciones de saneamiento en Europa y en los Estados Unidos de Norteamérica son las responsables de la casi total erradicación de la epidemia de esta enfermedad. Casos esporádicos se han presentado cuando se han consumido mariscos crudos obtenidos de aguas costeras contaminadas con heces fecales. El cólera puede también ser transmitido por los mariscos obtenidos de aguas no contaminadas, ya que la especie *V. cholerae* no-O1 es autóctona de esta clase de aguas. Los mariscos obtenidos de las aguas costeras frecuentemente contienen la especie *V. cholerae* serogrupo no-O1. Además, el consumo de mariscos crudos, semicrudos (inadecuadamente cocidos) y recontaminados puede causar la enfermedad. Las principales causas de la enfermedad son la higiene deficiente, el agua contaminada y el manejo inadecuado de los alimentos. Por esta razón, el agua correctamente hervida y la buena higiene pueden prevenir en gran medida las infecciones causadas por la especie *V. cholerae*. Se cree que todas las personas son susceptibles a la infección; sin embargo, los individuos con el sistema inmunológico dañado o no desarrollado, con acidez gástrica reducida o con malnutrición pueden sufrir formas más severas de la enfermedad. Asimismo, todos los individuos que consumen mariscos crudos son susceptibles de padecer de diarrea causada por este microorganismo. La especie *V. cholerae* comprende bacilos pequeños (0,5 μ de ancho x 5 μ de longitud), incurvados y móviles por

un flagelo polar. No capsulados y no esporulados. Crece en un intervalo de temperatura comprendido entre 16 y 42°C siendo la óptima de 37°C. Su pH óptimo de crecimiento está comprendido entre 7.4 y 9.6 con un mínimo de 6.8 y un máximo de 10.2. Tiene requerimientos nutricionales sencillos y crece de forma rápida. Es sensible al calor, así como a los detergentes y desinfectantes. La especie *V. cholerae* es el agente causante del cólera epidémico o asiático, enfermedad diarreica estrictamente humana y considerada como una plaga durante muchos años. Se conocen alrededor de 200 serogrupos de esta bacteria, basados en el antígeno O (lipopolisacárido). Los antígenos flagelares (H) no son útiles para el tipado de esta bacteria. La mayoría de las cepas no producen diarreas epidémicas. El principal agente causante del cólera epidémico y pandémico es el serogrupo O1. Las cepas patógenas de este serogrupo se caracterizan por producir la toxina colérica (Ctx). Este serogrupo puede subdividirse también en serotipos (Hikokima, Inawa y Ogawa) y biotipos (Clásico y El Tor). Las cepas ambientales del serogrupo O1 con frecuencia no producen toxina colérica y se consideran no patógenas, aunque se han asociado ocasionalmente a casos de diarrea e infecciones extraintestinales. El serogrupo O139 (o serogrupo de Bengala) también produce toxina colérica, pero es capsulado. Este serogrupo ha provocado epidemias en la India, pero no ha llegado a ser pandémico. Existen, además, otros serogrupos (distintos de O1 y O139) que se han relacionado con diarreas esporádicas por consumo de moluscos y provocan diversas infecciones extraintestinales tales como septicemia, infecciones de heridas y otitis, generalmente por contacto con aguas contaminadas. Aunque la mayoría no produce la toxina colérica, pueden producir otros tipos de toxinas (Mataix-Verdú *et al.* In: Mataix-Verdú *et al.* 2014). La especie *V. cholerae* O1 se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda e infección de herida en tanto que la especie *V. cholerae* no-O1 se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio cincinnatiensis

La especie *V. cincinnatiensis* fue aislada por vez primera por Brayton et al. en 1986. La especie *V. cincinnatiensis*, patógeno humano ocasional, ha sido aislada del líquido cefalorraquídeo y de la sangre de un enfermo con meningitis. Se distingue de otras especies por su capacidad para fermentar el myo-inositol (Brayton et al. 1986). La especie *V. cincinnatiensis* se encuentra relacionada con septicemia primaria (Pavia et al. 1989).

Vibrio damsela

La especie *V. damsela* fue aislada por vez primera por Love et al. en 1981. La especie *V. damsela* es un vibrio halofílico perteneciente, junto con las especies *V. fluvialis* y *V. furnissii*, al grupo de los vibrios "arginina deshidrolasa positiva" denominados provisionalmente "vibrios del grupo F" y también "CDC group EF6" (Lee et al. 1981). Se ha reconocido como causa de enfermedad en el hombre y se ha demostrado su actividad citolítica (Kreger 1984). Ha sido referida en infecciones de tejidos blandos (Coffey et al. 1986), fascitis necrotizante fatal (Yuen et al. 1993) y sepsis (Love et al. 1981, Morris et al. 1982). El papel del hierro en la patogeneidad experimental de la especie *V. damsela* para peces y mamíferos ha sido estudiado recientemente (Fouz et al. 1994). La especie *V. damsela* se encuentra relacionada con infección de herida (Pavia et al. 1989).

Vibrio fluvialis

La especie *V. fluvialis* fue aislada por vez primera por Lee et al. en 1981. La especie *V. fluvialis* es halodependiente y presenta muchas similitudes con las especies *V. damsela* y *V. furnissii* (Lee et al. 1981). Es mucho más común en el medio marino que las otras especies del género *Vibrio* del "grupo EF6" y ha sido implicada en casos esporádicos de infección gastrointestinal con cuadros de diarrea acuosa, vómito, dolores abdominales y deshidratación grave (Huq et al. 1980, Lee et al. 1981, Tacket et al. 1982, Bellet et al. 1989); se ha señalado que la enterotoxina que posee difiere de la toxina colérica en el receptor, modo de acción y antigenicidad (Ahsan et al. 1988). Un caso aislado

de otitis por la especie *V. fluvialis* asociado a la especie *V. alginolyticus* ha sido comunicado recientemente (Puy et al. 1989). También se ha comentado un caso de diarrea en un enfermo de sida (Hodge et al. 1995). La especie *V. fluvialis* se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda (Pavia et al. 1989).

Vibrio furnissii

La especie *V. furnissii* fue aislada por vez primera por Brenner et al. en 1983. La especie *V. furnissii* en sangre es raramente reportada lo cual puede explicar por qué no han sido reportadas las características clínicas de las infecciones del torrente sanguíneo por esta especie. Un estudio reporta un paciente quien desarrolló lesiones cutáneas y bacteriemia por la especie *V. furnissii* y fue tratado exitosamente con fluoroquinolonas. La especie *V. furnissii* puede ser un patógeno grave en pacientes con comorbilidades subyacentes que se encuentran expuestos a los alimentos marinos. La especie *V. furnissii* ha sido propuesta para situar las cepas halófilas conocidas anteriormente como *V. fluvialis* biovariedad II. Se ha aislado de las heces de pacientes con diarrea pero su patogeneidad se muestra aún incierta (Brenner et al. 1983). Algunas especies de vibrios tales como *V. alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, entre otras, pueden también presentar genes de virulencia y causar enfermedades diarreicas tan graves como el cólera (Blake et al. 1980, Rippey 1994, Hlady & Klontz 1996). La especie *V. furnissii* se encuentra relacionado con gastroenteritis aguda (Pavia et al. 1989).

Vibrio hollisae

La especie *V. hollisae* fue aislada por vez primera por Hickman et al. en 1982. La especie *V. hollisae* fue reportada por vez primera en el año 1982 como un agente de diarrea y fue reclasificada en 2003 en un nuevo género como *Grimontia hollisae*. Se reporta el primer caso de bacteriemia por la especie *Grimontia hollisae* en el área mediterránea en un hombre de 81 años de edad con gastroenteritis severa y hepatitis después del

consumo de ostras crudas. La incidencia de esta especie como agente de gastroenteritis puede ser subestimada, ya que no puede ser detectada usando condiciones de cultivo de rutina (Edouard *et al.* 2009). Diversos estudios realizados en muestras representativas de alimentos marinos recolectados de restaurantes y/o marisquerías han revelado, invariablemente, la presencia de bacilos marinos halofílicos Gram-negativos correspondientes a la familia *Vibrionaceae*, a los géneros *Vibrio* y *Aeromonas* y a las especies *V. alginolyticus*, *V. hollisae*, *V. parahaemolyticus* y *A. hydrophila*. Dichos estudios fueron llevados a cabo en la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México (Franco & Flores 1988); en la ciudad de Mérida, Yucatán, México (Franco & Flores 1989, Franco *et al.* 1991, Flores *et al.* 1996, Franco-Monsreal *et al.* 1999); y en la ciudad de Chetumal, Quintana Roo, México (Franco-Monsreal *et al.* 1999, Franco-Monsreal *et al.* 2003). Las cuatro especies anteriormente mencionadas son autóctonas del agua de mar y representan factores potenciales de riesgo para el desarrollo de diferentes síndromes clínicos en el humano. Así, la especie *V. alginolyticus* se encuentra asociada con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria; la especie *V. hollisae* con gastroenteritis aguda y septicemia primaria; la especie *V. parahaemolyticus* con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria; y, por último, la especie *A. hydrophila* con gastroenteritis aguda (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio metschnikovii

La especie *V. metschnikovii* fue aislada por vez primera por Gamaleia en 1888. La especie *V. metschnikovii* fue aislada de la sangre de un paciente de 82 años de edad con peritonitis y vesícula biliar inflamada y éste es, probablemente, el primer aislamiento clínicamente significativo de esta nueva especie (Jean-Jacques *et al.* 1981). La especie se encuentra distribuida en gran medida en el medio acuático. Las infecciones humanas son raramente observadas. Sin embargo, un caso fatal de septicemia en un paciente con cirrosis hepática, insuficiencia renal y diabetes ha sido reportado

(Hansen *et al.* 1993). Hans-Jörg *et al.* reportan el primer caso de infección de herida postoperatoria causada por la especie *V. metschnikovii* en la parte inferior de la pierna derecha de un paciente después de safenectomía; la fuente de infección no fue detectada; sin embargo, la supuesta ausencia de factores potenciales de riesgo (exposición al agua de mar o mariscos o un episodio de diarrea), la profesión del paciente (carnicero) y el aislamiento de la especie *V. metschnikovii* en una variedad de animales de granja (pollo, bovinos, porcinos y equinos) sugieren que las infecciones causadas por la especie *V. metschnikovii* pueden considerarse zoonóticas (Hans-Jörg *et al.* 2004). La especie *V. metschnikovii* se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda y septicemia primaria (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio mimicus

