

Especies patógenas del género *Vibrio* en alimentos marinos de establecimientos de Isla del Carmen, Campeche, México

José Franco-Monsreal*, Addy Leticia Zarza-García**, Nemesio Villa-Ruano*,
Lorena Guadalupe Ramón-Canul*, Oscar Trinidad Galván-Valencia*,
María de Lourdes Meza-Jiménez* & Lizbeth Mota-Magaña*

Resumen

Especies patógenas del género *Vibrio* en alimentos marinos de establecimientos de Isla del Carmen, Campeche, México. *El medio marino ocupa prácticamente las tres cuartas partes 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 de este trabajo fue determinar si los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores de riesgo por las especies *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *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 73 establecimientos especializados (coctelerías, cooperativa, pescaderías, restaurantes y supermercados) en la venta de alimentos marinos para consumo humano. El número de alimentos marinos en dichos establecimientos fue 390. Para la homogeneización y el enriquecimiento de cada muestra, así como para el aislamiento y la identificación de las cuatro especies se procedió según la metodología descrita en*

Abstract

Pathogenic species of the genus *Vibrio* in seafood restaurants from Isla del Carmen, Campeche, Mexico. *The marine environment occupies nearly three-quarters of the Earth's surface, and in coastal areas, humans directly depend on the ocean for work and/or sports reasons and indirectly by the handling and/or consumption of seafood. The aim of this study was to determine if raw seafood, marinated without heat, partially cooked with heat, and fully cooked with heat, represents a risk factor in the development of acute gastroenteritis, wound infection, ear infection, primary septicemia, and secondary septicemia, due to *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* species bacteria. A list of 73 establishments specializing in the sale of seafood for human consumption (cocktail bars, cooperative enterprises, fish shops, restaurants and supermarkets) was obtained. The number of seafood species listed in those establishments was 390. In order to obtain homogeneous and enriched samples, and to be able to isolate and identify the four species of bacteria, the methodology described in the eighth edition of the *Bacteriological Analytical Manual* (FDA) was followed. The*

Résumé

Espèces pathogènes du genre *Vibrio* dans les fruits de mer des établissements d'Isla del Carmen, Campeche, Mexique. *Les trois-quarts de la surface de la terre sont constitués d'océans. En zone côtière, l'homme interagit directement avec le milieu marin, par ses activités professionnelles ou de loisir. Il entre en contact avec ce milieu plus indirectement en manipulant ou en consommant les produits de la mer. Cette étude visait à déterminer si les fruits de mer crus, marinés, et à différents degrés de cuisson, sont des facteurs de risque dans le développement de gastro-entérites aiguës, d'infections diverses, et de sepsis primaires et secondaires. À partir de 73 établissements spécialisés dans la vente de fruits de mer (coopérative, poissonneries, restaurants et supermarchés), nous avons recensé 390 types d'aliments cuisinés. Pour ces aliments, la présence potentielle de quatre espèces pathogènes a été étudiée (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio vulnificus*). La standardisation et l'enrichissement de chaque échantillon, tout comme l'isolement et l'identification des quatre espèces ont été réalisés suivant la méthodologie décrite dans le*

* Universidad de la Sierra Sur. Guillermo Rojas Mijangos S/N esquina Avenida Universidad, colonia Ciudad Universitaria. C.P. 70800. Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, México
correo electrónico: giussepe56@yahoo.com.mx

** Universidad Autónoma del Carmen; 56 No. 4 esquina Avenida Concordia; colonia Benito Juárez; CP. 24180; Ciudad del Carmen, Campeche, México

la octava edición del *Bacteriological Analytical Manual* (FDA). Por el método de Cornfield se construyeron intervalos de estimación al nivel de confianza del 95%. En 29, 20, 13 y 14 muestras se aisló un número igual de cepas cuyas características bioquímicas correspondieron, respectivamente, a *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. Se concluye que los alimentos marinos en sus cuatro estados de cocción representan factores de riesgo por las especies *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria.

Palabras clave: *Vibrio*, especies patógenas, alimentos marinos

Cornfield method was used to construct estimation intervals at a 95% confidence level. In 29, 20, 13 and 14 samples, an equal number of strains were isolated; their biochemical characteristics corresponded, respectively, to *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. It is concluded that seafood in its four stages of cooking represents risk factors in the development of acute gastroenteritis, wound infection, ear infection, primary septicemia and secondary septicemia, due to the presence of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* species.

Key words: *Vibrio*, pathogenic species, seafood.

manuel analytique bactériologique de la FDA. Les résultats ont été analysés statistiquement en maintenant un intervalle de confiance de 95%. La présence de *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio vulnificus*, a été respectivement confirmée dans 29, 20, 13 et 14 échantillons. Ce travail confirme donc que ces denrées marines peuvent favoriser le développement de gastro-entérites aiguës, d'infections, et de sepsis primaire et secondaire.

Mots clefs: *Vibrio*, espèces pathogènes, fruits de mer.

