



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE  
*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y  
*Vibrio cholerae* EN ALMEJAS  
PROCEDENTES DEL PUERTO DE YAVAROS**

**QUÍMICO**

**CRISTEL KARINA SALAS ALVAREZ**

**CD. OBREGÓN, SONORA**

**ABRIL 2007**

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABLAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	v
OBJETIVO GENERAL.....	vii
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	viii
HIPÓTESIS.....	ix

### I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Generalidades de los moluscos bivalvos.....	1
1.1.1 Morfología de las almejas.....	1
1.1.2 Características de importancia de los moluscos bivalvos.....	3
1.1.2.1 Se alimentan por filtración.....	4
1.1.2.2 Algunos están en contacto con fondos lodosos.....	4
1.1.2.3 Se pueden consumir crudos y vivos.....	4
1.1.3 Composición química de las almejas.....	5
1.2 Peligro para el humano asociados al consumo de almejas.....	5
1.2.1 Virus.....	5
1.2.1.1 Algunos aspectos que hacen posible esta transmisión...	6
1.2.2 Bacterias.....	6
1.2.3 Metales pesados.....	6
1.2.4 Organohalogenados.....	7
1.2.5 Biotoxinas marinas.....	7
1.2.6 Conservación.....	8
1.2.7 Alteración.....	8
1.3 Género <i>Vibrio</i> .....	9
1.4 Aspectos generales de la bacteria <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	10
1.5 Aspectos generales de la bacteria <i>Vibrio vulnificus</i> .....	14
1.6 Aspectos generales de la bacteria <i>Vibrio cholerae</i> .....	15
1.6.1 Requerimientos ambientales.....	16
1.6.2 Hábitat natural.....	16

1.6.3	Importancia clínica.....	16
1.7	Tinción Gram.....	18
1.8	Descripción de pruebas bioquímicas.....	18
1.8.1	Prueba de la catalasa.....	18
1.8.2	Prueba de la oxidasa.....	19
1.8.3	Agar Citrato de Simmons.....	19
1.8.4	Caldo RM-VP.....	19
1.8.5	Licuefacción de la gelatina.....	19
1.8.6	Prueba de agar hierro y lisina (LIA).....	20
1.8.7	Prueba de motilidad, producción de indol y ácido sulfúrico.....	20
1.8.8	Caldo urea.....	20
1.8.9	Prueba con agar hierro triple azúcar (TSI).....	21
1.8.10	Prueba del malonato de Ewing modificado.....	21
1.8.11	Prueba de oxidación – fermentación (OF).....	21

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

2.1	Zona da estudio.....	22
2.1.1	Sitios de muestreo.....	23
2.2	Muestreo y frecuencia.....	23
2.3	Metodología.....	23
2.3.1	Manejo y transporte de las muestras.....	23
2.3.2	Preparación de la muestra.....	24
2.4	Análisis microbiológico.....	24
2.4.1	Tinción Gram.....	25
2.4.2	Pruebas bioquímicas.....	26

<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>42</b>
<b>GLOSARIO.....</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
1. Anatomía de la almeja	2
2. Bacteria <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	11
3. Bacteria <i>Vibrio vulnificus</i>	15
4. Bacteria <i>Vibrio cholerae</i>	15
5. Mapa de localización de la región de Yavaros, Sonora, México	22
6. Características de las colonias de <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> y <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en agar TCBS	24
7. Morfología celular de <i>Vibrios</i> teñida con Gram	25
8. Prueba bioquímica positiva de agar Citrato de Simmons	26
9. Prueba bioquímica positiva de la producción de indol	27
10. Prueba bioquímica positiva para ácido sulfhídrico	27
11. Prueba bioquímica positiva para Vogues-Proskauer	28
12. Prueba bioquímica positiva para rojo de metilo	28
13. Prueba bioquímica positiva para fermentación de glucosa en agar TSI	30
14. Prueba bioquímica positiva para producción de gas en agar TSI	31
15. Prueba bioquímica positiva de ácido sulfúrico en agar TSI	31
16. Prueba positiva prueba bioquímica oxidasa	32
17. Prueba positiva para prueba bioquímica urea	33
18. Prueba positiva para prueba bioquímica fermentación-oxidación (OF)	33
19. Incidencia de <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> por muestreo.	37
20. Aislamiento e identificación de cepas de <i>Vibrio alginolyticus</i> y <i>Aeromona hydrophila</i>	39

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág</b>
1. Calidad microbiana de ostras de acuerdo al pH	9
2. Incidencia de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en alimentos marinos en México	13
3. Diferencias entre las 3 especies de <i>Vibrios</i> estudiadas	17
4. Localización de los sitios de muestreo	23
5. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> y <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	34
6. Presencia de <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio cholerae</i> , en almejas registradas en los meses de Junio y Julio de 2005 en diferentes sitios del Puerto de Yavaros	36
7. Microorganismos identificados por pruebas bioquímicas	38

## RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Investigación en Microbiología del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), unidad centro en los meses de Junio y Julio de 2005, con el objetivo de determinar *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*, en almejas procedentes del Puerto de Yavaros con el fin de evaluar su incidencia y verificar si son aptas para consumo humano.

Se realizaron 5 muestreos en 5 diferentes sitios, recolectándose un total de 25 muestras. La metodología empleada fue: recolectar de 6 a 12 almejas por sitio, en bolsas de plástico, bajo condiciones asépticas y transportarlas por medio de una hielera a temperatura de refrigeración al laboratorio de Microbiología. Posteriormente se dio un lavado y cepillado a las valvas con agua corriente y agua destilada estéril respectivamente, por último se secaron con gasas estériles. Se desconcharon de 6 a 12 almejas y se depositaron en un vaso de licuadora estéril incluyendo el líquido, se realizó una homogenización por 2 minutos a alta velocidad en una licuadora. Se tomaron 25 gramos de muestra y se vertieron en 225 ml de caldo peptona alcalino (medio de enriquecimiento), incubándose de 35 a 37°C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se sembró por estrías en agar TCBS y se incubó de 35 a 37°C por 24 horas y finalmente se llevaron a cabo pruebas bioquímicas y tinción Gram de las colonias típicas (redondas, amarillas, azul-verdes y verdes) para su identificación.

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró en cuatro muestras la presencia de *Vibrio vulnificus*, lo cual representa un 16% del total de muestras, y el 4% corresponde a *Vibrio parahaemolyticus* encontrándose en una muestra, la bacteria *Vibrio cholerae* presentó ausencia absoluta en el 100% de las muestras.

Además se identificaron por pruebas bioquímicas 3 cepas de *Vibrio alginolyticus* en tres muestras diferentes y también en seis muestras diferentes 6 cepas de *Aeromona hydrophyla*.

Los porcentajes de incidencia de estos microorganismos en las almejas son indicios de la baja calidad del producto. Por lo que se recomienda tener los cuidados necesarios en el consumo de las almejas ya que representa un riesgo a la salud.