La especie *V. mimicus* fue aislada por vez primera por Davis *et al.* en 1981. Las especies del género *Vibrio* son comunes en ambientes acuáticos. Entre ellas se encuentran las especies *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* y *V. mimicus*. Varios estudios han demostrado que factores ambientales tales como la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto se encuentran involucrados en su epidemiología. La especie *V. mimicus*, considerada hasta 1981 dentro de la especie *V. cholerae* no-O1 sacarosa negativa (Davis *et al.* 1981), puede desarrollarse perfectamente en ausencia de NaCl. Los autores distinguen tres tipos de cepas: 1. las que producen enterotoxina termolábil inmunológicamente similar a la colérica; 2. las que producen enterotoxina termoestable; y 3. las que in vivo presentan alguna característica de actividad de toxina termolábil (Chowdhury *et al.* 1987). Se considera menos frecuente que otros vibrios en infecciones humanas. Se asocia con diarrea consecuente al consumo de pescado crudo y ostras (Shandera *et al.* 1983, Sanyal *et al.* 1984, Revillo *et al.* 1988), infección de heridas (Revillo *et al.* 1988), bacteriemia (Shandera *et al.* 1983) y otitis (Davis *et al.* 1981). La especie *V. mimicus* se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda e infección de oído (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio parahaemolyticus

La especie *V. parahaemolyticus* fue aislada por vez primera por Fujino *et al.* en 1953. La especie ha sido ampliamente descrita en la literatura como agente causal de gastroenteritis (con diarrea aguda, vómito, fiebre moderada y dolores abdominales) relacionada con el consumo de alimentos de origen marino o contaminados con agua de mar, especialmente en Japón por la ingesta de pescado crudo (Sakazaki *et al.* 1968, Joseph *et al.* 1982, Mhalu *et al.* 1982, Pérez *et al.* 1987, Kelly & Stroh 1988, Hsu *et al.* 1993). Se ha demostrado la actividad hemolítica de la mayoría de las cepas de origen humano (toxina de Kanagawa), así como su capacidad de producción de enterotoxina y de inflamación de la mucosa intestinal. La especie ha sido también implicada en infecciones de tejidos blandos (Ghosh & Bowen 1980, Johnson *et al.* 1984, Howard *et al.* 1985, Ahsan *et al.* 1988), panoftalmitis (Tacket *et al.* 1982), sepsis y otitis (Blake *et al.* 1980, Morris & Blake 1985). Tres y 10 de una serie de 13 casos, descritos en Dinamarca, fueron, respectivamente, infecciones de heridas e infecciones de oído (Hornstrup & Gahm 1993). Después del consumo de ostras, una mujer sufrió un shock cardiogénico con sintomatología diarreica y dolor abdominal previos (Tsujimoto *et al.* 1994). La especie *V. parahaemolyticus* produce gastroenteritis aguda al ingerir pescados y/o mariscos crudos, insuficientemente cocidos o contaminados después de su preparación culinaria. Los síntomas más frecuentes son diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos. La mortalidad es muy baja (Mataix-Verdú *et al.* In: Mataix-Verdú *et al.* 2014). La especie *V. parahaemolyticus* se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

Vibrio vulnificus

La especie *V. vulnificus* fue aislada por vez primera por Reichelt *et al.* en 1976. La especie *V. vulnificus* es considerada una oportunista virulenta y letal para determinados grupos humanos de riesgo con una tasa de mortalidad que puede superar el 50% (Jones & Oliver 2009)

llegando, incluso, al 90% en casos de hipotensión grave. Desde un punto de vista general puede definirse como una especie compleja con caracteres fisiológicos que contribuyen a su supervivencia en los ambientes marinos y en el hospedero humano. Sobre la base de sus características bioquímicas la especie *V. vulnificus* es un bacilo Gram-negativo, halofílico, fermentador de la lactosa y se clasifica en los biotipos 1, 2 y 3 (producción de indol y fermentación de la celobiosa). Las cepas pertenecientes al biotipo 1 son responsables de la mayoría de las infecciones humanas, mientras que las cepas del biotipo 2 generalmente se asocian a procesos clínicos en las anguilas, aunque se han descrito varios casos de infecciones de heridas en el ser humano. El biotipo 3 (Bisharat *et al.* 1999) es un híbrido de los dos biotipos anteriores y es causa de infecciones de heridas en el ser humano. El biotipo 2 es heterogéneo y se subdivide en diferentes serovares. La primera reportada fue la serovar E que parece ser genéticamente homogénea, independientemente de su origen (peces o humanos), porque constituye una excepción en el sentido de que se han reportado casos humanos producidos por él. El serovar A apareció en el año 2000 en anguilas, en España. Los serovares O3 y O3/4 solamente se han aislado en una ocasión a partir de anguilas, en Dinamarca (Fouz *et al.* 2007). La especie *V. vulnificus* tiene su hábitat natural en los ambientes marinos costeros de todo el mundo y hasta la fecha ha sido aislada de agua, de sedimentos y de una amplia variedad de pescados y mariscos incluyendo peces, camarones, ostras y almejas (Baffone *et al.* 2006; Mahmud *et al.* 2008). En el ratón experimentalmente cirrótico la letalidad por la especie *V. vulnificus* es proporcional al grado de respuesta in vivo del factor alfa de necrosis tumoral (Espat *et al.* 1996). La especie *V. vulnificus* biotipo 2, un patógeno obligado de anguilas en cuyo moco cutáneo sobreviven al menos 14 d, ha sido implicada en un caso septicémico humano (Amaro *et al.* 1995). No se aísla en el agua pero puede ser transmitido por ésta. Experimentalmente, a temperaturas de 25°C sobrevive 50 d en tanto que a temperaturas bajas entra en un estado viable pero "no cultivable" (Biosca *et al.* 1996)

del que puede ser recuperado por inoculación al ratón (Oliver & Bockian 1995). Los cuadros clínicos con los que se ha relacionado son, principalmente, septicemia primaria (Blake *et al.* 1980, Castillo *et al.* 1981, Tacket *et al.* 1984, Johnston *et al.* 1985, Morris & Blake 1985, Nip & Pien 1989, Klontz *et al.* 1988, Arnold *et al.* 1989, Pien 1989, Chuang *et al.* 1989, West 1989) e infecciones de heridas (Ghosh & Bowen 1980, Tacket *et al.* 1984, Howard *et al.* 1985, Johnston *et al.* 1986, Klontz *et al.* 1988, Hoge *et al.* 1989); con menor frecuencia enfermedad gastrointestinal (Johnston *et al.* 1986, Klontz *et al.* 1988, West 1989) y, ocasionalmente, meningitis (Katz 1988), osteomielitis (Hoge *et al.* 1989, Vartian & Septimus 1990), endometritis (Tison & Kelly 1984) e infecciones pulmonares tras asfixia por inmersión (Sabapathi 1988). *V. vulnificus* es otra especie relacionada, que provoca toxiinfecciones alimentarias graves asociadas mayoritariamente al consumo de ostras crudas y otros moluscos. De forma peculiar la infección por esta bacteria cursa con fiebre, escalofríos y náuseas pero, generalmente, sin diarrea. La mortalidad es elevada, entre el 40 y el 60% de los casos (Mataix-Verdú *et al.* In: Mataix-Verdú *et al.* 2014). La especie *V. vulnificus* se encuentra relacionada con gastroenteritis aguda, infección de herida, septicemia primaria y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

Entre los factores de riesgo, factores de exposición, rasgos o características que aumentan la probabilidad de aparición de casos y brotes en la población se encuentran el consumo de alimentos marinos de origen animal crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor; el defectuoso o ausente proceso de refrigeración; el manejo no-adecuado de los alimentos en las cocinas (Bryan 1978); y la contaminación de los alimentos marinos por parte del manipulador mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador asintomático (Fujino 1967 In: Fujino & Fukumi 1967, Pérez *et al.* 1980, Franco & Flores 1988).

Los alimentos marinos, según su método de preparación, fueron clasificados en crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con

calor y completamente cocidos con calor. Tres fueron las variedades (crustáceos, moluscos y peces) y 11 las especies estudiadas (atún, bacalao, barrilete, camarón, dorado, frel negro, guachinango, mantarraya, mojarra, pargo y pulpo).

En Puerto Ángel, Oaxaca, México, la incidencia de síndromes diarreicos de etiología desconocida es alta; sus habitantes habitualmente consumen alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor. En consecuencia, la realización de la presente investigación que tuvo como objetivo la búsqueda de las especies *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en alimentos marinos de origen animal es de suma importancia en salud pública.

Los objetivos de la presente investigación fueron el determinar las frecuencias o tasas de positividad de las especies *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor. En otras palabras, determinar si los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. alginolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria; por la especie *V. carchariae* para el desarrollo de infección de herida; por la especie *V. cholerae* O1 para el desarrollo de gastroenteritis aguda e infección de herida; por la especie *V. cholerae* no-O1 para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria; por la especie *V. cincinnatiensis* para el desarrollo de septicemia primaria; por la especie *V. damsela* para el desarrollo de infección de herida; por la especie *V. fluvialis* para el desarrollo de gastroenteritis aguda; por la especie *V. furnissii* para

el desarrollo de gastroenteritis aguda; por la especie *V. hollisae* para el desarrollo de gastroenteritis aguda y septicemia primaria; por la especie *V. metschnikovii* para el desarrollo de gastroenteritis aguda y septicemia primaria; por la especie *V. mimicus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda e infección de oído; por la especie *V. parahaemolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria; y por la especie *V. vulnificus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, septicemia primaria y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

La hipótesis nula (H0) fue que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor no se encuentran contaminados con una o más de las 12 especies de importancia clínica del género *Vibrio* no constituyendo, por tanto, factores potenciales de riesgo para la población consumidora de Puerto Ángel, Oaxaca, México.

La hipótesis alterna, hipótesis de trabajo o hipótesis de investigación (H1) fue que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor se encuentran contaminados con una o más de las 12 especies de importancia clínica del género *Vibrio* constituyendo, por tanto, factores potenciales de riesgo para la población consumidora de Puerto Ángel, Oaxaca, México.

Las especies de importancia clínica del género *Vibrio* según su asociación con diferentes síndromes clínicos se presentan en la Tabla I.

Materiales y métodos

Diseño de estudio

Estudio observacional descriptivo de corte transversal sin direccionalidad y con temporalidad prospectiva.

Universo de estudio

El estudio se realizó en el total de muestras (400) del total de establecimientos (38) especializados en la venta de alimentos marinos para consumo humano en Puerto Ángel, Oaxaca, México, en el período comprendido del 1 de febrero de 2011 al 31 de enero de 2012. La recolección de las muestras se llevó a cabo del 1 de marzo al 31 de agosto de 2011.