Introducción

El medio marino ocupa prácticamente las tres cuartas partes 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. Es bien conocido que la contaminación de las aguas costeras por los vertidos de aguas residuales ha sido, y es aún, una constante fuente epidemiológica de salmonelosis, hepatitis y otras infecciones. Un aspecto menos divulgado es la patología infecciosa ocasionada por bacterias autóctonas marinas de la familia *Vibrionaceae* (García *et al.* 1993).

En la segunda edición del Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática la Familia *Vibrionaceae* pertenece al Orden XI (*Vibrionales*) de la Clase III (*Gammaproteobacteria*) del Phylum BXII (*Proteobacteria*) del Dominio Bacteria. A su vez, la Familia *Vibrionaceae* se encuentra integrada por los géneros *Vibrio*, *Allomonas*, *Catenococcus*, *Enterovibrio*, *Grimontia*, *Listonella*, *Photobacterium* y *Salinivibrio*. Doce de las 66 especies del

género *Vibrio* se consideran patógenas para el ser humano y son *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* (Garrity *et al.* 2004).

Los vibrios son característicamente autóctonos de hábitats marinos, salobres y estuarinos, y aparecen en grandes concentraciones (*blooms*) cuando las aguas aumentan de temperatura (17-20°C). A temperaturas bajas los vibrios permanecen en el sedimento de los fondos marinos y los recuentos arrojan normalmente cifras inferiores a las necesarias para producir infección. En los países templados los vibrios se encuentran presentes en el agua de mar durante todo el año, aunque su concentración experimenta un notable incremento en los meses cálidos a causa de las favorables condiciones ecológicas y del plancton aumentando su acumulación por moluscos filtradores y otros animales marinos (West 1989).

La especie *Vibrio alginolyticus* (Miyamoto *et al.* 1961), conocida anteriormente como

Vibrio parahaemolyticus biotipo II, es la especie más halotolerante; soporta una concentración hasta del 10% de cloruro de sodio (NaCl) y es la más abundante en el agua de mar; es muy común en el hábitat marino de países templados (Pérez *et al.* 1983). Causa infecciones gastrointestinales en el hombre y, ocasionalmente, extraintestinales. Posee escasa virulencia (West 1989) y se asocia con frecuencia a otros patógenos (Dronda *et al.* 1991); su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas. No fue considerada patógena hasta 1973 (Zen-Yogi *et al.* 1973) pero, desde entonces, el número de procesos infecciosos en los que ha sido implicada ha ido en aumento. Se le ha asociado con enteritis (Nacescu *et al.* 1980), infecciones de tejidos blandos (sobre todo en heridas y quemaduras) (Patterson *et al.* 1988), abscesos (Opal & Saxon 1986), bacteriemia (Bonner *et al.* 1983), conjuntivitis (Janda *et al.* 1986), peritonitis (Taylor *et al.* 1981), conjuntivitis externa (Lessner *et al.* 1986) y otitis externa (García *et al.* 1993). En el caso de las otitis existe, con frecuencia, una patología ótica subyacente (Hornstrup & Gahm 1993). La mayoría de estas infecciones se adquiere por exposición al medio marino o por contacto con productos derivados de éste. *V. alginolyticus* es un organismo ubicuo del mar y de los estuarios. Su distribución es mundial; por lo general en costas de países templados; se encuentra en cualquier organismo marino tales como peces, almejas, ostiones y corales, entre otros. Es un bacilo corto, pleomórfico, gramnegativo, móvil por flagelos peritricos y polares. Los signos y síntomas en el ser humano se deben a la ingesta de productos marinos crudos y/o insuficientemente cocidos, o bien, al daño en la piel al nadar en agua en donde se encuentra presente este microorganismo. En los peces también se presentan signos por esta vibriosis tales como pequeños derrames vasculares cutáneos y lesiones hemorrágicas en las aletas (Zavala *et al.* 2005). *V. alginolyticus* se encuentra relacionado con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria (Pavia *et al.* 1989).

La especie *Vibrio carchariae* (Grimes *et al.* 1984) es la más recientemente descrita en

patología humana. Patógeno de tiburones, ha sido relacionada con infecciones extraintestinales en el hombre, particularmente de heridas por mordedura de tiburón. Se distingue de *Vibrio alginolyticus* por su menor halotolerancia y resistencia al antibiótico colimicina. *V. carchariae* se encuentra relacionado con infección de herida (Pavia *et al.* 1989).