## INTRODUCCIÓN

Los productos marinos que se ingieren crudos, pueden acarrear riesgos para la salud del consumidor si no se toman precauciones antes de su ingesta. Los bivalvos juegan un papel muy importante en la transmisión de agentes etiológicos por ser concentradores biológicos. Las almejas en particular son frecuentemente involucradas como causa de enfermedad debido al hábito alimentario de consumirlas crudas (Torres, 2002b).

Las almejas son moluscos Bivalvos principalmente marinos que se entierran, total o parcialmente, en la arena o en el fango por medio de un pie musculoso en forma de hacha, se alimentan haciendo pasar corrientes de agua entre sus valvas, reteniendo los microorganismos y demás contaminantes del agua mediante vellosidades que tienen en las branquias (Torres, 2002a).

En los pasados 30 años muchas especies de *Vibrios* han sido relacionadas con enfermedades tales como gastroenteritis en humanos normales y septicemia en individuos con algún padecimiento clínico. Los *Vibrios* son habitantes naturales en ambientes acuáticos, principalmente de hábitat marino y son transmitidos por ingestión de alimentos marinos crudos, inadecuadamente cocidos o expuestos a contaminación cruzada por efecto de su manipulación.

Nasreldin E. et al (2004) examinaron 768 muestras de mariscos del mercado de Malasia, 8 especies de *Vibrio* potencialmente patógenas fueron aisladas, 4.6% pertenecían a *V. cholerae*, 4.7 % de *V. parahaemolyticus* y 6.07% de *V. vulníficus*. Los resultados indican que varios mercados están contaminados sin importar la estación y sugieren que haya medidas de seguridad para el consumidor.

Martinez, (2001) reportó incidencia del 25% de *Vibrio vulnificus*, aislándose 6 cepas de este microorganismos y 7 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* en pata de Mula (andora sp), consumidas en Ciudad Obregón, Sonora, lo cual no se consideró de alto riesgo, sin embargo su presencia indica precaución a los consumidores, la presencia de estos microorganismos en pata de mula son indicativos de una baja calidad del producto.

Es por ello que el presente estudio pretende determinar la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae* en almejas consumidas en Puerto de Yavaros, puesto que puede presentar un alto riesgo a la salud.

## OBJETIVO GENERAL

Realizar análisis microbiológico en almejas procedentes del Puerto de Yavaros para determinar, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, y *Vibrio cholerae* con el fin de evaluar su incidencia y verificar si son aptas para consumo humano.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ⇒ Seleccionar los sitios de muestreo en los que frecuentemente se consume almejas.
- ⇒ Realizar un muestreo semanal en cada sitio de muestreo
- ⇒ Realizar análisis microbiológico a las muestras para el aislamiento de *Vibrios spp.*
- ⇒ Efectuar pruebas bioquímicas para la identificación de *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*
- ⇒ Obtener un diagnóstico de la calidad sanitaria de las almejas expandidas en vía pública en el Puerto de Yavaros, comparando los resultados obtenidos con los especificados en la NORMA OFICIAL MEXICANA, BIENES Y SERVICIOS, PRODUCTOS DE LA PESCA. MOLUSCOS BIVALVOS FRESCOS-REFRIGERADOS Y CONGELADOS NOM-031-SSA1-1993

## HIPÓTESIS

Las almejas expandidas vía pública en el Puerto de Yavaros, presentan contaminación por *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Investigación en Microbiología de la Dirección Académica de Recursos Naturales que lleva por título DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*, EN ALMEJAS PROCEDENTES DEL PUERTO DE YAVAROS, asesorado por el M.I. Anacleto Félix Fuentes.

## DEDICATORIA

*A DIOS por brindarme la oportunidad de vivir, y concederme el privilegio de tener una maravillosa familia, además de permitirme cursar la carrera profesional de Químico.*

*A MIS PADRES, Rubén Salas y Guadalupe Alvarez, por el apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de mi vida, por su sacrificio y lucha para sacarme adelante ante las adversidades y por la insistencia que tuvieron para la culminación de este proyecto. LOS AMO, GRACIAS por ser los mejores padres del mundo.*

*A mis HERMANOS, Miriam y Rubén, por darme todo ese cariño que me han demostrado siempre, y por pasar tantos momentos felices a su lado los amo a los dos con todo el corazón.*

*A MI NOVIO ERICK por ser el ejemplo viviente de que cuando se quiere algo con todas las fuerzas se consigue, GRACIAS por el apoyo en la culminación de mi tesis, por los momentos maravillosos que hemos pasado juntos y por ser el complemento ideal con el cual quiero formar una familia TE AMO CHIQUITO.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*Al INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA. Por todas las enseñanzas que obtuve y por lo que representa en mi corazón ser egresada ITSON, a mis sínodos M.I. Anacleto Félix, por la asesoría brindada para la realización de este trabajo que sin ella no hubiera podido culminar, I.B. Andres Fco. Chavez, Dra. Maria Isabel Estrada, Q. Ernesto Cantú por su paciencia, apoyo y recomendaciones hechas.*

*A MIS COMPADRES, Ugo y Magda, por ser parte de mi familia junto con mis HIJAS, Katon y Carolina, gracias por su apoyo y consejos los quiero.*

*Al resto de mi FAMILIA, abuelos, tíos, primos y mas gracias por ser parte de mi vida.*

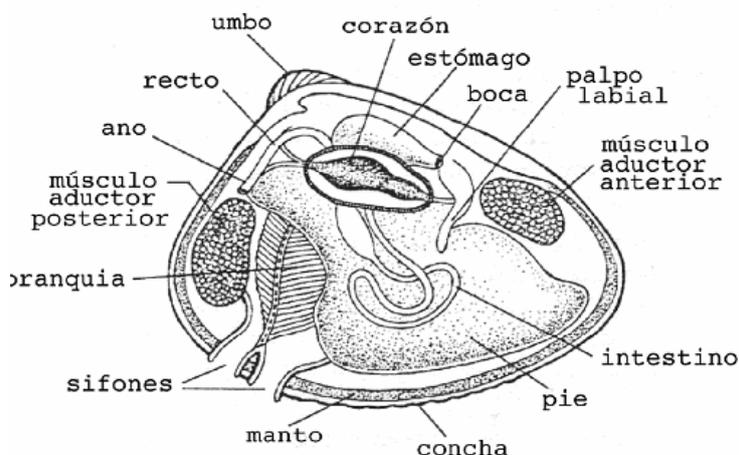
*A MIS AMIGOS, Cristina y Ramón, gracias por darme la oportunidad de conocerlos y saber que siempre serán mis hermanos postizos. Los extraño y quiero.*

*A mi SEGUNDA FAMILIA "ANALITICA", gracias por el apoyo y facilidades que me brindaron para la culminación de mi tesis, y por las enseñanzas que me dan día a día.*

*A Marcial, Carlos, Iris, y Magda por el apoyo y consejos que me dieron para salir adelante con el proyecto.*

*A Karen, y Eloisa por ser unas excelentes compañeras de casa y super amigas gracias por aguantarme.*

*Y a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo a lo largo de la elaboración de tesis y la vida propia. Que Dios los bendiga.*



**Figura 1.** Anatomía de almeja

**Fuente.** (<http://www.biologiamarina.com/dev/projects/moluscos.asp>)

Los músculos aductores es un órgano masivo, de forma variable, que controla en gran parte la abertura y cierre de las valvas (Sevilla, 1993).