Puerto Ángel es una localidad mexicana situada en la costa del Océano Pacífico y perteneciente al estado de Oaxaca. Se encuentra en las coordenadas 15°40'18" N y 96°29'45" O. Cuenta con infinidad de restaurantes, prácticamente uno en cada esquina. De comer ofrecen, además de pollo y carne, los riquísimos mariscos que son la especialidad del puerto. El pescado es, por lo regular, recién sacado del mar y puede ser atún, guachinango, pez vela o cazón; además, se ofrecen ostiones, langostas, pulpo y camarón, entre otros.

La mayoría de los lugares para comer se encuentra en la playa donde existen puestos y restaurantes improvisados en los cuales se ofrecen mariscos y pastas. El pollo y la carne también se encuentran disponibles; sin embargo, las especialidades se centran en los mariscos. El pescado fresco, en especial el atún, es servido aquí; éste se sirve como un embutido dentro de un aguacate o también

Tabla I. Asociación de *Vibrio* spp., con diferentes síndromes clínicos

Especies	Síndromes clínicos				
	Gastroenteritis aguda	Infección de herida	Infección de oído	Septicemia primaria	Septicemia secundaria
<i>V. alginolyticus</i>	(+)	++	++	+	
<i>V. carchariae</i>		+			
<i>V. cholerae</i> O1	+++	+			
<i>V. cholerae</i> no-O1	+++	++	+	+	+
<i>V. cincinnatiensis</i>				+	

<i>V. damsela</i>		++			
<i>V. fluvialis</i>	++				
<i>V. furnissii</i>	(+)				
<i>V. hollisae</i>	++			+	
<i>V. metschnikovii</i>	(+)				(+)
<i>V. mimicus</i>	++		+		
<i>V. parahaemolyticus</i>	+++	+	+		
<i>V. vulnificus</i>	+	++		++	++

FUENTE: Pavia et al. 1989

+++ = Frecuentemente reportado;

++ = Menos común (de 6 a 100 reportes);

+ = Raro (de 1 a 5 reportes); y

(+) = La asociación no está clara

el atún frito y el pescado preparado al estilo Veracruz acompañado de una salsa de tomate, aceitunas y cebollas. Otros platillos marinos disponibles incluyen el pez espada, el tiburón, la langosta de mar, el pulpo y las ostras, los cuales es común que se sirvan fritos.

Definiciones operacionales de las variables (Franco & Flores 1988)

- Coctelerías, pescaderías y restaurantes: establecimientos que expenden alimentos marinos de origen animal para consumo humano y que cuentan con licencia sanitaria expedida por la Secretaría de Salud del estado de Oaxaca.
- Alimento marino: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición.
- Alimento marino crudo: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado en su estado natural.
- Alimento marino marinado sin calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado cocido utilizando la acción del ácido del jugo de limón.

- Alimento marino parcialmente cocido con calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado preparado de la siguiente manera: a) se calienta agua hasta alcanzar el punto de ebullición; b) se apaga la fuente de calor y se adiciona el alimento marino; c) se deja "ablandar" el alimento marino en el agua caliente durante 5 min; y d) se transfiere el alimento marino a un recipiente dejándolo reposar hasta enfriamiento. Este alimento se encuentra listo para ser utilizado en la preparación de cócteles y/o cebiches.
- Alimento marino completamente cocido con calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado cocido utilizando la acción del calor (asado a la parrilla, frito, vapor de agua, etcétera).

Técnicas y procedimientos

El Dr. Jorge Gabriel Armenta Silva, Jefe de la Jurisdicción Sanitaria de la Región Costa del estado de Oaxaca, proporcionó un listado de 38 establecimientos (coctelerías, pescaderías y restaurantes) que se especializan en la venta de alimentos marinos para consumo humano. Se realizó una primera visita a cada uno de los

establecimientos y se compiló una lista de 400 muestras de alimentos marinos que, según su método de preparación, fueron clasificados en crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor. Los establecimientos recibieron una segunda visita (en el período comprendido del 1 de marzo al 31 de agosto de 2011) durante la cual dichas muestras fueron obtenidas.

Cada muestra pesó aproximadamente 50 g; se almacenó individualmente en bolsa estéril de polietileno (Ziploc); y se conservó en refrigeración. El procesamiento de las muestras se realizó en el período comprendido del 1 de marzo al 31 de agosto de 2011.

Para la homogeneización y el enriquecimiento de cada muestra, así como para el aislamiento y la identificación de las especies *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* se procedió según la metodología descrita en la octava edición del Bacteriological Analytical Manual - Food and Drug Administration (Elliot *et al.* 1998 *In:* Merker 1998).

Homogeneización: con la ayuda de un bisturí estéril y de una pinza anatómica estéril con diente se pesaron 25 g en una caja estéril de Petri; se transfirieron a un vaso estéril de licuadora de 200 ml de capacidad; se agregaron 125 ml de caldo peptonado con 3% de NaCl; y se licuó el contenido a baja velocidad durante 1 min.

Enriquecimiento: se transfirió un ml de la suspensión resultante a un tubo de cultivo conteniendo 9 ml de caldo peptonado con 3% de NaCl; y se incubó a 35-37°C durante 18-24 hr.

Aislamiento: del crecimiento en la superficie se resemebró por estrías en una placa de agar Tiosulfato-Citrato-sales Biliares-Sacarosa (agar TCBS) y en una placa de agar modificado Celobiosa-Polimixina B-Colistina (agar mCPC); se incubó a 35-37°C durante 18-24 hr; de las colonias pigmentadas (de color amarillo o de color verde o de color púrpura) que desarrollaron se hicieron frotos para teñir por el método de Gram; cuando las

colonias estuvieron constituidas por bacilos Gram-negativos rectos o ligeramente curvos se realizó la prueba de la oxidasa como prueba presuntiva.

Identificación: a las colonias que pasaron satisfactoriamente la prueba presuntiva, es decir, que resultaron positivas a la prueba de la oxidasa, se les realizaron las siguientes pruebas bioquímicas complementarias: producción de arginina-deshidrolasa; descarboxilación de la ornitina; descarboxilación de la lisina; crecimiento en agar nutritivo con 0% de NaCl; crecimiento en agar nutritivo con 3% de NaCl; crecimiento en agar nutritivo con 6% de NaCl; crecimiento en agar nutritivo con 8% de NaCl; crecimiento en agar nutritivo con 10% de NaCl; crecimiento a 42°C (107.6°F); metabolismo fermentativo de la sacarosa; metabolismo fermentativo de la D-celobiosa; metabolismo fermentativo de la lactosa; metabolismo fermentativo de la arabinosa; metabolismo fermentativo de la D-manosa; metabolismo fermentativo del D-manitol; hidrólisis del o-nitro-β-D-galactopiranosido (ONPG); reacción de Voges-Proskauer; licuefacción de la gelatina; y fermentación del myo-inositol. En la Tabla II se presentan las características diferenciales (propiedades bioquímicas) de las especies más frecuentemente asociadas a enfermedades humanas relacionadas con el consumo de peces y mariscos. Las tablas también pueden encontrarse en varias publicaciones incluyendo Baumann & Schubert 1984 *In:* Krieg & Holt 1984, West *et al.* 1986, McLaughlin 1995 *In:* Murray *et al.* 1995, y Elliot *et al.* 1998 *In:* Merker 1998.

Se construyeron tablas de contingencia de 2x2 a partir de las cuales se calcularon las proporciones. Como prueba de hipótesis o prueba de significación estadística se utilizó el estadístico Ji-cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H}). Se utilizó el programa Epi Info para Windows, versión 7.1.4.0, para la obtención de los valores de la χ^2_{M-H} y de la probabilidad (p). El criterio aplicado en la realización de las pruebas de hipótesis para la diferencia entre dos proporciones se basó en las recomendaciones formuladas por Cochran en 1954: 1. cuando $n > 40$ utilice la prueba χ^2_{M-H} ; 2. cuando $20 \leq n \leq 40$

Tabla II. Características diferenciales o propiedades bioquímicas de *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*

Características diferenciales (propiedades bioquímicas)	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. carchariae</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. cincinnatiensis</i>	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. furnissii</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>
Agar TCBS	A	A	A	A	V	A	A	NC	A	V	V	V
Agar mCPC	NC	ND	P	ND	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	A
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Producción de arginina deshidrolasa	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
Descarboxilación de la ornitina	+	+	+	-	+/-	-	-	-	-	+	+	+
Descarboxilación de la lisina	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Crecimiento en agar nutritivo con 0% de NaCl	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Crecimiento en agar nutritivo con 3% de NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento en agar nutritivo con 6% de NaCl	+	+	-	+	+/-	+	+	+	+	-	+	+
Crecimiento en agar nutritivo con 8% de NaCl	+	+	-	-	-	+/-	+	-	+/-	-	+	-
Crecimiento en agar nutritivo con 10% de NaCl	+	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento a 42°C (107.6°F)	+	ND	+	-	-	+/-	-	+/-	+/-	+	+	+
Metabolismo fermentativo de la sacarosa	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
Metabolismo fermentativo de la D-celobiosa	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+/-	+
Metabolismo fermentativo de la lactosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Metabolismo fermentativo de la arabinosa	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-
Metabolismo fermentativo de la D-manosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metabolismo fermentativo del D-manitol	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+/-
ONPG	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+

Reacción de Voges-Proskauer	+	-	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Licuefacción de la gelatina	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Fermentación del myo-inositol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

FUENTE: Furniss *et al.* 1978, Ewing *et al.* 1979, Sakazaki 1979, Grimes *et al.* 1984, West & Colwell 1984, Brayton *et al.* 1986, Sakazaki & Shimada 1986, West *et al.* 1986, Madden *et al.* 1989, Oliver 1989

A= Colonias pigmentadas de color amarillo;

V= Colonias pigmentadas de color verde;

P= Colonias pigmentadas de color púrpura;

NC= No crecimiento;

+/-= Variable

utilice la prueba χ^2_{M-H} si, y sólo si, todas las frecuencias esperadas son ≥ 5 ; si en alguna celda se encuentra al menos una frecuencia esperada < 5 utilice, entonces, la prueba de la probabilidad exacta de Fisher (PPEF); y 3. cuando $n < 20$ utilice la PPEF.

$$\chi^2_{M-H} = [ad - bc / \sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)(N-1)}]^2$$

$$PPEF = (a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)! / n!a!b!c!d!$$

Se construyeron los intervalos de estimación al nivel de confianza del 95% para los porcentajes en las poblaciones de alimentos marinos con *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluviialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* (Daniel 2014).