Ecológicamente, la especie *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino *et al.* 1951) está ligada tanto a la temperatura y a la salinidad de las aguas como a sus relaciones con animales marinos superiores. Se encuentra en aguas costeras, en aguas estuarinas, en sedimentos y sobre plancton, en crustáceos, en moluscos y en peces pero no en aguas dulces, mar abierto u océanos. *V. parahaemolyticus* ha sido ampliamente descrito 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 (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. *V. parahaemolyticus* ha sido también implicado en infecciones de tejidos blandos (Ahsan *et al.* 1988), panoftalmiitis (Tacket *et al.* 1982), sepsis y otitis (Morris & Blake 1985). Tres y diez 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). *V. parahaemolyticus* se encuentra relacionado con gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

La especie *Vibrio vulnificus* (Farmer 1980) es la especie halófila más virulenta para el ser humano, especialmente para enfermos hepáticos con elevados niveles de hierro sérico (Helms *et al.* 1984). Otras afecciones del huésped como alcoholismo, cirrosis hepática,

úlceras pépticas, consumo de esteroides y talasemia favorecen la infección (Chang *et al.* 1994). Las formas clínicas y epidemiológicas son sepsis primaria por ingestión de ostras crudas e infecciones localizadas por exposición de heridas al agua de mar. En ambos síndromes existen lesiones cutáneas en tronco y extremidades representadas por bullas hemorrágicas (Pien *et al.* 1977). *V. vulnificus* ha sido aislado tanto del agua de mar como de animales marinos, sobre todo de ostras (Miyoshi *et al.* 1995). *V. vulnificus* se encuentra relacionado con gastroenteritis aguda, infección de herida, septicemia primaria y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

Las causas que con mayor frecuencia contribuyen a la aparición de casos y brotes en la población incluyen el consumo de productos del mar crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor; la defectuosa o ausente refrigeración que favorece la multiplicación del microorganismo; el manejo inadecuado de los alimentos en las cocinas lo cual propicia la contaminación cruzada (Bryan 1978); y la contaminación de los alimentos marinos por parte del manipulador mediante el mecanismo ano-mano-alimento-boca por ser un portador (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 42 las especies estudiadas.

En México, las enteritis y otras enfermedades diarreicas constituyen una de las diez principales causas de morbilidad y de mortalidad. En Isla del Carmen, Campeche, 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.

De acuerdo con datos de los Anuarios Estadísticos del estado de Campeche (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) correspondientes a los años 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006 y 2007, la segunda causa de morbilidad en el estado de Campeche se encuentra representada, invariablemente, por las infecciones gastrointestinales con tasas de 7.1%; 6.6%; 6.5%; 6.8%; 6.1%; 4.9%; 4.8%; 4.9%; 4.8% y 4.6% (Figura 1).

Los objetivos de la presente investigación fueron el determinar las prevalencias de las especies *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente

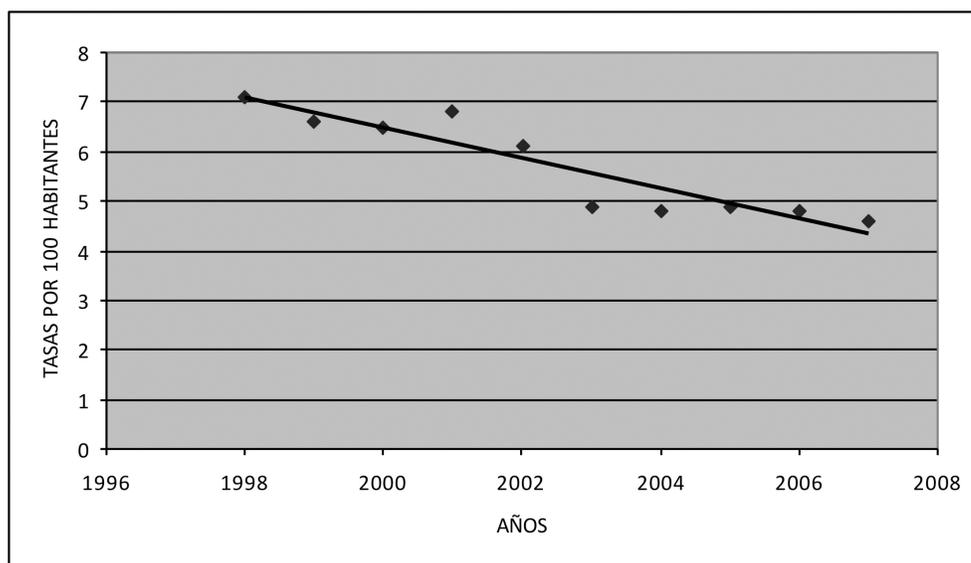


Figura 1. Tasas de prevalencia lápsica por infecciones gastrointestinales. Campeche, México. 1998-2007

cocidos con calor. En otras palabras, determinar si dichos alimentos representan factores de riesgo para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria (Pavia *et al.* 1989).

Material 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 (390) del total de establecimientos especializados (73) en la venta de alimentos marinos para consumo humano en Isla del Carmen, Campeche, México (Figura 2), en el período comprendido del 1 de junio de 2009 al 31 de mayo de 2010. La recolección de las muestras se llevó a cabo del 1 de agosto de 2009 al 31 de marzo de 2010.

Definiciones operacionales de las variables

- Coctelerías, Cooperativa, Pescaderías, Restaurantes y Supermercados: 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 Campeche.
- 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, del ácido del jugo de naranja, del vinagre, etcétera.