El Manto es una estructura sensible y contráctil, se ha mencionado que al distenderse puede rebasar los límites de la concha y sobresalir de esta. La principal función es la formación y mantenimiento de la concha, así como la secreción del ligamento también participa en la respiración e intercambio de gases con el agua circundante (Sevilla, 1993).

Todas las almejas tienen sifones mediante las cuales se alimentan. El sifón se extiende e introduce una corriente de agua. Esta agua no sólo airea las branquias sino que también introduce el plancton o los animales y las plantas microscópicas de las cuales se alimentan (Desrosier, 1984).

Las branquias son cuatro láminas en forma de media luna que se extienden desde la boca hasta unos dos tercios de distancia donde se fusionan los bordes del manto de ambos lados (Walne, 1986). La respiración la efectúan por medio de las branquias, dispuestas en forma de laminillas. Estos órganos también intervienen en el proceso de nutrición (Desrosier, 1984.)

La masa corporal que se encuentra entre el músculo aductor y la charnela contiene el estómago con sus divertículos digestivos, el intestino, el corazón y el riñón (Walne, 1986).

Los palpos labiales son la parte de los bivalvos por donde se elimina el sobrante de las partículas que no se captan a través de la filtración, cuando se tiene un exceso de estas en suspensión

(<http://www.biologiamarina.com/dev/projects/moluscos.asp>)

Las valvas se articulan por medio de dientecillos que constituyen la llamada charnela “bisagra”. El desplazamiento se produce por la acción de una masa muscular denominada pie, aplanada y en forma de hacha (Desrosier, 1984).

No existe una cabeza diferenciada, pero en un extremo de la cavidad del manto hay una boca, y detrás de ésta se encuentra un pie empleado para la locomoción. El pie puede también segregar un manojito de fibras, que el animal emplea para fijarse en un lugar determinado, una roca, por ejemplo (Microsoft Encarta 2006. 1993-2005 Microsoft Corporation).

Los sexos suelen estar separados y la fecundación es externa. El huevo da lugar a una larva con forma de trompo denominada trocófora, que está provista de una serie de cilios o pelos por medio de los cuales se desplaza. A continuación se desarrolla un nuevo estado larvario de aspecto similar al del adulto, la larva belígera, que se fija y crece hasta dar lugar al individuo definitivo (Enciclopedia HISPANICA 1996).

### **1.1.2 Características de importancia de los moluscos bivalvos**

Las almejas son uno de los productos de pesca más consumidos, por ser considerados un alimento bueno, bajo en calorías pero alto en proteínas. En muchas ocasiones, los consumidores de estos alimentos confunden los términos calidad y seguridad alimentaria. Desde este último punto de vista, algunas de sus características justifican un nivel de riesgo muy elevado (Rodríguez, 2002b).

### **1.1.2.1 Se alimentan por filtración**

La almeja hace pasar el agua reteniendo la materia orgánica que pasa a su sistema digestivo, siendo entonces digerida. La materia orgánica que llega al agua suele poseer una contaminación elevada que procede de efluentes de aguas urbanas, industriales, agrícolas o ganaderas que se liberan al medio con una elevada contaminación (Rodríguez, 2002b).

En consecuencia, se debe tener en cuenta que si una proporción, más o menos importante, de las personas que forman parte de la población general son portadoras de microorganismos como *Salmonella*, *Campylobacter* o el mismo virus de la hepatitis A, estos microorganismos pasarán al agua de cultivo y de aquí se acumularán en los animales. El producto resultará altamente contaminado y puede suponer un elevado riesgo para los consumidores (Rodríguez, 2002b).

### **1.1.2.2 Algunos están en contacto con fondos lodosos**

Los lodos son productos con elevada contaminación, por lo que pueden implicar peligros a la salud en ciertos lugares donde el medio este contaminado y se encuentren moluscos enterrados en los lodos (Rodríguez, 2002b).

### **1.1.2.3 Se pueden consumir crudos y vivos**

Los moluscos se pueden transportar vivos hasta el punto de venta o de tratamiento donde la carne con frecuencia es separada a mano. Aunque puede suceder que se contaminen con esta fase del tratamiento, los problemas importantes de salud pública relacionados con el consumo de mariscos derivan más de su capacidad para concentrar los virus y las bacterias de las aguas que les rodean, de la frecuente contaminación de esta agua con aguas residuales y de las costumbres de consumir algunos mariscos crudos o después de una cocción relativamente ligera (Adams, 1997).

La carne fresca de la almeja varía de color, desde el blanco hasta el gris oscuro dependiendo de las especies. Si las almejas son grandes, se elimina el contenido visceral para aclarar el color del producto y para reducir el fuerte sabor que siempre se concentra en el hígado (Desrosier, 1984).

### **1.1.3 Composición química de las almejas**

Las almejas son un buen alimento, saludable, bajo en calorías pero alto en proteínas, yodo, hierro y otros minerales. Una ración promedio de 90 a 125 gramos de carne es alta en proteínas útiles, aunque solo contiene 70 calorías, y tiene la misma cantidad de hierro aproximadamente que una ración igual de hígado de buena calidad (Desrosier, 1984).

## **1.2 Peligros para el humano asociados al consumo de almejas**

El consumo crudo de los moluscos bivalvos, supone un riesgo muy elevado de difícil solución. Hasta tal punto es así, que algunos países, como el Reino Unido o Estados Unidos, obligan a un etiquetado específico en el que se señala que el consumo crudo puede ser perjudicial para la salud ocasionándoles gastroenteritis u otros síntomas de acuerdo al microorganismo presente al momento de la ingesta (Rodríguez, 2003c).

### **1.2.1 Virus**

La transmisión de enfermedades virales, de zonas endémicas a otras con baja incidencia, a través de los moluscos bivalvos, es uno de los riesgos de preocupación en la Salud Pública, principalmente las causantes de gastroenteritis y Hepatitis A

([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

### 1.2.1.1 Algunos aspectos que hacen posible esta transmisión

Si bien los virus de importancia para el consumidor no se reproducen en los moluscos bivalvos, éstos tienen capacidad de concentrarlos en sus órganos, manteniéndolos viables.