Procesamiento de los datos

En la etapa de elaboración los datos fueron revisados (control de calidad de la información); clasificados (en escala cualitativa); computarizados [se utilizó el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para Windows, versión 8.0]; presentados (en tablas y en gráficas); y resumidos (se utilizaron las medidas de resumen correspondientes para datos clasificados en escala cualitativa). En las etapas de análisis e interpretación los datos fueron analizados e interpretados, respectivamente.

Resultados

Se estudiaron 400 muestras de alimentos marinos de 38 establecimientos que según sus métodos de preparación fueron clasificados

en crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor.

Las frecuencias absolutas y relativas y las frecuencias relativas de los alimentos marinos según variedades se presentan, respectivamente, en la Tabla III y en la Figura 1.

En la Tabla IV y en la Figura 2 se presentan, respectivamente, las frecuencias absolutas y relativas y las frecuencias relativas de los alimentos marinos según especies.

Las frecuencias absolutas y relativas y las frecuencias relativas de los alimentos marinos según métodos de preparación se presentan, respectivamente, en la Tabla V y en la Figura 3.

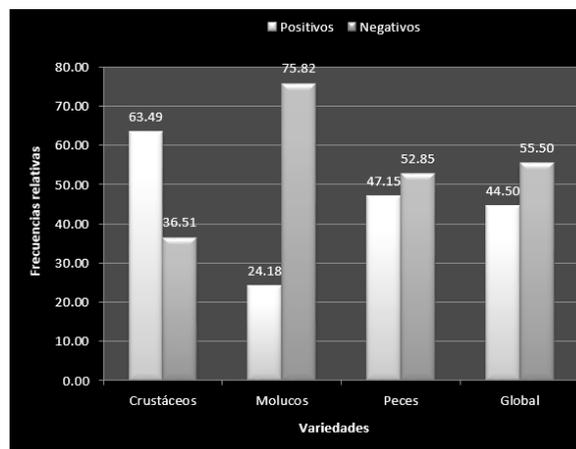
En la Tabla VI se presentan las ocho pruebas clave diferenciales para dividir las 12 especies clínicamente significativas del género *Vibrio* en seis grupos. El grupo uno se encuentra integrado por las especies *V. cholerae* y *V. mimicus* (crecimiento positivo en caldo nutritivo con 0% de NaCl; y crecimiento positivo en caldo nutritivo con 1% de NaCl); el grupo dos por la especie *V. metschnikovii* [prueba negativa de la oxidasa; y prueba negativa de reducción de nitratos (NO₃) a nitritos (NO₂)]; el grupo tres por la especie *V. cincinnatiensis* (fermentación positiva del myo-inositol); el grupo cuatro por la especie *V. hollisae* (producción negativa de arginina deshidrolasa; descarboxilación negativa de la lisina; y descarboxilación negativa de la ornitina); el grupo cinco por las especies *V. damsela*, *V. fluviialis* y *V. furnissii* (producción positiva de arginina deshidrolasa); y,

Tabla III. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas del género *Vibrio* en alimentos marinos según variedades. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011

Variedades	Totales	Género <i>Vibrio</i>	
		Positivos	Negativos
Crustáceos	63 (100.00%)	40 (63.49%)	23 (36.51%)
Moluscos	91 (100.00%)	22 (24.18%)	69 (75.82%)
Peces	246 (100.00%)	116 (47.15%)	130 (52.85%)
TOTALES	400 (100.00%)	178 (44.50%)	222 (55.50%)

FUENTE: Elaboración propia

Figura 1. Frecuencias relativas del género *Vibrio* en alimentos marinos según variedades. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011



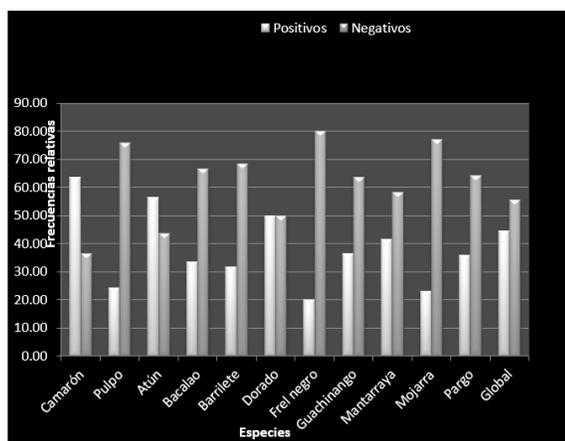
FUENTE: Tabla III

Tabla IV. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas del género *Vibrio* en alimentos marinos según especies. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011

Especies	Totales	Género <i>Vibrio</i>	
		Positivos	Negativos
Camarón	63 (100.00%)	40 (63.49%)	23 (36.51%)
Pulpo	91 (100.00%)	22 (24.18%)	69 (75.82%)
Atún	154 (100.00%)	87 (56.49%)	67 (43.51%)
Bacalao	6 (100.00%)	2 (33.33%)	4 (66.67%)
Barrilete	19 (100.00%)	6 (31.58%)	13 (68.42%)
Dorado	2 (100.00%)	1 (50.00%)	1 (50.00%)
Frel negro	15 (100.00%)	3 (20.00%)	12 (80.00%)
Guachinango	11 (100.00%)	4 (36.36%)	7 (63.64%)
Mantarraya	12 (100.00%)	5 (41.67%)	7 (58.33%)
Mojarra	13 (100.00%)	3 (23.08%)	10 (76.92%)
Pargo	14 (100.00%)	5 (35.71%)	9 (64.29%)
TOTALES	400 (100.00%)	178 (44.50%)	222 (55.50%)

FUENTE: Elaboración propia

Figura 2. Frecuencias relativas del género *Vibrio* en alimentos marinos según especies. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011



FUENTE: Tabla IV

Tabla V. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas del género *Vibrio* en alimentos marinos según métodos de preparación. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011

Métodos de preparación	Totales	Género <i>Vibrio</i>	
		Positivos	Negativos
Crudos	325 (100.00%)	161 (49.54%)	164 (50.46%)
Marinados sin calor	17 (100.00%)	6 (35.29%)	11 (64.71%)
Parcialmente cocidos con calor	18 (100.00%)	5 (27.78%)	13 (72.22%)
Completamente cocidos con calor	40 (100.00%)	6 (15.00%)	34 (85.00%)
TOTALES	400 (100.00%)	178 (44.50%)	222 (55.50%)

FUENTE: Elaboración propia

Tabla VI. Ocho pruebas clave diferenciales para dividir las doce especies clínicamente significativas del género *Vibrio* en seis grupos

Pruebas clave diferenciales	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
	<i>V. cholerae</i> <i>V. mimicus</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. cincinnatiensis</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. damsela</i> <i>V. fluvialis</i> <i>V. furnissii</i>	<i>V. alginolyticus</i> <i>V. parahaem</i> <i>V. vulnificus</i> <i>V. carchariae</i>
Crecimiento en caldo nutritivo con 0% de NaCl	+	+				
Crecimiento en caldo nutritivo con 1% de NaCl	+	+				
Prueba de la oxidasa			-			
Reducción de nitratos a nitritos			-			

Tabla VII. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluviialis*, *V. furnissii*, *V. hollissae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* según métodos de preparación. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/ marzo/2011-31/ agosto/2011

Especies del género Vibrio	Métodos de preparación				Global
	Crudos	Marinados sin calor	Parcialmente cocidos con calor	Completamente cocidos con calor	
<i>V. alginolyticus</i>	18 (5.54%)	1 (5.88%)	1 (5.56%)	2 (5.00%)	22 (5.50%)
<i>V. carchariae</i>	13 (4.00%)	0 (0.00%)	1 (5.56%)	0 (0.00%)	14 (3.50%)
<i>V. cholerae</i>	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
<i>V. cincinnatiensis</i>	9 (2.77%)	1 (5.88%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	10 (2.50%)
<i>V. damsela</i>	15 (4.62%)	0 (0.00%)	1 (5.56%)	0 (0.00%)	16 (4.00%)
<i>V. fluviialis</i>	12 (3.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	12 (3.00%)
<i>V. furnissii</i>	10 (3.08%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	10 (2.50%)
<i>V. hollissae</i>	14 (4.31%)	1 (5.88%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	15 (3.75%)
<i>V. metschnikovii</i>	11 (4.70%)	1 (5.88%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	12 (3.00%)
<i>V. mimicus</i>	16 (4.92%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	16 (4.00%)
<i>V. parahaemolyticus</i>	23 (7.08%)	0 (0.00%)	1 (5.56%)	2 (5.00%)	26 (6.50%)
<i>V. vulnificus</i>	20 (6.15%)	2 (11.76%)	1 (5.56%)	2 (5.00%)	25 (6.25%)

FUENTE: Elaboración propia

Tabla VIII. Valores del estadístico Ji-Cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H}), significancia [alfa (α)= 0.05; gl (grados de libertad)= 1] y frecuencias absolutas parciales/frecuencias absolutas totales y (frecuencias relativas) según contrastes de hipótesis de alimentos marinos crudos versus alimentos marinos marinados sin calor, alimentos marinos crudos versus alimentos marinos parcialmente cocidos con calor, alimentos marinos crudos versus alimentos marinos completamente cocidos con calor, alimentos marinados sin calor versus alimentos marinos parcialmente cocidos con calor, alimentos marinos marinados sin calor versus alimentos marinos completamente cocidos con calor y alimentos marinos parcialmente cocidos con calor versus alimentos marinos completamente cocidos con calor. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/ marzo/2011-31/ agosto/2011

Métodos de preparación	Estadístico Ji-Cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H})	Estadístico Ji-Cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H})	Frecuencias absolutas parciales/frecuencias absolutas totales y (frecuencias relativas)
Crudos versus marinados sin calor	1.31	> 0.05	161/325 (49.54%) versus 6/17 (35.29%)
Crudos versus parcialmente cocidos con calor	3.22	> 0.05	161/325 (49.54%) versus 5/18 (27.78%)
Crudos versus completamente cocidos con calor	17.07	< 0.05	161/325 (49.54%) versus 6/40 (15.00%)
Marinados sin calor versus parcialmente cocidos con calor	0.22	> 0.05	6/17 (35.29%) versus 5/18 (27.78%)
Marinados sin calor versus completamente cocidos con calor	2.90	> 0.05	6/17 (35.29%) versus (15.00%)
Parcialmente cocidos con calor versus completamente cocidos con calor	1.30	> 0.05	(27.78%) versus 6/40 (15.00%)

FUENTE: Elaboración propia

crudos y una (5.88%) de las 17 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor, presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. cincinnatiensis* en alimentos marinos fue 2.50% (10/400).