Figura 2. Isla del Carmen, Isla de Tris o Perla del Golfo

- 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) calentar agua hasta ebullición; b) apagar la fuente de calor y adicionar el alimento marino; c) dejar "ablandar" el alimento marino en el agua caliente durante 5 minutos; y d) transferir 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

La Coordinación Regional No. 3 de la Comisión para la Protección contra Riesgos Sanitarios del estado de Campeche (COPRISCAM) proporcionó un listado de 73 establecimientos (coctelerías, cooperativa, pescaderías, restaurantes y supermercados) 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 390 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 agosto de 2009 al 31 de marzo de 2010) durante la cual dichas muestras fueron obtenidas.

Cada muestra pesó aproximadamente 50 g; se almacenó individualmente en bolsa estéril de polietileno (Ziploc); se conservó en refrigeración; y se envió para su procesamiento al Laboratorio de Control de Calidad de Aguas y Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Carmen. El procesamiento de las muestras se realizó en el período comprendido del 1 de agosto de 2009 al 31 de marzo de 2010.

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. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* se procedió según la metodología descrita en la octava edición del *Bacteriological Analytical Manual* (FDA) (Elliot *et al.* 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 1 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 resembró 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) que desarrollaron se hicieron frotos para teñir por el método de Gram; cuando las colonias estuvieron constituidas

por bacilos gramnegativos rectos o ligeramente curvos se realizó la prueba de la oxidasa como prueba presuntiva.

Identificación: a las colonias 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; y licuefacción de la gelatina; y fermentación del myo-inositol.

En la Tabla I se presentan las características diferenciales (propiedades bioquímicas) de las cuatro especies estudiadas y asociadas a síndromes clínicos relacionados con el consumo de peces y mariscos.

Se construyó una tabla de contingencia de 4x2 a partir de la cual se calcularon las prevalencias. 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 EpiInfo para Windows, versión 3.4.3, para la obtención de los valores de χ^2_{M-H} y de 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 1954: 1. cuando $n > 40$ utilice la prueba χ^2_{M-H} ; 2. cuando $20 \leq n \leq 40$ 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 1 frecuencia esperada < 5 utilice, entonces, la prueba de la probabilidad exacta de Fisher (PPEF); y 3. cuando $n < 20$ utilice la PPEF.

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

Tabla I. *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* según características diferenciales (propiedades bioquímicas)

Características diferenciales (propiedades bioquímicas)	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio carchariae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
Agar TCBS	A	A	V	V
Agar mCPC	NC	ND	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 mio-inositol	-	-	-	-

Fuente: West *et al.* 1986

A= Colonias pigmentadas de color amarillo; V= Colonias pigmentadas de color verde; NC= No crecimiento; ND= No determinado; +/-= Variable

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

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. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* (Daniel 1979):

$$p - Z\sigma_p \leq P \leq p + Z\sigma_p$$

Donde p= proporción de elementos en la muestra que posee la característica de interés; Z= nivel de confianza; σ_p = error estándar; y P= proporción de elementos en la población que posee la característica de interés.

Tabla II. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas del género *Vibrio* (Grupo 6) en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Métodos de preparación	Totales	<i>Vibrio</i>	
		Muestras positivas	Muestras negativas
Crudos	298	54 (18.12%)	244 (81.88%)
Marinados sin calor	8	1 (12.50%)	7 (87.50%)
Parcialmente cocidos con calor	77	10 (12.99%)	67 (87.01%)
Completamente cocidos con calor	7	1 (14.29%)	6 (85.71%)
Totales	390	66 (16.92%)	324 (83.08%)

A su vez:

$$\sigma p = \sqrt{pq/n}$$

Donde σp = error estándar; p = proporción de elementos en la muestra que posee la característica de interés; q = proporción de elementos en la muestra que no posee la característica de interés; y n = tamaño de la muestra.

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 Social Sciences (SPSS) para Windows, versión 8.0]; presentados (en tablas y en figuras); 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 390 muestras de alimentos marinos 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 del género *Vibrio* (Grupo 6) en alimentos marinos según métodos de preparación se presentan, respectivamente, en la Tabla II y en la Figura 3.

En la Tabla III se presentan las ocho pruebas clave diferenciales para dividir las 12 especies clínicamente significativas del género *Vibrio* en seis grupos. Las especies investigadas en el presente trabajo pertenecen al Grupo 6 (producción negativa de arginina deshidrolasa y descarboxilación positiva de la lisina).