No hay metodología analítica normada para su control. Las reglamentaciones actuales se basan en métodos indirectos como la medición de contaminación fecal, a partir de lo cual se supone que los virus “pueden” estar presentes. Hay sin embargo, bibliografía suficiente que demuestra que este supuesto es erróneo, dado que con bajo número de coliformes puede haber contaminación viral. Por esto la tendencia actual es el uso de un criterio virológico para su control

([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

### 1.2.2 Bacterias

Una gran parte de las bacterias patógenas que pueden estar concentradas en los moluscos bivalvos, son producto de la actividad humana en cercanías a los lugares de producción. Al igual que con las enfermedades virales, la diseminación de éstas fundamentalmente ocurre debido a la falta de tratamientos efectivos de los efluentes cloacales de las poblaciones, potenciado por la capacidad filtrante de los moluscos bivalvos.

Otras bacterias en cambio se pueden encontrar normalmente en el medio en el que se desarrollan estos organismos, que constituye la denominada flora normal tal como ocurre con el grupo de *Vibrios parahaemolyticus*, *vulnificus* y *cholerae* ([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

### 1.2.3 Metales pesados

Este es un grupo de contaminantes químicos generalmente de origen inorgánico, que pueden estar presentes en los moluscos bivalvos, tal como ocurre en algunos grupos de peces, fundamentalmente como producto de la actividad industrial de la zona aledaña a las explotaciones. La importancia de los mismos radica en su

característica de no degradarse, por lo que tienden a acumularse. Otras características dignas de mención son: su interacción entre ellos dentro del organismo por ejemplo la potenciación de los efectos tóxicos entre el cadmio y zinc, son peligrosos aún en bajas concentraciones.

La lista de todos puede ser extensa, sin embargo cobran especial importancia los siguientes: cadmio, plomo y mercurio, dado que todos han sido en algún momento responsable de episodios de intoxicaciones espectaculares

([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

#### **1.2.4 Organohalogenados**

La mayor parte de estos compuestos se encuentra en los productos agroquímicos (fundamentalmente pesticidas, plaguicidas organoclorados y organofosforados) de uso en explotaciones pecuarias, que luego son trasladadas por cursos de agua al medio ambiente marino costero

([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

#### **1.2.5 Biotoxinas marinas**

Este es un fenómeno que se presenta en forma natural y está causado por un grupo de toxinas provenientes de algas planctónicas-dinoflagelados en la mayoría de casos que constituyen parte de la alimentación de los moluscos bivalvos. La toxina se acumula en la parte comestible de éstos, con el agravante que pueden persistir luego del proceso de depuración de los moluscos y son termoestables, es decir que los tratamientos de cocción no las destruyen. Los síndromes asociados a la acumulación de estas biotoxinas son: la intoxicación paralizante por moluscos, intoxicación diarreica, intoxicación neurotóxica, intoxicación amnésica

([http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)).

### 1.2.6 Conservación

Las ostras mantenidas a temperaturas de refrigeración (4°C), se conservan en buen estado mientras siguen estando vivas dentro de las conchas, pero se descomponen rápidamente en cuanto mueren, ocurriendo lo mismo en las que se conservan sin sus conchas (Desrosier, 1984).

### 1.2.7 Alteración

Es de suponer que la flora microbiana de moluscos varía considerablemente, dependiendo de la calidad del agua en la que son capturados y de la calidad del agua de lavado (Jay, 2002).

El tipo de alteración de las ostras desprovista de sus conchas depende de la temperatura de almacenamiento. Las ostras no sólo contienen una elevada cantidad de proteínas, sino que también contienen azúcares, los cuales son originados por la hidrólisis del glucógeno. A temperaturas próximas a la de congelación (0°C), las bacterias más importantes que las alteran son las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, aunque también se pueden multiplicar en ellas especies *Flavobacterium* y *Micrococcus*. Si bien la alteración que experimentan se le denomina agriado, las modificaciones que tienen lugar en ellas son de tipo proteolítico. A temperaturas más elevadas, el agriado puede ser consecuencia de la fermentación de los azúcares llevado a cabo por bacterias *Coliformes*, por *Streptococos*, por *Lactobacilos* y por levaduras que producen ácidos y un olor agrio (Frazier, 1993).

La carne de los moluscos contiene niveles elevados de bases nitrogenadas más o menos como en otros mariscos. El mayor contenido de materiales de carbohidratos de los mariscos de moluscos es responsable del diferente tipo de alteración de estos alimentos con respecto a otros alimentos marinos (Jay, 2002).

La escala de pH sirve como base para determinar la calidad microbiana de las ostras como se puede observar en la tabla 1.

**Tabla 1.** Calidad microbiana de ostras de acuerdo al pH

pH	Calidad microbiana
pH 6.2-5.9	Buenas
pH 5.8	Pasadas
pH 5.7-5.5	Mohosas
pH 5.2 e inferior	Agrias o putrefactas

**Fuente.** Jay, 2002

Las ostras que se consumen crudas son especialmente peligrosas. Diversos miembros del género *Vibrio* son patógenos para el hombre, al que pueden causarle enfermedades tras la ingestión de productos marinos crudos o insuficientemente cocidos. *Vibrio parahaemolyticus* es más común, pero *V. vulnificus* origina una grave enfermedad septicémica, que puede asociarse al consumo de ostras crudas. También se han atribuido brotes de cólera al consumo de moluscos con concha (Rodríguez, 2002a).

### 1.3 Género *Vibrio*

En los últimos años se han detectado en los estuarios bacterias autóctonas de la familia *Vibrionaceae* que pueden ser agentes causales de enfermedad en el humano; estas bacterias se pueden aislar frecuentemente de los ostiones e incluyen: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas*, entre otros (Leyva et al, 1996).

Nasreldin E. et al (2004) examinaron 768 muestras de mariscos del mercado de Malasia, 8 especies de *Vibrio* potencialmente patógenas fueron aisladas, 4.6% pertenecían a *V. cholerae*, 4.7 % de *V. parahaemolyticus* y 6.07% de *V. vulnificus*. Los resultados indican que varios mercados están contaminados sin importar la estación y sugieren que haya medidas de seguridad para el consumidor.

Los *Vibrios* se encuentran habitualmente en el agua de mar y su número aumenta en el verano, la mayor parte de las infecciones se producen durante el verano y el otoño (<http://www.salcobrand.cl/AppWeb/marzo/marisco.asp>).

Las especies microbianas del género *Vibrio* son bacterias propias del agua y especialmente de ambientes marinos. En los estuarios, donde hay una mezcla de

agua marina con agua dulce y dónde las condiciones de salinidad, temperatura o movimiento del agua, entre otros factores, son más homogéneas, pueden incluso ser los microorganismos predominantes. Su alta presencia determina que los alimentos más frecuentemente contaminados sean los productos de la pesca (Rodríguez, 2002a).

Los microorganismos pertenecientes al género *Vibrio* son bacilos cortos Gram negativos que miden de 0.5 a 0.8 micras de diámetro por 1.4 a 2.6 micras de largo, levemente curvados o enrollados en forma de coma, pudiendo formar una o dos vueltas (Torres, 2002a).