En la Tabla VII se presentan las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. damsela* según métodos de preparación. 15 (4.62%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos y una (5.56%) de las 18 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. damsela* en alimentos marinos fue 4.00% (16/400).

Las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. fluviialis* según métodos de preparación se presentan en la Tabla VII. 12 (3.69%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. fluviialis* en alimentos marinos fue 3.00% (12/400).

En la Tabla VII se presentan las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. furnissii* según métodos de preparación. 10 (3.08%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. furnissii* en alimentos marinos fue 2.50% (10/400).

Las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. hollisae* según métodos de preparación se presentan en la Tabla VII. 14 (4.31%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos y una (5.88%) de las 17 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. hollisae* en alimentos marinos fue 3.75% (15/400).

En la Tabla VII se presentan las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. metschnikovii* según métodos de preparación. 11 (4.70%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos y una (5.88%) de las 17 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados

sin calor, presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. metschnikovii* en alimentos marinos fue 3.00% (12/400).

Las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. mimicus* según métodos de preparación se presentan en la Tabla VII. 16 (4.92%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. mimicus* en alimentos marinos fue 4.00% (16/400).

En la Tabla VII se presentan las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *V. parahaemolyticus* según métodos de preparación. 23 (7.08%) de las 325 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos, una (5.56%) de las 18 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y dos (5.00%) de las 40 muestras etiquetadas como alimentos marinos completamente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. parahaemolyticus* en alimentos marinos fue 6.50% (26/400).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó la prevalencia obtenida en alimentos marinos crudos (49.54%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos marinados sin calor (35.29%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) < 3.84, p > 0.05$; la prevalencia obtenida en alimentos marinos crudos (49.54%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos parcialmente cocidos con calor (27.78%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) < 3.84, p > 0.05$; la prevalencia obtenida en alimentos marinos marinados sin calor (35.29%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos parcialmente cocidos con calor (27.78%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) < 3.84, p > 0.05$; la prevalencia obtenida en alimentos marinos marinados sin calor (35.29%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos completamente cocidos con calor (15.00%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) < 3.84, p > 0.05$; y la prevalencia obtenida en alimentos marinos parcialmente cocidos con calor (27.78%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos completamente cocidos con calor (15.00%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) < 3.84, p > 0.05$. Por otra parte, se encontró diferencia

estadísticamente significativa cuando se comparó la prevalencia obtenida en alimentos marinos crudos (49.54%) versus la prevalencia obtenida en alimentos marinos completamente cocidos con calor (15.00%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) \geq 3.84, p \leq 0.05$ (Tabla VIII).

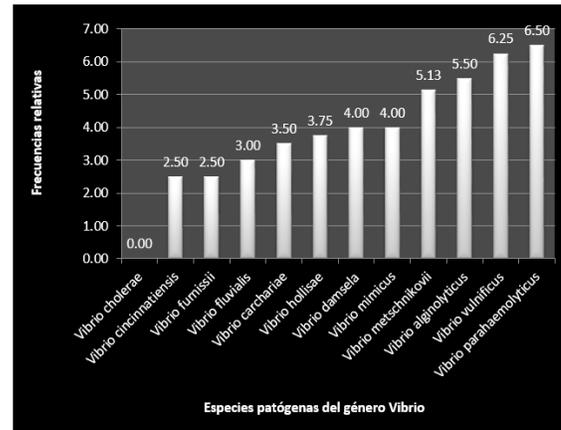
Con respecto a variedades la prevalencia obtenida en crustáceos (63.49%) fue más alta que la prevalencia obtenida en peces (47.15%) y la prevalencia obtenida en peces resultó más alta que la prevalencia obtenida en moluscos (24.18%). Se procedió a la comparación estadística de la prevalencia obtenida en crustáceos (63.49%) versus la prevalencia obtenida en moluscos (24.18%) encontrando diferencia estadísticamente significativa: $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) \geq 3.84, p \leq 0.05$. Cuando se comparó la prevalencia obtenida en crustáceos (63.49%) versus la prevalencia obtenida en peces (47.15%) se encontró diferencia estadísticamente significativa: $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) \geq 3.84, p \leq 0.05$. Finalmente, la comparación estadística de la prevalencia obtenida en moluscos (24.18%) versus la prevalencia obtenida en peces (47.15%) resultó con diferencia estadísticamente significativa: $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05; gl=1) \geq 3.84, p \leq 0.05$ (Tabla IX).

En la Figura 4 se presentan en orden ascendente las frecuencias relativas globales de las 12 especies de importancia clínica del género *Vibrio*. No hubo aislamiento de cepa alguna de la especie *V. cholerae*. Las prevalencias más baja y más alta corresponden, respectivamente, a

V. cincinnatiensis (2.50%) y a *V. parahaemolyticus* (6.50%).

Los intervalos de estimación de Cornfield al

Figura 4. Frecuencias relativas globales en orden ascendente de las doce especies de importancia clínica del género *Vibrio*. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011



FUENTE: Elaboración propia

nivel de confianza del 95% para los porcentajes en las poblaciones de alimentos marinos con *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* se presentan en la Tabla X.

Un estudio realizado en el total de muestras del total de establecimientos especializados en la venta de alimentos marinos para consumo

Tabla IX. Valores del estadístico Ji-Cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H}), significancia [alfa (α)= 0.05; gl (grados de libertad)= 1] y frecuencias absolutas parciales/frecuencias absolutas totales y (frecuencias relativas) según contrastes de hipótesis de crustáceos versus moluscos, crustáceos versus peces y moluscos versus peces. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011

Variedades	Estadístico Ji-Cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H})	Significancia alfa (α)= 0.05; gl (grados de libertad)= 1	Frecuencias absolutas parciales/frecuencias absolutas totales y frecuencias relativas
Crustáceos			40/63 (63.49%)
Crustáceos versus moluscos	23.77	< 0.05	Versus 22/91 (24.18%)
Crustáceos versus peces	23.77	< 0.05	40/63 (63.49%) versus 116/246 (47.15%)
Moluscos versus peces	14.46	< 0.05	22/91 (24.18%) Versus 116/246 (47.15%)

FUENTE: Elaboración propia

Tabla X. Intervalos de estimación de Cornfield al nivel de confianza del 95% según porcentajes en las poblaciones de alimentos marinos con *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*. Puerto Ángel, Oaxaca, México. 1/marzo/2011-31/agosto/2011

Especies del género <i>Vibrio</i>	Intervalos de estimación de Cornfield al nivel de confianza del 95%
<i>V. alginolyticus</i>	2.08% ≤ P ≤ 5.92%
<i>V. carchariae</i>	1.70% ≤ P ≤ 5.30%
<i>V. cholerae</i>	0.00% ≤ P ≤ 0.00%
<i>V. cincinnatiensis</i>	0.97% ≤ P ≤ 4.03%
<i>V. damsela</i>	2.08% ≤ P ≤ 5.92%
<i>V. fluvialis</i>	1.33% ≤ P ≤ 4.67%
<i>V. furnissii</i>	0.97% ≤ P ≤ 4.03%
<i>V. hollisae</i>	1.89% ≤ P ≤ 5.61%
<i>V. metschnikovii</i>	1.33% ≤ P ≤ 4.67%
<i>V. mimicus</i>	2.08% ≤ P ≤ 5.92%
<i>V. parahaemolyticus</i>	4.08% ≤ P ≤ 8.92%
<i>V. vulnificus</i>	3.88% ≤ P ≤ 8.62%

FUENTE: Elaboración propia

Tabla XI. Frecuencias absolutas y valores de significancia alfa (α)= 0.05; gl (grados de libertad)= 1 del género *Vibrio* en tres áreas geográficas según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México, 1/VIII/2009-31/III/2010; Puerto Ángel, Oaxaca, México, 1/III/2011-31/VIII/2011; Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México, 1/II/2011-31/I/2012

Métodos de preparación	Áreas geográficas	Frecuencias absolutas	Género <i>Vibrio</i>	
			Positivos	Negativos
Crudos	Isla del Carmen, Campeche, México	298	115 (38.59%)	183 (61.41%)
Crudos	Puerto Ángel, Oaxaca, México	325	161 (49.54%)	164 (50.46%)
Crudos	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	623	276 (44.30%)	347 (55.70%)
Marinados sin calor	Isla del Carmen, Campeche, México	8	2 (25.00%)	6 (75.00%)
Marinados sin calor	Puerto Ángel, Oaxaca, México	17	6 (35.29%)	11 (64.71%)
Marinados sin calor	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	25	8 (32.00%)	17 (68.00%)
Parcialmente cocidos con calor	Isla del Carmen, Campeche, México	77	24 (31.17%)	53 (68.83%)
Parcialmente cocidos con calor	Puerto Ángel, Oaxaca, México	18	5 (27.78%)	13 (72.22%)
Parcialmente cocidos con calor	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	95	29 (30.53%)	66 (69.47%)

Completamente cocidos con calor	Isla del Carmen, Campeche, México	7	2 (28.57%)	5 (71.43%)
Completamente cocidos con calor	Puerto Ángel, Oaxaca, México	40	6 (15.00%)	34 (85.00%)
Completamente cocidos con calor	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	47	8 (17.02%)	39 (82.98%)

FUENTE: Elaboración propia

Tabla XII. Frecuencias absolutas del género *Vibrio* en tres áreas geográficas según variedades. Isla del Carmen, Campeche, México, 1/VIII/2009-31/III/2010; Puerto Ángel, Oaxaca, México, 1/III/2011-31/VIII/2011; Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México, 1/II/2011-31/I/2012

Variedades	Áreas geográficas	Frecuencias absolutas	Género <i>Vibrio</i>	
			Positivos	Negativos
Crustáceos	Isla del Carmen, Campeche, México	116	49 (42.24%)	67 (57.76%)
Crustáceos	Puerto Ángel, Oaxaca, México	63	40 (63.49%)	23 (36.51%)
Crustáceos	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	179	89 (49.72%)	90 (50.28%)
Moluscos	Isla del Carmen, Campeche, México	102	63 (61.76%)	39 (38.24%)
Moluscos	Puerto Ángel, Oaxaca, México	91	22 (24.18%)	69 (75.82%)
Moluscos	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	193	85 (44.04%)	108 (55.96%)
Peces	Isla del Carmen, Campeche, México	166	39 (23.49%)	127 (76.51%)
Peces	Puerto Ángel, Oaxaca, México	246	116 (47.15%)	130 (52.85%)
Peces	Ciudad y Puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México	412	155 (37.62%)	257 (62.38%)