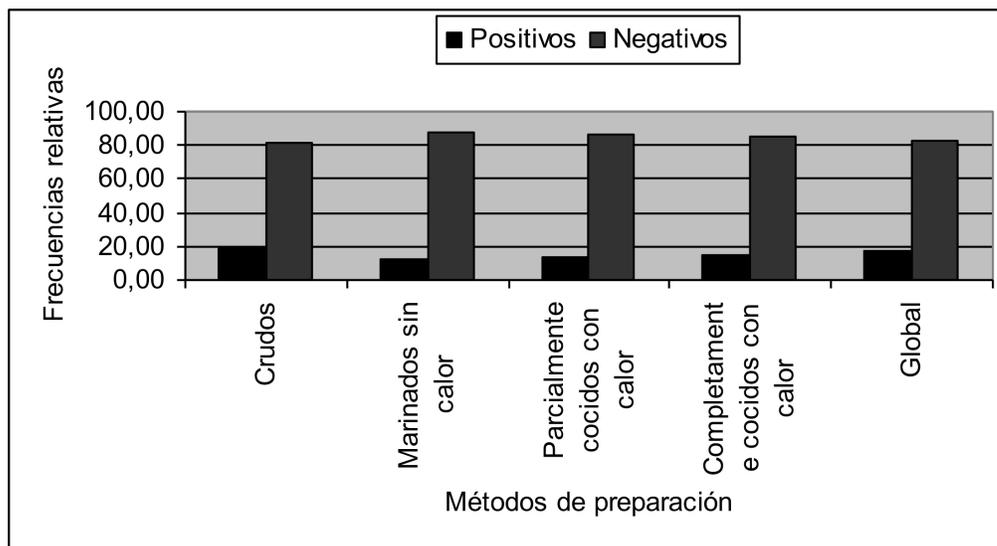


Figura 3. Frecuencias relativas del género *Vibrio* (Grupo 6) en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Tabla III. Ocho pruebas clave diferenciales para dividir las 12 especies clínicamente significativas de *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. parahaemolyticus</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			-									
Fermentación del myo-inositol				+								
Producción de arginina deshidrolasa					-	+	+	+	-	-	-	-
Descarboxilación de la lisina					-				+	+	+	+
Descarboxilación de la ornitina					-							

Las frecuencias absolutas y relativas de *V. alginolyticus* en alimentos marinos según métodos de preparación se presentan en la Tabla IV. Veinte y tres (7.72%) de las 298 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos, 0 (0.00%) de las 8 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor, 6 (7.79%) de las 77 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y 0 (0.00%) de las 7 muestras etiquetadas como alimentos marinos completamente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. alginolyticus* fue 7.44%.

En la Tabla V se presentan las frecuencias absolutas y relativas de *V. carchariae* en alimentos marinos según métodos de preparación. Diez y nueve (6.38%) de las 298 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos, 1 (12.50%) de las 8 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor, 0 (0.00%) de las 77 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y 0 (0.00%) de las 7 muestras etiquetadas como alimentos marinos completamente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. carchariae* fue 5.13%.

Las frecuencias absolutas y relativas de *V. parahaemolyticus* en alimentos marinos según métodos de preparación se presentan en la Tabla VI. Diez (3.36%) de las 298 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos, 0 (0.00%) de las 8 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor, 3 (3.90%) de las 77 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y 0 (0.00%) de las 7 muestras etiquetadas como alimentos marinos completamente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. parahaemolyticus* fue 3.33%.

En la Tabla VII se presentan las frecuencias absolutas y relativas de *V. vulnificus* en alimentos marinos según métodos de preparación. Diez (3.36%) de las 298 muestras etiquetadas como alimentos marinos crudos, 0 (0.00%) de las 8 muestras etiquetadas como alimentos marinos marinados sin calor, 3 (3.90%) de las 77 muestras etiquetadas como alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y 1 (14.29%) de las 7 muestras etiquetadas como alimentos marinos completamente cocidos con calor presentaron resultados positivos. La prevalencia global de *V. vulnificus* en alimentos marinos fue 3.59%.

Tabla IV. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas de *V. alginolyticus* en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Métodos de preparación	<i>Vibrio alginolyticus</i>		Totales
	Muestras positivas	Muestras negativas	
Crudos	23 (7.72%)	275 (92.28%)	298 (100.00%)
Marinados sin calor	0 (0.00%)	8 (100.00%)	8 (100.00%)
Parcialmente cocidos con calor	6 (7.79%)	71 (92.21%)	77 (100.00%)
Completamente cocidos con calor	0 (0.00%)	7 (100.00%)	7 (100.00%)
Totales	29 (7.44%)	361 (92.56%)	390 (100.00%)

Tabla V. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas de *V. carchariae* en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Métodos de preparación	<i>Vibrio carchariae</i>		Totales
	Muestras positivas	Muestras negativas	
Crudos	19 (6.38%)	279 (93.62%)	298 (100.00%)
Marinados sin calor	1 (12.50%)	7 (87.50%)	8 (100.00%)
Parcialmente cocidos con calor	0 (0.00%)	77 (100.00%)	77 (100.00%)
Completamente cocidos con calor	0 (0.00%)	7 (100.00%)	7 (100.00%)
Totales	20 (5.13%)	370 (94.87%)	390 (100.00%)