Se tiñen con colorantes de anilina, es móvil por un flagelo polar grueso que presenta un centro y una vaina externa, se presentan solos unidos a dos o más microorganismos formando una "s" o espirilo. No forman endosporas ni microquistes, no fijan ni desnitrifican el nitrógeno, todos son quimioorganotrófos (Torres, 2002a).

Los iones sodio estimulan su crecimiento, fermentan la D-glucosa produciendo ácido pero no gas, la mayoría son oxidasa positiva y todos crecen a 20°C (Torre, 2002a).

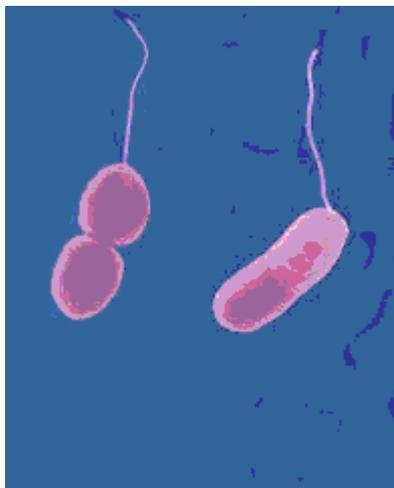
Entre las diferentes especies de *Vibrio*, las bacterias *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* son las que, de manera más frecuente, se encuentran implicadas en brotes de intoxicaciones alimentarias (Rodríguez, 2002a).

#### **1.4 Aspectos generales de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus***

*Vibrio parahaemolyticus* es un miembro de la familia *Vibrionaceae* usualmente asociado con enfermedades transmitidas por los alimentos (Torres, 2002b) en México se han hecho estudios de la presencia de este microorganismo en alimentos marinos encontrándose incidencia positiva a *V. parahaemolyticus* como se observa en la tabla 2.

Esta bacteria es halófila requiere de NaCl para crecer y se encuentra ampliamente distribuida en estuarios y ambientes costeros, se ha aislado a partir de sedimentos de peces y mariscos, y su presencia está directamente relacionada con la temperatura y el ciclo estacional (Torres, 2002b).

La bacteria es un bacilo Gram negativo, no esporógeno, recto o ligeramente curvo de 1 a 3 micras de longitud por 0.4 a 0.6 de diámetro, es típicamente móvil con un flagelo polar como se muestra en la figura 2, cuando crece en medios líquidos y en medios de pH de 8.5 o más, produce un flagelo único envainado, sin embargo en medios sólidos produce flagelos peritricos no envainado (Torres, 2002b).



**Figura 2.** Bacteria *Vibrio parahaemolyticus*

*Vibrio parahemolyticus* es un organismo mesófilo, la temperatura óptima para su crecimiento es de 35 a 37 °C, el crecimiento se detiene por encima de los 44 °C Y la temperatura más baja a la cual se desarrolla en el laboratorio es de 5 °C (Torres, 2002b).

La especie *V. parahaemolyticus* es organotrófico y halófilo, es decir requiere de NaCl para desarrollarse. Esta bacteria puede multiplicarse en un rango de salinidad tan bajo como 1% y hasta 8%, con crecimiento óptimo entre 2 a 3%, no crece a 0% de NaCl. El ion sodio parece ser necesario para la síntesis de proteínas, así como la regulación osmótica, es anaerobio facultativo y halófilo obligado (Torres, 2002b).

La dosis infectante es de  $10^5$  a  $10^7$  ufc/g, sin embargo, una disminución de la acidez gástrica puede reducir la dosis infectante. La gastroenteritis producida por lo común es autolimitada (2 a 5 días) y se caracteriza por diarreas que pueden variar desde moderadas a una forma aguda de tipo coleriforme y ocasionalmente disenteriforme con sangre y moco en las heces (Torres, 2002b).

Al existir grandes concentraciones de la bacteria en el mar, los mariscos, especialmente los bivalvos, como ostras y almejas, absorben a su vez mayores cantidades de las habituales del vibrión. Esto no significa que otros mariscos estén libres de contaminación, por lo que la enfermedad se transmite por ingestión de cualquier marisco contaminado crudo o mal cocido

<http://epi.minsal.cl/epi/html/Actualidad/Vparahaemolyticus2004.htm>).

El transporte o almacenamiento de productos del mar sin las condiciones adecuadas de refrigeración favorecen la proliferación de la bacteria y, por lo tanto, la posibilidad de infecta

<http://epi.minsal.cl/epi/html/Actualidad/Vparahaemolyticus2004.htm>).

**Tabla 2.** Incidencia de *Vibrio parahaemolyticus* en alimentos marinos en México

Alimento involucrado	Procedencia	Muestras analizadas	Positividad a <i>V. parahaemolyticus</i>	referencia
Peces y mariscos crudos	Puebla, puebla	103	6%	Gil y col, 1974
Ostiones	Acapulco guerrero	150	5%	Villanueva, 1977
Pescado	Puebla, puebla	88	5%	Ramirez-Guevara y col, 1979
Pescado	Ciudad de México	389	0%	Fernández-Rendón y col., 1988
Productos marinos	Puebla, puebla	110	10.28%	Tejada-Trujillo y col., 1990
Ostiones	México	50	8%	Villalpando y col., 1997
Almejas	Golfo de México	260	20.7%	Quiñones-Ramírez y col, 1999
Ostras	México	50	12.5%	Vásquez-Sánchez y col, 1998
Filete de pescado	Ciudad Obregón sonora	25	40%	González Chinchillas y col., 1999
Pescado, ostión y camarón	Guadalajara Jalisco	577	45.6%	Torres-Vitela y col., 1999
Ostiones	Guadalajara Jalisco	163	37.1%	Valera, 1998

**Fuente.** Torres, 2002b

### 1.5 Aspectos generales de la bacteria *Vibrio vulnificus*

*Vibrio vulnificus* es una bacteria Gram-negativa que forma parte de un grupo de *Vibrios* denominados halófilos por su requerimiento de sal. Se encuentra de forma natural en ambientes marinos aguas costeras y de estuarios. Ha sido aislado de un amplio rango de fuentes ambientales: agua, sedimentos, plancton y mariscos como ostras, almejas y en variedad de localizaciones. La bacteria es más frecuente en tiempo cálido

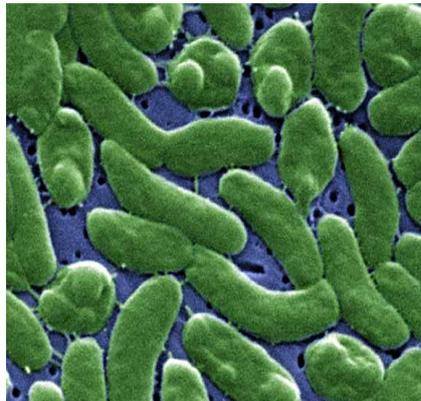
(<http://docum.azti.es/RIESGOS.nsf/0/4c3935cd902aae43c1256ad10050163b?OpenDocument>)

*V. vulnificus* es bacilo Gram negativo como se muestra en la figura 3, móvil, halófilo obligado, que no requiere  $Mg^{++}$  o  $K^+$  para su desarrollo. Las concentraciones óptimas de NaCl para su crecimiento están entre 1 y 3%. Crecen a temperaturas que van desde 10 hasta 43°C, su temperatura óptima de desarrollo es de 37°C. Los valores de pH en los cuales crece esta bacteria varían de 7.5 a 8.5 (Torres, 2002b).