FUENTE: Elaboración propia

humano en Isla del Carmen, Campeche, México, en el período comprendido del 1 de agosto de 2009 al 31 de marzo de 2010 reportó los siguientes resultados: 298 (76.41%) crudos, 8 (2.05%) marinados sin calor, 77 (19.74%) parcialmente cocidos con calor y 7 (1.79%) completamente cocidos con calor (Franco-Monsreal *et al.* 2011). Un segundo estudio realizado en el total de muestras del total de establecimientos especializados en la venta

de alimentos marinos para consumo humano en la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México, en el período comprendido del 1 de febrero de 2011 al 31 de enero de 2012 reportó los siguientes resultados: 623 (78.86%) crudos, 25 (3.16%) marinados sin calor, 95 (12.03%) parcialmente cocidos con calor y 47 (5.95%) completamente cocidos con calor (Franco en prep.). Finalmente, el presente estudio realizado en el total de muestras del

total de establecimientos especializados en la venta de alimentos marinos para consumo humano en Puerto Ángel, Oaxaca, México, en el período comprendido del 1 de marzo al 31 de agosto de 2011 reportó los siguientes resultados: 325 (81.25%) crudos, 17 (4.25%) marinados sin calor, 18 (4.50%) parcialmente cocidos con calor y 40 (10.00%) completamente cocidos con calor. Cuando se compararon las prevalencias de los alimentos marinos crudos en las tres áreas geográficas únicamente se encontró diferencia estadísticamente significativa entre Isla del Carmen, Campeche, México y Puerto Ángel, Oaxaca, México: $\chi^2_{M-H}(\alpha= 0.05; gl= 1) \geq 3.84; p \leq 0.05$. Se procedió también al contraste de hipótesis entre los alimentos marinos marinados sin calor, entre los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y entre los alimentos marinos completamente cocidos con calor en las tres áreas geográficas no encontrando diferencias estadísticamente significativas: $\chi^2_{M-H}(\alpha= 0.05; gl= 1) < 3.84; p > 0.05$ (Tabla XI). Con respecto a variedades (crustáceos, moluscos y peces), se compararon las prevalencias de los crustáceos en las tres áreas geográficas encontrando diferencia estadísticamente significativa únicamente entre Isla del Carmen, Campeche, México y Puerto Ángel, Oaxaca, México: $\chi^2_{M-H}(\alpha= 0.05; gl= 1) \geq 3.84; p \leq 0.05$. Se procedió, entonces, al contraste de hipótesis entre los moluscos y entre los peces en las tres áreas geográficas encontrando diferencias estadísticamente significativas: $\chi^2_{M-H}(\alpha= 0.05; gl= 1) \geq 3.84; p \leq 0.05$ (Tabla XII).

Discusión

La más alta frecuencia relativa o tasa de positividad (49.54%) del género *Vibrio* fue observada en los alimentos marinos crudos. Con base en las definiciones operacionales de las variables, los alimentos marinos crudos son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban en su estado natural. En consecuencia, el resultado observado corresponde al resultado esperado debido a que la probabilidad de aislamiento es alta cuando el alimento no ha sido expuesto a la acción del calor.

En segundo lugar se tiene la frecuencia relativa o tasa de positividad (35.29%) del género

Vibrio observada en los alimentos marinos marinados sin calor. Con base en las definiciones operacionales de las variables, los alimentos marinos marinados sin calor son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban cocidos mediante la acción del ácido del jugo de limón. Por ende, el resultado observado corresponde al resultado esperado toda vez que son alimentos que no han sido expuestos a la acción del calor.

En tercer lugar se tiene la frecuencia relativa o tasa de positividad (27.78%) del género *Vibrio* observada en los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor. Con base en las definiciones operacionales de las variables, los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban cocidos mediante un proceso de "ablandamiento" en el que se utiliza agua caliente durante 5 min. Subsiguientemente, el resultado observado corresponde al resultado esperado y la frecuencia relativa o tasa de positividad observada puede ser explicada porque el procedimiento utilizado para "ablandar" el alimento no es suficiente para destruir al microorganismo –suposición apoyada por un estudio publicado en 1973 por Peffers et al. en el cual se reporta la viabilidad de los microorganismos después de haber mantenido a un crustáceo en agua en ebullición durante 5 min previa inoculación de 0.1 ml de caldo de cultivo.

Finalmente, en cuarto lugar se tiene la frecuencia relativa o tasa de positividad (15.00%) del género *Vibrio* observada en los alimentos marinos completamente cocidos con calor. Con base en las definiciones operacionales de las variables, los alimentos marinos completamente cocidos con calor son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban cocidos mediante la acción del calor. Conformemente, el resultado observado no corresponde al resultado esperado porque la probabilidad de aislamiento es nula cuando el alimento se ha preparado mediante una adecuada exposición a la acción del calor y la frecuencia relativa o tasa de positividad observada puede ser explicada porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador ya sea por

contaminación cruzada en las cocinas desde otros alimentos, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador asintomático –suposición apoyada por los estudios de Fujino (1967), de Pérez-Memije et al. (1980) y de Franco & Flores (1988) en los cuales se reporta entre 0.68% y 3.30%, 0.72% y 3.85%, respectivamente, de manipuladores de alimentos marinos que excretan al microorganismo en sus heces.

Conclusiones

Con fundamento en el estudio realizado por Pavia *et al.* en 1989 (Tabla I) se concluye:

Los alimentos marinos crudos, los alimentos marinos marinados sin calor, los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y los alimentos marinos completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. alginolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria;

Los alimentos marinos crudos y los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. carchariae* para el desarrollo de infección de herida;

Los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor no representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. cholerae* O1 para el desarrollo de gastroenteritis aguda e infección de herida;

Los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor no representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. cholerae* no-O1 para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria;

Los alimentos marinos crudos y los alimentos marinos marinados sin calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. cincinnatiensis* para el desarrollo de septicemia primaria;

Los alimentos marinos crudos y los alimentos

marinos parcialmente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. damsela* para el desarrollo de infección de herida;

Los alimentos marinos crudos representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. fluvialis* para el desarrollo de gastroenteritis aguda;

Los alimentos marinos crudos representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. furnissii* para el desarrollo de gastroenteritis aguda;

Los alimentos marinos crudos y los alimentos marinos marinados sin calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. hollisae* para el desarrollo de gastroenteritis aguda y septicemia primaria;

Los alimentos marinos crudos y los alimentos marinos marinados sin calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. metschnikovii* para el desarrollo de gastroenteritis aguda y septicemia primaria;

Los alimentos marinos crudos representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. mimicus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda e infección de oído;

Los alimentos marinos crudos, los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y los alimentos marinos completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. parahaemolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria;

Los alimentos marinos crudos, los alimentos marinos marinados sin calor, los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y los alimentos marinos completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por la especie *V. vulnificus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, septicemia primaria y septicemia secundaria;

En orden descendente las frecuencias o tasas de positividad obtenidas en crustáceos, peces y moluscos fueron 63.49%, 47.15% y 24.18%, respectivamente. Por tanto, el riesgo de

enfermar es 1.35 veces mayor en crustáceos con respecto a peces; 2.63 veces mayor en crustáceos con respecto a moluscos; y 1.95 veces mayor en peces con respecto a moluscos.

Siempre en orden descendente las frecuencias o tasas de positividad del género *Vibrio* obtenidas en alimentos marinos crudos, alimentos marinos marinados sin calor, alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y alimentos marinos completamente cocidos con calor fueron 49.54%, 35.29%, 27.78% y 15.00%, respectivamente. Por tanto, el riesgo de enfermar es 1.40 veces mayor en alimentos marinos crudos con respecto a alimentos marinos marinados sin calor; 1.78 veces mayor en alimentos marinos crudos con respecto a alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; y 3.30 veces mayor en alimentos marinos crudos con respecto a alimentos marinos completamente cocidos con calor.

Asimismo, el riesgo de enfermar es 1.27 veces mayor en alimentos marinos marinados sin calor con respecto a alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; y 2.35 veces mayor en alimentos marinos marinados sin calor con respecto a alimentos marinos completamente cocidos con calor. Por último, el riesgo de enfermar es 1.85 veces mayor en alimentos marinos parcialmente cocidos con calor con respecto a alimentos marinos completamente cocidos con calor.

Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se recomienda la elaboración de un programa de educación para la salud con el objetivo de fomentar en la población de Puerto Ángel, Oaxaca, México, el desarrollo de actitudes y conductas que le permitan participar en la prevención de enfermedades individuales y colectivas para protegerse de esta manera de los riesgos que pongan en peligro su salud; la ejecución de un control sanitario integral de establecimientos (coctelerías, pescaderías y restaurantes) que expendan alimentos marinos para consumo humano; y la continuación de estudios relacionados con las 12 especies de importancia clínica del género *Vibrio*. En síntesis, es recomendable continuar

la presente investigación con un estudio que tenga como objetivo la búsqueda -tanto en las heces como en los sueros de los manipuladores de alimentos marinos de coctelerías, pescaderías y restaurantes de Puerto Ángel, Oaxaca, México- de las 11 especies encontradas del género *Vibrio*.

Lo anterior debe ocupar la atención de las autoridades correspondientes con el objeto de continuar con la realización de estudios relacionados a este respecto. Asimismo, si hasta la fecha no ha sido considerado como un problema de salud pública es conveniente tenerlo presente con el objeto de prevenir problemas sanitarios que pudieren en algún momento repercutir en la salud de la población consumidora de Puerto Ángel, Oaxaca, México.

Referencias

- Ahsan, C.R., S.C. Sanyal, A. Zaman, P.K.B. Neogy & M.I. Huq. 1988a. Immunobiological relationships between *Vibrio fluvialis* and *Vibrio cholerae* enterotoxins. *Immunology and Cell Biology* 66(3): 251-2.
- Ahsan, N., R.L. Conter & P.C. Appelbaum. 1988b. Postoperative wound infection associated with *Vibrio parahaemolyticus* in a patient without exposure to seawater. *Journal of Clinical Microbiology* 26(6): 1214-5.
- Amaro, C., E.G. Biosca, B. Fouz, E. Alcaide & C. Esteve. 1995. Evidence that water transmits *Vibrio vulnificus* biotype 2 infections to eels. *Applied and Environmental Microbiology* 61(3): 1133-7.
- Arnold, M., M.L. Woo & G.L. French. 1989. *Vibrio vulnificus* septicaemia presenting as spontaneous necrotising cellulitis in a woman with hepatic cirrhosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 21(6): 727-31.
- Austin, B. 2010. Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary Microbiology* 140(3-4): 310-7.
- Baffone, W., R. Tarsi, L. Pane, R. Campana, B. Repetto, G.L. Mariottini & C. Pruzzo. 2006. Detection of free-living and plankton-bound vibrios in coastal waters of the Adriatic Sea (Italy) and study of their pathogenicity associated properties. *Environmental Microbiology* 8(7): 1299-1305.
- Baumann, P. & R.H.W. Schubert. 1984. Family II. *Vibrionaceae*. pp. 516-50 In: Krieg, N.R. & J.G. Holt (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins Co., Baltimore/London.
- Bellet, J., B. Klein, M. Altieri & D. Ochsenschlager. 1989. *Vibrio fluvialis*, an unusual pediatric enteric pathogen. *Pediatric Emergency Care* 5(1): 27-8.