Tabla VI. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas de *V. parahaemolyticus* en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Métodos de preparación	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		Totales
	Muestras positivas	Muestras negativas	
Crudos	10 (3.36%)	288 (96.64%)	298 (100.00%)
Marinados sin calor	0 (0.00%)	8 (100.00%)	8 (100.00%)
Parcialmente cocidos con calor	3 (3.90%)	74 (96.10%)	77 (100.00%)
Completamente cocidos con calor	0 (0.00%)	7 (100.00%)	7 (100.00%)
Totales	13 (3.33%)	377 (96.67%)	390 (100.00%)

Tabla VII. Frecuencias absolutas y frecuencias relativas de *V. vulnificus* en alimentos marinos según métodos de preparación. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

Métodos de preparación	<i>Vibrio vulnificus</i>		Totales
	Muestras positivas	Muestras negativas	
Crudos	10 (3.36%)	288 (96.64%)	298 (100.00%)
Marinados sin calor	0 (0.00%)	8 (100.00%)	8 (100.00%)
Parcialmente cocidos con calor	3 (3.90%)	74 (96.10%)	77 (100.00%)
Completamente cocidos con calor	1 (14.29%)	6 (85.71%)	7 (100.00%)
Totales	14 (3.59%)	376 (96.41%)	390 (100.00%)

En la Figura 4 se presentan en orden ascendente las frecuencias relativas globales de las cuatro especies del género *Vibrio* correspondientes al Grupo 6. Las prevalencias más baja y más alta correspondieron, respectivamente, a *V. parahaemolyticus* (3.33%) y a *V. alginolyticus* (7.44%).

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. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* fueron, respectivamente, $4.83\% \leq P \leq 10.04\%$, $2.94\% \leq P \leq 7.32\%$, $1.55\% \leq P \leq 5.11\%$ y $1.74\% \leq P \leq 5.44\%$.

Discusión

La más alta prevalencia (18.12%) fue observada en los alimentos marinos crudos. Los alimentos marinos crudos son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban en su estado natural. En consecuencia, este resultado corresponde al 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 prevalencia (14.29%) observada en los alimentos marinos completamente cocidos con calor. Los alimentos marinos completamente cocidos con calor son aquellos que en el momento del muestreo se encontraban cocidos mediante la acción del calor. Subsiguientemente, este resultado no

corresponde al esperado ya que la probabilidad de aislamiento es nula cuando el alimento se ha preparado mediante una adecuada exposición a la acción del calor y la prevalencia observada puede ser explicada ya sea porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador por contaminación cruzada en las cocinas, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento-boca por ser un portador –suposición que se encuentra apoyada por los estudios de Pérez *et al.*, en 1980 y de Franco & Flores en 1988 en los cuales se reporta 0.72% y 3.85%, respectivamente, de manipuladores de alimentos marinos que excretan al microorganismo en sus heces.

En tercer lugar se tiene la prevalencia (12.99%) observada en los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor. 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 cinco minutos. Este resultado tampoco corresponde al esperado y la prevalencia observada puede ser explicada ya sea porque el procedimiento utilizado para “ablandar” el alimento no es suficiente para destruir al microorganismo –suposición que se encuentra apoyada por el estudio de Peffers *et al.*, en 1973 en el cual se reporta la viabilidad de los microorganismos después de haber

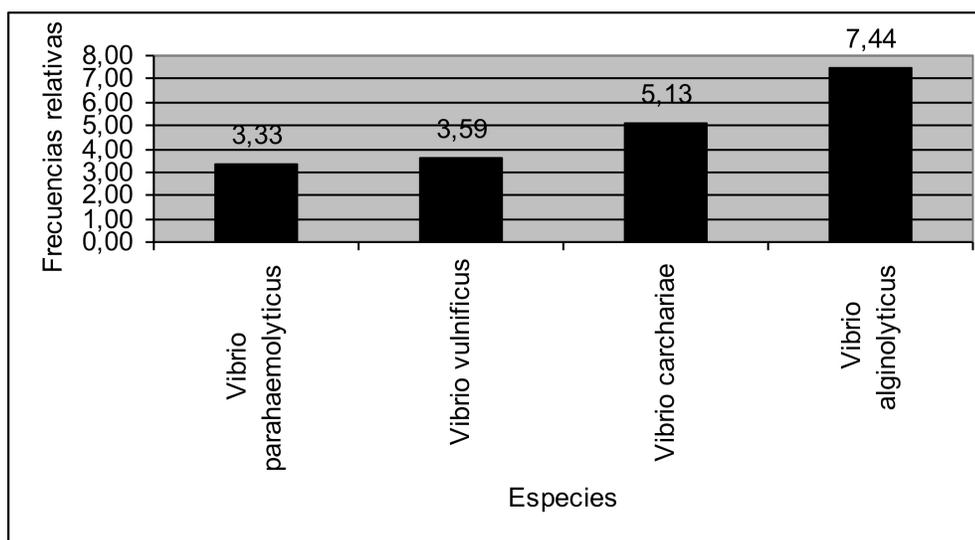


Figura 4. Frecuencias relativas globales en orden ascendente de las cuatro especies del género *Vibrio* correspondientes al Grupo 6. Isla del Carmen, Campeche, México. 1/agosto/2009-31/marzo/2010

mantenido a un crustáceo en agua en ebullición durante cinco min previa inoculación de 0.1 ml de caldo de cultivo-, o bien, porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador después del proceso de “ablandamiento” por contaminación cruzada en las cocinas, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento-boca por ser un portador –suposición que se encuentra apoyada por los estudios de Pérez *et al.*, en 1980 y de Franco & Flores en 1988 en los cuales se reporta 0.72% y 3.85%, respectivamente, de manipuladores de alimentos marinos que excretan al microorganismo en sus heces.