De entre las once especies de *Vibrio* consideradas patógenas para el hombre, sólo *V. vulnificus* ha logrado ganar la reputación de “bacteria asesina” por ser responsable de todas las muertes ocasionadas por el consumo de ostiones durante los últimos quince años (Torres, 2002b).

Martínez, (2001) reportó incidencia del 25% de *Vibrio vulnificus*, aislándose 6 cepas de este microorganismos y 7 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* en pata de Mula (*andora* sp), consumidas en Ciudad Obregón Sonora, lo cual no se consideró de alto riesgo, sin embargo su presencia indica precaución a los consumidores, la presencia de estos microorganismos en pata de mula son indicativos de una baja calidad del producto.

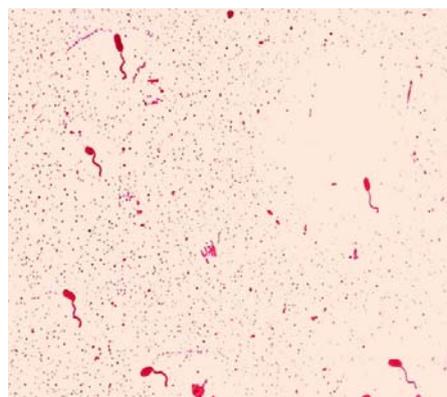
Esta bacteria puede causar una grave septicemia primaria, llegando a provocar la muerte, también tienen capacidad de originar severas infecciones de heridas por la introducción de la bacteria a través de la piel cortada (Torres, 2002b).



**Figura 3.** Bacteria *Vibrio Vulnificus*

### **1.6 Aspectos generales de la bacteria *Vibrio cholerae***

*Vibrio cholerae* es un bacilo Gram negativo anaerobio facultativo perteneciente al género *Vibrio*, de la familia *Vibrionaceae*. Presenta forma de coma, es extremadamente móvil debido a su único flagelo polar, mide entre 0.2 a 0.4  $\mu\text{m}$  por 1.5 a 2.4  $\mu\text{m}$  como se observa en la figura 4 (<http://www.ops.org.uy/pdf/vibrio.pdf>).



**Figura 4.** Bacteria *Vibrio cholerae*

### 1.6.1 Requerimientos ambientales

El rango de temperaturas de crecimiento están entre 16 y 42°C con un óptimo de 37°C, con un rango de pH de 6.8 a 10.2 y un pH óptimo de 7.0 a 8.0 (<http://www.ops.org.uy/pdf/vibrio.pdf>).

### 1.6.2 Hábitat natural

Se ha encontrado en ambientes marinos en regiones templadas o tropicales, en lagos y ríos, en moluscos y crustáceos, en pájaros y herbívoros aún lejos de las costas marinas. El número de bacterias de *Vibrio cholerae* disminuye a medida que la temperatura del agua baja por debajo de 20°C. La enfermedad humana resulta de la ingestión de agua contaminada o del consumo de alimentos contaminados (<http://www.ops.org.uy/pdf/vibrio.pdf>).

### 1.6.3 Importancia clínica

El cuadro clínico puede oscilar desde una leve diarrea no complicada hasta producir una enfermedad grave, con diarrea fulminante, coma y muerte en pocas horas. *Vibrio cholerae* serogrupo 01 es el agente etiológico del cólera epidémico, tiene dos biotipos: Clásico y el Tor. La transmisión se produce por la ingesta del microorganismo cuyo origen son excretas de personas infectadas. Los mecanismos pueden ser: directos de persona a persona o contaminación cruzada través de alimentos contaminados mediante las manos sucias, alimentos contaminados mediante el uso de aguas servidas, o de productos marinos contaminados. El período de incubación es de varias horas hasta 5 días, dependiendo del tamaño del inóculo. Si la bacteria consigue atravesar la acidez del estómago (primera gran barrera), coloniza el intestino delgado y comienza a producir una toxina. Los síntomas de la enfermedad se deben a la acción de la toxina colérica que actúa a nivel del intestino produciendo secreción de líquido y electrolitos, lo cual lleva a severa deshidratación (<http://www.ops.org.uy/pdf/vibrio.pdf>).

La dosis infectante se estima en aproximadamente  $10^6$  células; la dosis depende de varios factores: la acidez gástrica, la cantidad y tipo de comida que hay en el estómago (Torres, 2002a)

Dentro del género *Vibrio* se encuentran tres bacterias de importantes clínica que posee características similares como se observa en la tabla 3.

**Tabla 3.** Diferencia entre las 3 especies de *Vibrios* estudiadas.

ESPECIES	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parahamolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>
Flagelos laterales en medio sólido	+	+	-
Forma bacilar	S	S	D
VP	-	+ <sup>a</sup>	v
Crecimiento en 10% NaCl	-	+	-
Crecimiento en 6% NaCl	+	+	-
Crecimiento en enjambre	-	+	-
Producción de acetona/diacetilo	-	+	-
sacarosa	-	+	+
celobiosa	-	-	-
Utilización de la putrescina	+	D	-
Color en agar TCBS	G	Y	Y

a: 24h      S: recto      G: Verde      D: del 11 al 90% de las cepas positivas

Y: amarillo      v: variable, inconstancia de las cepas

**Fuente.** Martínez, 2001

## 1.7 Tinción Gram

La morfología celular y la estructura de la pared celular de las bacterias son un criterio básico en la identificación de las mismas. Toda colonia sospecha de pertenecer a una especie determinada debe observarse primero microscópicamente para decidir si pertenece o no a un género o grupo específico, con base a su morfología.

En la tinción Gram, un complejo insoluble de cristal violeta-yodo se forma en el interior de la célula. Este complejo es extraído de las bacterias Gram- negativas, pero no de las Gram-positivas. Las bacterias Gram-positivas tienen una pared celular constituida por varias capas de peptidoglicano, que se deshidratan por acción del alcohol. Esto provoca que los poros de la pared se cierren evitando la salida del complejo insoluble.

En las bacterias Gram negativas, el alcohol penetra instantáneamente la capa externa rica en lípidos, y la capa delgada de peptidoglicano no evita la entrada del solvente, de manera que el complejo cristal violeta-yodo es removido fácilmente. De esta manera, la aplicación de un colorante de contraste nos permite distinguir fácilmente unas formas bacterianas de otras (Forbes, et al 1998).