- Biosca, E.G., C. Amaro, E. Marco-Noales & J.D. Oliver. 1996. Effect of low temperature on starvation-survival of the eel pathogen *Vibrio vulnificus* biotype 2. *Applied and Environmental Microbiology* 62(2): 450-5.
- Bisharat, N., V. Agmon, R. Finkelstein, R. Raz, G. Bendror, L. Lemer, S. Soboh, R. Colodner, D.N. Cameron, D.L. Wykstra, D.L. Swerdlow & J.J. III Farmer. 1999. Clinical, epidemiological and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. *Lancet* 354(9188): 1421-4.
- Blake, P.A., R.E. Weaver & D.G. Hollis. 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios. *Annual Review of Microbiology* 34(2): 341-67.
- Brayton, P.R., R.B. Bode, R.R. Colwell, M.T. MacDonell, H.L. Hall, D.J. Grimes, P.A. West & T.N. Bryant. 1986. *Vibrio cincinnatiensis* sp. nov., a new human pathogen. *Journal of Clinical Microbiology* 23(1): 104-8.
- Brenner, D.J., F.W. Hickman-Brenner, J.V. Lee, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, D.G. Hollis, J.J. III Farmer, R.E. Weaver, S.W. Joseph & R.J. Seidler. 1983. *Vibrio furnissii* (formerly aerogenic biogroup of *Vibrio fluvialis*), a new species isolated from human feces and the environment. *Journal of Clinical Microbiology* 18(4): 816-24.
- Bryan, F.L. 1978. Factors that contribute to outbreaks of foodborne disease. *Journal of Food Protection* 41(10): 816-27.
- Castillo, L.E., D.L. Winslow & G.A. Pankey. 1981. Wound infection and septic shock due to *Vibrio vulnificus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30(4): 844-8.
- Chowdhury, M.A., K.M. Aziz, B.A. Kay & Z. Rahim. 1987. Toxin production by *Vibrio mimicus* strains isolated from human and environmental sources in Bangladesh. *Journal of Clinical Microbiology* 25(11): 2200-3.
- Chuang, Y.G., C. Young & C.W. Chen. 1989. *Vibrio vulnificus* infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 21(6): 721-6.
- Cochran, W.G. 1954. Some methods for strengthening the common χ^2 tests. *Biometrics* 10(4): 417-51.
- Coffey, J.A., R.L. Harris, M.L. Rutledge, M.W. Bradshaw & T.W. Williams. 1986. *Vibrio damsela*: another potentially virulent marine *Vibrio*. *The Journal of Infectious Diseases* 153(4): 800-2.
- Daniel, W.W. 2014. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta edición. México, D.F. Editorial Limusa. pp. 91-2, 143-4.
- Davis, B.R., G.R. Fanning, J.M. Madden, A.G. Steigerwalt, H.B. Bradford, H.L. Smith & D.J. Brenner. 1981. Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. *Journal of Clinical Microbiology* 14(6): 631-9.
- Drona, F., R. Canton, G.R.F. Selman & M. Martínez-Ferrer. 1991. *Vibrio alginolyticus* y otitis externa del nadador. Dos casos y revisión de la literatura. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 9(10): 630-3.
- Edouard, S., A. Daumas, S. Branger, J.M. Durand, D. Raoult & P.E. Fournier. 2009. *Grimontia hollisae*, a potential agent of gastroenteritis and bacteraemia in the Mediterranean area. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 28(6): 705-7.
- Elliot, E.L., C.A. Kaysner, L. Jackson & M.L. Tamplin. 1998. *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* spp. In: Merker, R.L. (ed.), *Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual*. 8th ed. (revision A). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Espat, N.J., T. Auffenberg, A. Abouhamze, J. Baumhofer, L.L. Moldawer & R.J. Howard. 1996. A role for tumor necrosis factor-alpha in the increased mortality associated with *Vibrio vulnificus* infection in the presence of hepatic dysfunction. *Annals of Surgery* 223(4): 428-33.
- Ewing, W.H., K.M. Tomfohrde & P.J. Naudo. 1979. Isolation and identification of *Vibrio cholerae* and certain related vibrios: an outline of methods. *Species* 2(3): 10-22.
- Flores-Abuxapqui, J.J., G.J. Suárez-Hoil, M.Á. Puc-Franco, M.R. Heredia-Navarrete & J. Franco-Monsreal. 1996. Calidad microbiológica de los alimentos marinos en la ciudad de Mérida, Yucatán. *Veterinaria-México* 27(4): 319-24.
- Fouz, B., A.E. Toranzo, E.G. Biosca, R. Mazoy & C. Amaro. 1994. Role of iron in the pathogenicity of *Vibrio damsela* for fish and mammals. *FEMS Microbiology Letters* 121(2): 181-8.
- Franco-Monsreal, J. & J.J. Flores-Abuxapqui. 1988. Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en productos marinos y en heces de manipuladores de alimentos. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 30(4): 223-7.
- Franco-Monsreal, J. & J.J. Flores-Abuxapqui. 1989. Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en alimentos marinos de restaurantes de la ciudad de Mérida, Yucatán. *Salud Pública de México* 31(3): 314-25.
- Franco-Monsreal, J., J.J. Flores-Abuxapqui, G.J. Suárez-Hoil & J.E. Zavala-Velázquez. 1991. Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en alimentos marinos de restaurantes en Mérida, Yucatán, México. *Revista Biomédica* 2(4): 217-30.
- Franco-Monsreal, J., J.J. Flores-Abuxapqui, G.J. Suárez-Hoil, M.Á. Puc-Franco, M.R. Heredia-Navarrete & M.L. Vivas-Rosel. 1999a. Prevalencia de *Aeromonas hydrophila* en alimentos marinos de origen animal

- de restaurantes de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. *Higiene* 3(1): 144-54.
- Franco-Monsreal, J., J.J. Flores-Abuxapqui, G.J. Suárez-Hoil, M.Á. Puc-Franco, M.R. Heredia-Navarrete & M.L. Vivas-Rosel. 1999b. Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en alimentos marinos de origen animal de restaurantes de la ciudad de Chetumal, Quintana Roo, México. *Higiene* 8(1): 79-90.
- Franco-Monsreal, J., T. Rufino-Medina & A.L. Zarza-García. 2011. Especies patógenas del género *Vibrio* en alimentos marinos en establecimientos de Isla del Carmen, Campeche, México. Editorial Académica Española. Alemania. pp. 4-70.
- Fouz, B., F.J. Roig & C. Amaro. 2007. Phenotypic and genotypic characterization of a new fish-virulent *Vibrio vulnificus* serovar that lacks potential to infect humans. *Microbiology* 153(6): 1926-34.
- Fujino, T., Y. Okuno, D. Nakada, A. Aoyoma, K. Fukai, T. Mukai & T. Ueho. 1953. On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. *Medical Journal of Osaka University* 4(2): 299-304.
- Fujino, T.T. 1967. Report of the food hygiene subcommittee on *Vibrio parahaemolyticus*. pp: 673-725 In: Fujino, T. & H. Fukumi (eds.), *Vibrio parahaemolyticus*. Nayashoten.
- Furniss, A.L., J.V. Lee & T.J. Donovan. 1978. The vibrios. Public Health Service Monograph Series No. 11. Her Majesty's Stationery Office, London. pp. 1-57.
- Gamaleia, M.N. 1888. *Vibrio metschnikovii* (n. sp.) et ses rapports avec le microbe du choléra asiatique. *Annales de L'Institut Pasteur (Paris)* 2(3): 482-8.
- Garrity, G.M., J.A. Bell & T.G. Lilburn. 2004. Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. pp. 112-3.
- Ghosh, H.K. & T.E. Bowen. 1980. Halophilic vibrios from human tissue infections on the pacific coast of Australia. *Pathology* 12(3): 397-402.
- Grimes, D.J., J. Stemmler, H. Hada, E.B. May, D. Maneval, F.M. Hetrick, R.T. Jones, M. Stoskopf & R.R. Colwell. 1984. *Vibrio species* associated with mortality of sharks held in captivity. *Microbial Ecology* 10(3): 271-82.
- Hansen, W., F. Crokaert & E. Yourassowsky. 1979. Two strains of *Vibrio species* with unusual biochemical features isolated from ear tracts. *Journal of Clinical Microbiology* 9(1): 152-3.
- Hansen, W., J. Freney, H. Benyagoub, M.N. Letouzey, J. Gigi & G. Wauters. 1993. Severe human infections caused by *Vibrio metschnikovii*. *Journal of Clinical Microbiology* 31(9): 2529-30.
- Hickman, F.W., J.J. III Farmer, D.G. Hollis, G.R. Fanning, A.G. Steigerwalt, R.E. Weaver & D.J. Brenner. 1982. Identification of *Vibrio hollisae* sp. nov., from patients with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 15(3): 395-401.
- Hlady, W.G. & K.C. Klontz. 1996. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *The Journal of Infectious Diseases* 173(5): 1176-83.
- Hodge, T.W., C.S. Levy & M.A. Smith. 1995. Diarrhea associated with *Vibrio fluvialis* infection in a patient with AIDS. *Clinical Infectious Diseases* 21(1): 237-8.
- Hoge, C.W., D. Watsky, R.N. Peeler, J.P. Libonati, E. Israel & J.G. Morris. 1989. Epidemiology and spectrum of *Vibrio* infections in a Chesapeake Bay community. *The Journal of Infectious Diseases* 160(6): 985-93.
- Hornstrup, M.K. & B. Gahrn-Hansen. 1993. Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish county, 1987-1992. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 25(6): 735-40.
- Howard, R.J., M.E. Pessa, B.H. Brennaman & R. Ramphal. 1985. Necrotizing soft-tissue infections caused by marine vibrios. *Surgery* 98(1): 126-30.
- Hsu, G.J., T. Young, M.Y. Peng, F.Y. Chang & M.Y. Chou. 1993. Septicemia caused by *Vibrio parahaemolyticus*: a case report. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 52(5): 351-4.
- Huq, M.I., A.K. Alam, D.J. Brenner & G.K. Morris. 1980. Isolation of *Vibrio*-like group, EF-6, from patients with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 11(6): 621-4.
- Janda, J.M. & R.G. Bryant. 1987. Pathogenic *Vibrio* spp.: An organism group of increasing medical significance. *Clinical Microbiology Newsletter* 9(7): 49-53.
- Janda, J.M., C. Powers, R.G. Bryant & S.L. Abbott. 1988. Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. *Clinical Microbiology Reviews* 1(3): 245-67.
- Jean-Jacques, W., K.R. Rajashekaraiyah, J.J. III Farmer, F.W. Hickman, J. Glenn-Morris & Charles A. Kallick. 1981. *Vibrio metschnikovii* bacteremia in a patient with cholecystitis. *Journal of Clinical Microbiology* 14(6): 711-2.
- Johnson, D.E., L. Weinberg, J. Ciarkowski, P. West & R.R. Colwell. 1984. Wound infection caused by Kanagawa-negative *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Clinical Microbiology* 20(4): 811-2.
- Johnston, J.M., S.F. Becker & L.M. McFarland. 1986. Gastroenteritis in patients with stool isolates of *Vibrio vulnificus*. *The American Journal of Medicine* 80(2): 336-8.
- Jones, M.K. & J.D. Oliver. 2009. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infection and Immunity* 77(5): 1723-33.
- Joseph, S.W., R.R. Colwell & J.B. Kaper. 1982. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios. *Critical Reviews in Microbiology* 10(1): 77-124.