Por último, en cuarto lugar se tiene la prevalencia (12.50%) observada en los alimentos marinos marinados sin calor. 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, del ácido del jugo de naranja, del vinagre, etcétera. Por ende, este resultado corresponde al esperado porque son alimentos que no han sido expuestos a la acción del calor.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon las prevalencias observadas en alimentos marinos crudos (18.12%), alimentos marinos marinados sin calor (12.50%), alimentos marinos parcialmente cocidos con calor (12.99%) y alimentos marinos completamente cocidos con calor (14.29%): $\chi^2_{M-H}(\alpha=0.05, gl=3) = 1.30$; $p = 0.7295$.

Conclusiones

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

Los alimentos marinos crudos y los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor representan factores de riesgo por la especie

V. parahaemolyticus para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia secundaria; y

Los alimentos marinos crudos, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores 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 prevalencias obtenidas en alimentos marinos crudos, completamente cocidos con calor, parcialmente cocidos con calor y marinados sin calor fueron 18.12%, 14.29%, 12.99% y 12.50%, respectivamente. Por tanto, el riesgo de infección es 1.27 veces mayor en alimentos marinos crudos respecto a alimentos marinos completamente cocidos con calor; 1.39 veces mayor en alimentos marinos crudos respecto a alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; y 1.45 veces mayor en alimentos marinos crudos respecto a alimentos marinos marinados sin calor. Asimismo, el riesgo de infección es 1.10 veces mayor en alimentos marinos completamente cocidos con calor respecto a alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; y 1.14 veces mayor en alimentos marinos completamente cocidos con calor respecto a alimentos marinos marinados sin calor. Finalmente, el riesgo de infección es 1.04 veces mayor en alimentos marinos parcialmente cocidos con calor respecto a alimentos marinos marinados sin calor.

Se concluye, finalmente, 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 cuatro especies de importancia clínica del género *Vibrio* constituyendo, por tanto, factores potenciales de riesgo para la población consumidora de peces y mariscos de Isla del Carmen, Campeche, México.

El haber encontrado alimentos marinos parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor contaminados con especies del género *Vibrio* permite suponer la existencia de manipuladores de alimentos marinos portadores asintomáticos.

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 de Isla del Carmen, Campeche, México.