## 1.8 Descripción de pruebas bioquímicas

Para identificar las cepas de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*, posterior a la tinción Gram debe hacerse un análisis bioquímico. Esto con el fin de diferenciar a estas bacterias de otras especies cuya morfología celular sea similar.

### 1.8.1 Prueba de la Catalasa

El fundamento de esta prueba se basa en comprobar la presencia de la enzima catalasa (McFaddin, 1984).

### 1.8.2 Prueba de la Oxidasa

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones (McFaddin, 1984).

### 1.8.3 Agar Citrato de Simmons

Este medio se utiliza para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, provocando alcalinidad. Ayuda a la diferenciación entre los géneros: *Edwardsiella* (-) de *Salmonella* por lo general (+), *Serratia liquefaciens* (+) de *Yersinia pseudotuberculosis* por lo general (-), grupos *Klebsiella-Enterobacter* por lo general (+) de *Escherichia coli* (-) (McFaddin, 1984).

### 1.8.4 Caldo RM-VP

En este caldo se determina la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales, ácidos de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema, así como también es la prueba cualitativa de la producción de ácido. La reacción es positiva principalmente para *E. coli* y negativa para *Enterobacter* y *Kliebsiella* (McFaddin, 1984).

También ese caldo determina la capacidad de algunos microorganismos de producir un producto final neutro llamado acetyl-carbinol (acetoina), a partir de la fermentación de la glucosa (McFaddin, 1984).

### 1.8.5 Licuefacción de la gelatina

Este medio se utiliza para determinar la capacidad de un organismo de producir enzimas de tipo proteolítico (proteasas) que licuan la gelatina. Ayuda a la

diferenciación entre los géneros: *Staphylococcus aureus* (+) del *Staphylococcus epidermis* (+, lento). Ayuda también a la identificación de: *Serratia liquefaciens* (+), *Pseudomonas aeruginosa* (+, rápida), especies de *Flavobacterium* (+) (McFaddin, 1984).

#### **1.8.6 Prueba de agar hierro y lisina (LIA)**

Este medio se emplea para determinar la descarboxilación y desaminación de la lisina. La lisina puede ser descarboxilada por microorganismos LD- positivos (Lisina descarboxilasa positivos), que la transforman en amina cadaverina. Esto produce un vire al violeta del indicador de pH púrpura de bromocresol. Para que ocurra la descarboxilación es necesario que se acidifique el medio por la fermentación de la glucosa. Por este motivo de cultivo solo puede utilizarse para la diferenciación de cultivos que fermentan la glucosa, como *Klebsiella*, *Arizona*, *Salmonella* (McFaddin, 1984).

#### **1.8.7 Prueba de motilidad, producción de indol y ácido sulfúrico**

La prueba determinar si la bacteria a través de *Triptofanasas* puede degradar el Triptófano a indol, si hay producción de H<sub>2</sub>S a partir de aminoácidos azufrados, y si la bacteria es móvil (McFaddin, 1984).

#### **1.8.8 Caldo urea**

Se utiliza para determinar la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoniaco por acción de la enzima ureasa, esta actividad enzimática es características de todas las especies de *Proteus*, se usa sobre todo para diferenciar los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positivos de miembros de las *Enterobacteriaceae*, ayuda a la diferenciación de especies: *Yersinia pestis* (+) de *Yersinia pseudotuberculosis* (+) y *Yersinia enterocolitica* (+) (McFaddin, 1984).

### **1.8.9 Prueba con agar hierro triple azúcar (TSI)**

La prueba con agar hierro triple azúcar determina la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gas, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S). Es un medio diferencial muy usado en la identificación de enterobacterias patógenas. Su modo de acción es semejante al medio Kligler que contiene dos azúcares, adicionado además con 1% de sacarosa. Eso permite el reconocimiento y exclusión de *Proteus*, *Hafnia* y *Providencia*, no fermentan la lactosa o lo hace muy lentamente y si un cambio fermenta la sacarosa con bastante rapidez, lo cual permite excluir a este grupo de bacterias de *Salmonella* y *Shigella* (McFaddin, 1984).

### **1.8.10 Prueba del malonato de Ewing modificado**

Este medio determina la capacidad de un microorganismo de utilizar al malonato de sodio como única fuente de carbono, con la siguiente alcalinidad; ayuda a la diferenciación entre los géneros: *Alcaligenes faecalis* (+) de *Acinetobacter* (-), *Arizona* (+) de *Salmonella* por lo general (-), grupos de *Klebsiella-Enterobacter* por lo general (+) de *Escherichia coli* (-) (McFaddin, 1984).

### **1.8.11 Prueba de oxidación – fermentación (OF)**

Este medio tiene como primordial función determina el metabolismo oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono. Se utiliza para diferenciar géneros intestinales no entérico, gram negativos de las *Enterobactereaceas*, también ayuda a la diferenciación entre los géneros de las *Micrococcaceae* y *Staphylococcus* (McFaddin, 1984).

### 2.1.1 Sitios de muestreo

El estudio se realizó durante el periodo comprendido de Junio a Julio de 2005. Se seleccionaron 5 sitios de muestro distribuidos aleatoriamente en el Puerto de Yavaros. La tabla 4 enlista la ubicación de los sitios de muestreo estudiados, tomándose de referencia los más concurridos por los habitantes.

**Tabla 4.** Localización de los sitios de muestreo

SITIO	UBICACIÓN
1	Álvaro Obregón y Periférico
2	Periférico frente a Yavaros industrial
3	Miramar y periférico
4	Bahía
5	Frente al muelle

## 2.2 Muestreo y frecuencia

Se tomaron 5 muestras semanales, recolectándose de 6 a 12 piezas de almejas en su concha en cada uno de los 5 sitios estudiados.

## 2.3 Metodología

### 2.3.1 Manejo y transporte de las muestras

La toma de las muestras se llevó a cabo bajo condiciones asépticas en bolsas de plástico, a partir de la recolección, las muestras se transportaron al laboratorio en una hielera para preservar las muestras a temperatura de refrigeración, para posteriormente llevarse a cabo la preparación y análisis de las mismas dentro de las 6 horas posteriores a su recolección.

### 2.3.2 Preparación de la muestra

Las muestras se lavaron y cepillaron con agua corriente y agua destilada para limpiar la superficie de la concha, y se secaron con gasas estériles. Se desconcharon de 6 a 12 piezas y se depositaron en un vaso de licuadora estéril, incluyendo el líquido, se licuó para homogenizar por dos minutos a alta velocidad.