- Katz, B.Z. 1988. *Vibrio vulnificus* meningitis in a boy with thalassemia after eating raw oysters. *Pediatrics* 82(5): 784-6.
- Kelly, M.T. & E.M. Stroh. 1988. Temporal relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in patients and the environment. *Journal of Clinical Microbiology* 26(9): 1754-6.
- Kelly, M.T., F.W. Hickman-Brenner & J.J. III Farmer. 1991. *Vibrio*. pp: 389 In: Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg & H.J. Shadomy (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Klontz, K.C., S. Lieb, M. Schreiber, H.T. Janowsky, L.M. Baldy & R.A. Gunn. 1988. Syndromes of *Vibrio vulnificus* infections. Clinical and epidemiologic features in Florida cases, 1981-1987. *Annals of Internal Medicine* 109(4): 318-23.
- Kreger, A.S. 1984. Cytolytic activity and virulence of *Vibrio damsela*. *Infection and Immunity* 44(2): 326-31.
- Lee, J.V., P. Shread, A.L. Furniss & T.N. Bryant. 1981. Taxonomy and description of *Vibrio fluvialis* sp. nov. (Synonym Group F Vibrios, Group EF6). *Journal of Applied Microbiology* 50(1): 73-94.
- Love, M., D. Teebken-Fisher, J.E. Hose, J.J. III Farmer, F.W. Hickman & G.R. Fanning. 1981. *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish *Chromis punctipinnis*. *Science* 214(4525):1139-40.
- Madden, J.M., B.A. McCardell & J.G. Morris. 1989. *Vibrio cholera*. pp. 525-42 In: Doyle, M.P. (ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, New York.
- Mahmud, Z.H., S.B. Neogi, A. Kassu, B.T. Mai Huong, I.K. Jahid, M.S. Islam & F. Ota. 2008. Occurrence, seasonality and genetic diversity of *Vibrio vulnificus* in coastal seaweeds and water along the Kii Chanel, Japan. *FEMS Microbiology Ecology* 64(2): 209-18.
- Mataix-Verdú, J. 2014. *Vibrio*. In: *Transmisión de Microorganismos Patógenos en Alimentos*. Fundación Universitaria Iberoamericana. España. pp. 20-22.
- McLaughlin, J.C. 1995. *Vibrio*. pp: 465-74 In: Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover & R.H. Tenover (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed., ASM Press, Washington.
- Mhalu, F.S., A.M. Yusufali, J. Mbwana & R. Nyambo. 1982. Cholera-like diseases due to *Vibrio parahaemolyticus*. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85(4): 169-71.
- Miyamoto, Y., K. Nakamura & K. Takizawa. 1961. Pathogenic halophiles. Proposals of a new genus "*Oceanomonas*" and of the amended species names. *Japanese Journal of Microbiology* 5(4): 477-86.
- Morris, J.G., R. Wilson, D.G. Hollis, R.E. Weaver, H.G. Miller, C.O. Tacket, F.W. Hickman & P.A. Blake. 1982. Illness caused by *Vibrio damsela* and *Vibrio holli-sae*. *The Lancet* 319(8284): 1294-7.
- Morris, J.G. & R.E. Black. 1985. Cholera and other vibrios in the United States. *The New England Journal of Medicine* 312(6): 343-50.
- Nip-Sakamoto, C.J. & F.D. Pien. 1989. *Vibrio vulnificus* infection in Hawaii. *International Journal of Dermatology* 28(5): 313-6.
- Oliver, J.D. 1989. *Vibrio vulnificus*. pp: 569-600 In: Doyle, M.P. (ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, New York.
- Oliver, J.D. & R. Bockian. 1995. In vivo resuscitation, and virulence towards mice, of viable but nonculturable cells of *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology* 61(7): 2620-3.
- Pacini, F. 1854. Osservazioni microscopiche e deduzioni patologiche sul cholera asiatico. *Gazette Medicale de Italiana Toscano Firenze* 6(1): 405-12.
- Pavia, A.T., J.A. Bryan, K.L. Maher, T.R. Hester & J.J. III Farmer. 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. *Annals of Internal Medicine* 111(1): 85-6.
- Peffer, A.S.R., J. Bailey, G.I. Barrow & B.C. Hobbs. 1973. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis and international air travel. *The Lancet* 301(7795): 143-5.
- Pérez-Memije, E., M.L. Vélez-González & F. Galván-Rodríguez. 1980. Búsqueda de *Vibrio parahaemolyticus* en heces de manejadores de alimentos en el puerto de Acapulco, Guerrero. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 22(1): 18.
- Pérez, J.L., M. Cabré, L. Riera, R. Prú & C.I. Berrocal. 1987. Gastroenteritis por *Vibrio parahaemolyticus* asociada a consumo de ostras. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 5(2): 160-3.
- Pien, F., K. Lee & H. Higa. 1977. *Vibrio alginolyticus* infections in Hawaii. *Journal of Clinical Microbiology* 5(6): 670-2.
- Puy, H., B. Canarelli, E. Denamur, V. Strunsky & J. Orfila. 1989. Otitis caused by *Vibrio alginolyticus*. *Presse Médicale* 18(19): 985.
- Reichert, J.L., P. Baumann & L. Baumann. 1976. Study of genetic relationships among marine species of the genera *Beneckea* and *Photobacterium* by means of *in vitro* DNA/DNA hybridization. *Archives of Microbiology* 110(1): 101-20.
- Revillo, M.J., B. Moles, E. Lomba, A. Esteban & M.J. Aldea. 1988. Aislamiento de *Vibrio mimicus* en muestras clínicas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 6(5): 189-202.
- Revista del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición No. 12. Madrid, 2010. Gobierno de España. Ministerio de Sanidad y Política Social. 1-134.
- Rippey, S.R. 1994. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clinical Microbiology Reviews* 7(4): 419-25.

- Sabapathi, R. 1988. *Vibrio vulnificus* and pulmonary infection. *Annals of Internal Medicine* 109(12): 988-9.
- Sakazaki, R., K. Tamura, T. Kato, Y. Obara & S. Yamai. 1968. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*. 3. Enteropathogenicity. *Japanese Journal of Medical Science & Biology* 21(5): 325-31.
- Sakazaki, R. 1979. *Vibrio infections*. pp: 173-209 In: Riemann, H. & R. Bryan (eds.), *Foodborne Infections and Intoxications*. 2nd ed., Academic Press, New York.
- Sanyal, S.C., M.I. Huq, P.K.B. Neogy, K. Alam, M.I. Kabir & A.S.M.H. Rahaman. 1984. Experimental studies on the pathogenicity of *Vibrio mimicus* strains isolated in Bangladesh. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 62(Pt 4): 515-21.
- Shandera, W.X., J.M. Johnston, B.R. Davis & P.A. Blake. 1983. Disease from infection with *Vibrio mimicus*, a newly recognized *Vibrio* species: clinical characteristics and epidemiology. *Annals of Internal Medicine* 99(2): 169-71.
- Tacket, C.O., T.J. Barrett, G.E. Sanders & P.A. Blake. 1982a. Panophthalmitis caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Clinical Microbiology* 16(1): 195-6.
- Tacket, C.O., F. Hickman, G.V. Pierce & L.F. Mendoza. 1982b. Diarrhea associated with *Vibrio fluvialis* in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 16(5): 991-2.
- Tacket, C.O., F. Brenner & P.A. Blake. 1984. Clinical features and an epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infections. *The Journal of Infectious Diseases* 149(4): 558-61.
- Tison, D.L. & M.T. Kelly. 1984. *Vibrio vulnificus* endometritis. *Journal of Clinical Microbiology* 20(2): 185-6.
- Tsujimoto, M., T. Kitaoka, Y. Nakae, A. Morimoto, Y. Sasaoka, M. Matsumoto, K. Kamada, Y. Yoshimura, A. Nakayama & T. Honda. 1994. A case of cardiogenic shock caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Kansenshogaku Zasshi* 68(1): 163-7.
- Vartian, C.V. & E.J. Septimus. 1990. Osteomyelitis caused by *Vibrio vulnificus*. *The Journal of Infectious Diseases* 161(2): 363.
- West, P.A., P.R. Brayton, T.N. Bryant & R.R. Colwell. 1986. Numerical taxonomy of *Vibrios* isolated from aquatic environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 36(4): 531-43.
- West, P.A. 1989. The human pathogenic vibrios--a public health update with environmental perspectives. *Epidemiology and Infection* 103(1): 1-34.
- Yuen, K.Y., L. Ma, S.S.Y. Wong & W.F. Ng. 1993. Fatal necrotizing fasciitis due to *Vibrio damsela*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 25(5): 659-61.
- Zen-Yoji, H., R.A. Le Clair, K. Ota & T.S. Montague. 1973. Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* cultures isolated in the United States with those isolated in Japan. *The Journal of Infectious Diseases* 127(3): 237-41.

Recibido: 26 de Marzo de 2014

Aceptado: 22 de Marzo de 2015