Referencias

- Ahsan N, Conter RL, Appelbaum PC. Postoperative wound infection associated with *Vibrio parahaemolyticus* in a patient without exposure to seawater. *J Clin* 1988; 26:1214-5.
- Bonner Jr., Cocker AS, Berryman CR, Pollock HM. Spectrum of *Vibrio* infections in a gulf coast community. *Ann Intern Med* 1983; 99:464-9.
- Bryan FL. Factors that contribute to outbreaks of food-borne disease. *J Food Prot* 1978; 41:816-27.
- Chang JJ, Sheen IS, Peng SM, Chen PC, Wu CS, Leu HS. *Vibrio vulnificus* infection report of 8 cases and review of cases in Taiwan. *Chang Keng I Hsueh* 1994; 17:339-46.
- Cochran WG. Some methods for strengthening the common χ^2 tests. *Biometrics* 1954; 10:417-51.
- Daniel WW. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. México, D.F.: Editorial Limusa, 1979:91-2, 143-4.
- Dronza F, Canton R, Selman, García-Ramos F, Martínez-Ferrer M. *Vibrio alginolyticus* y otitis externa del nadador. Dos casos y revisión de la literatura. *Clin* 1991; 9:630-3.
- Elliot EL, Kaysner CA, Jackson L, Tamplin ML. 1998. *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, and other *Vibrio* spp. Ch. 9. In Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. (revision A), (CD-ROM version). R.L. Merker (Ed.). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Farmer JJ III. Revival of the name *Vibrio vulnificus*. *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30:656.
- Franco-Monsreal J, Flores-Abuxapqui JJ. Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en productos marinos y en heces de manipuladores de alimentos. *Rev Lat-amer Microbiol* 1988; 30:223-7.
- Fujino T, Okuno Y, Nakada D, Aoyama A, Fukai K, Mukai T, Ueho T. On the bacteriological examination of shirasu food poisoning (in Japanese). *Journal of the Japanese Association of Infectious Diseases* 1951; 25:11.
- García-Martos P, Benjumeda M, Delgado D. Otitis externa por *Vibrio alginolyticus*: descripción de cuatro casos. *Acta Otorrinolaring Esp* 1993; 44:55-7.
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. (2004): Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 112-3.
- Grimes DJ, Stemmler J, Hada H, May EB, Maneval D, Hetrick FM, Jones RT, Stoskopf M, Colwell RR. *Vibrio* species associated with mortality of sharks held in captivity. *Microb Ecol* 1984; 10:271-82.
- Helms SD, Oliver JD, Travis JC. Role of heme compounds and haptoglobin in *Vibrio vulnificus* pathogenicity. *Infect Immun* 1984; 45:345-9.
- Hornstrup MK, Gahm-Hansen B. Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish county, 1987-1992. *Stand J Infect Dis* 1993; 25:735-40.
- Hsu GJ, Young T, Peng MY, Chang FY, Chou MY. Septicemia caused by *Vibrio parahaemolyticus*: a case report. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)* 1993; 52:351-4.
- Janda JM, Brenden R, Debenedetti JA, Constantino MO, Robin T. *Vibrio alginolyticus* bacteriemia in an immunocompromised patient. *Diagn Infect Dis* 1986; 5:337-40.
- Kelly MT, Hickman-Brenner FW, Farmer III JJ. *Vibrio*. En: Balows A, Hauster WJ, Herrman KL, Isenberg HD, Shadony HJ, eds. *Manual of clinical microbiology*. 5 ed. Washington, DC: American Society of Microbiology, 1991;384-395.
- Lessner AM, Webb RM, Rabin B. *Vibrio alginolyticus* conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1986; 103:229-30.
- Miyamoto Y, Nakamura K, Takizawa K. Pathogenic halophiles. Proposals of a new genus "*Oceanomonas*" and of the amended species names. *Jap J Microbiol* 1961; 5:477-86.
- Miyoshi S, Narukawa H, Tomochika K, Shimoda S. Actions of *Vibrio vulnificus* metalloprotease on human plasma proteinase-proteinase inhibitor systems: a comparative study of native protease with its derivative modified by polyethylene glycol. *Immunol* 1995; 39:959-66.
- Morris JG, Blake RE. Cholera and other vibriosis in the United States. *N Engl J Med* 1985; 312:343-50.
- Nacescu N, Ciufecu C, Florescu D. *Vibrio alginolyticus* enteritis. *Ann Sclavo* 1980; 22:169-72.
- Opal SM, Saxon JR. Intracranial infection by *Vibrio alginolyticus* following injury in salt water. *J Clin* 1986; 23:373-4.
- Patterson TF, Bell SR, Bia FJ. *Vibrio alginolyticus* cellulitis following coral injury. *Yale J Biol Med* 1988; 61:507-12.
- Pavia AT, Bryan JA, Maher KL, Hester TR Jr., Farmer JJ III. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. *Ann Intern Med* 1989; 111:85-6.
- Peppers A, Bayley J, Barrow GI, Hobbs BC. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis and international air travel. *The Lancet* 1973; 1:143-5.

- Pérez-Trallero E, Urbietta-Egaña M, Gasser-Laguna I, Fernández-Pérez F. *Vibrio alginolyticus*. Estudio comparativo entre cepas de procedencia humana y aisladas del medio ambiente. Clin 1983; 1:102-6.
- Pérez-Memije E, Vélez-González ML, Galván-Rodríguez F. Búsqueda de *Vibrio parahaemolyticus* en heces de manejadores de alimentos en el puerto de Acapulco, Guerrero. Rev Lat-amer Microbiol 1980; 22:18.
- Pien F, Lee K, Higa H. *Vibrio alginolyticus* infection in Hawaii. J Clin 1977; 5:670-2.
- Tacket CO, Barrett TJ, Sanders GE, Blake PA. Panophthalmitis caused by *Vibrio parahaemolyticus*. J Clin 1982; 16:195-6.
- Taylor R, McDonald M, Russ G, Carson M, Lukaczynshi E. *Vibrio alginolyticus* peritonitis associated with ambulatory peritoneal dialysis. Br Med J 1981; 283:275.
- Tsujimoto M, Kitaoka T, Nakaue Y *et al*. A case of cardiogenic shock caused by *Vibrio parahaemolyticus*. Kansenshogaku Zasshi 1994; 68:163-7.
- West PA, Brayton PR, Bryant TN, Colwell RR. Numerical taxonomy of vibrios isolated from aquatic environments. Int J Syst Bacteriol 1986; 36: 531-43.
- West PA. The human pathogenic vibrios. A public health update with environmental perspectives. Epidem Infec 1989; 103:1-34.
- Zavala-Moreno A, Quiñónez-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C. La vida oscura de *Vibrio alginolyticus*. Revista Digital Universitaria 2005; 6(4): ISSN: 1067-6079.
- Zen-Yogi H, Leclair RA, Ohta K, Montague TS. Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* cultures isolates in the United States with those isolates in Japan. J Infect Dis 1973; 127:237-41.

Recibido: 15 de Marzo del 2011

Aceptado: 2 de Agosto del 2011