### 2.4 Análisis microbiológico

Se tomaron 25 g de muestra y se vertieron en 225 ml de caldo peptona alcalina, incubándose de 35 a 37 ° C, durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación, se transfirió el inóculo de la película (crecimiento superficial) por medio de una asa de platino de 3 a 5 ml de diámetro, a una placa del medio de cultivo selectivo: Agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS), se incubó de 35 a 37°C a 24 horas

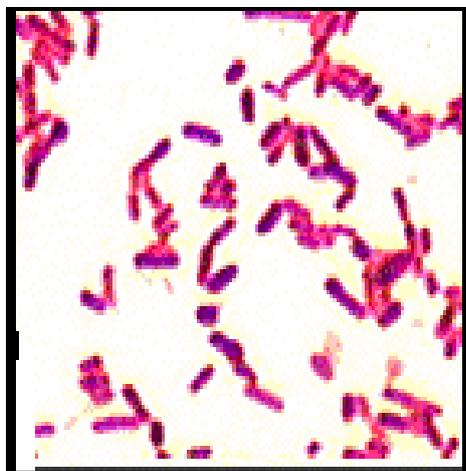
Se observaron las placas identificar las colonias típicas de *Vibrios*, se seleccionaran 3 colonias sospechosas (redondas, amarillas, azul-verdes y verdes) como se observan en la figura 6.



**Figura 6.** Características de las colonias de *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio parahaemolyticus* en agar TCBS.

### 2.4.1 Tinción Gram

Previo a las pruebas bioquímicas se realizó una tinción GRAM de los cultivos. Las colonias con las características antes mencionadas se suspendieron en una gota de agua previamente colocada sobre un portaobjeto. Esta preparación se seco al aire para posteriormente fijarse mediante calentamiento ligero y se cubrió con una solución de cristal violeta durante un minuto, se lavó con agua corriente y se escurrió. Después de esto se cubrió con lugol y se dejó actuar por un lapso de 30 segundos, se enjuagó y se escurrió. Posteriormente, se decoloró con etanol al 95% durante 10 segundos, y después de enjuagar se aplicó el colorante de contraste safranina por espacio de un minuto. Finalmente se enjuagó con agua destilada y se dejó secar (*Koneman, et al*). Las preparaciones se observaron al microscopio. Aquellas que mostraban formas bacilares con reacción Gram negativa se sometieron al análisis bioquímico. La morfología de las células de *Vibrios* se muestra en la figura 7.

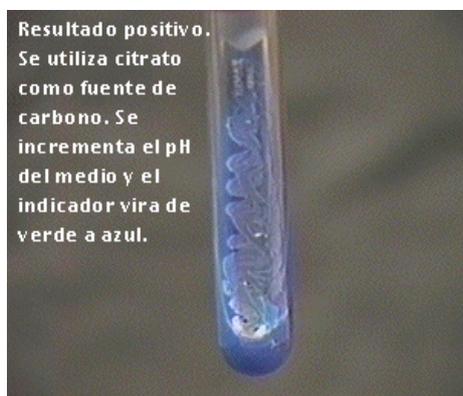


**Figura 7.** Morfología celular de *Vibrios* teñida con Gram.

### 2.4.2 Pruebas bioquímicas

Debido a que otras especies diferentes a los *Vibrios* estudiados pueden presentar características morfológicas similares sobre placas de agar TCBS, es necesario hacer una diferenciación basada en facultades bioquímicas de cada cepa, como la expresión de algunas enzimas específicas y la utilización de carbohidratos. A partir de una colonia aislada de agar TCBS se realizaron pruebas bioquímicas que se describen a continuación.

- **Utilización Citrato de Simmons.** Para llevar a cabo esta prueba se utiliza el medio de cultivo agar Citrato de Simmons (inclinado), este es inoculado por picadura en el fondo y por estría en la superficie, se incuba a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por  $96 \pm 2$  horas.
  - ✓ Pruebas positiva: crecimiento acompañado de un cambio de color de verde a azul como se muestra en la figura 8.
  - ✓ Prueba negativa: ausencia de crecimiento y sin cambio de color.



**Figura 8.** Prueba bioquímica positiva de agar Citrato de Simmons.

- **Prueba de motilidad, producción de indol y ácido sulfúrico.** En estas pruebas se utiliza el medio SIM, vertical, es sembrado por picadura en el centro del tubo perpendicular a la base; se incuba por 24 horas de  $35$  a  $37^\circ\text{C}$ , la interpretación es de la siguiente manera:

### Movilidad

- ✓ Prueba positiva: crecimiento a lo largo de la punción y el seno del medio del medio de cultivo.
- ✓ Prueba negativa: crecimiento a lo de la punción exclusivamente.

### Producción de indol

Adicionar al tubo de medio SIM, 5 gotas del reactivo de Kovac.

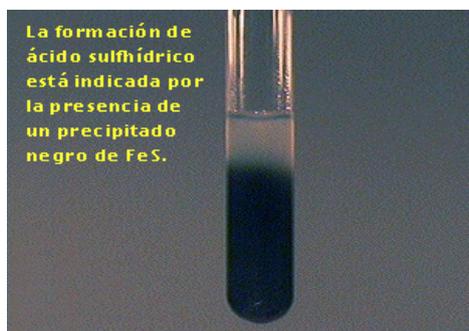
- ✓ Prueba positiva: desarrollo de un anillo de color rojo como se muestra en la figura 9.
- ✓ Prueba negativa: sin cambio de color.



**Figura 9.** Prueba bioquímica positiva de la producción de indol

### Prueba de ácido sulfhídrico

- ✓ Prueba positiva: desarrollo de un color negro a lo largo de la punción que puede extenderse a todo el medio como se muestra en la figura 10.
- ✓ Prueba negativa: ausencia de color negro.



**Figura 10.** Prueba bioquímica positiva para ácido sulfhídrico

- **Prueba de rojo de metilo y Vogues-Proskauer.** Esta prueba se realiza en caldo RM-VP y la inoculación se lleva a cabo por medio de una asada simple y es incubado de 72 a 120 horas de 35 a 37°C; y los resultados son los siguientes:

### **Prueba de Vogues-Proskauer (VP)**

Adicionar 0,6 ml de solución de alfa naftol, adicionar 0,2 ml de solución de hidróxido de potasio 40%. Interpretar los resultados después incubar 2 horas de 35 a 37°C.

- ✓ Prueba positiva: desarrollo de un color rojo ladrillo como se muestra en la figura 11
- ✓ Prueba negativa: sin cambio de color.

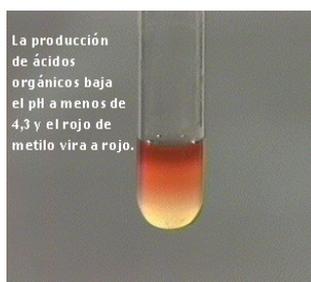


**Figura 11.** Prueba bioquímica positiva para Vogues-Proskauer

### **Prueba de rojo de metilo (RM)**

Adicionar al medio de cultivo de 96 horas de incubación de 2 a 3 gotas de solución de rojo de metilo. Interpretar los resultados inmediatamente

- ✓ Prueba positiva: desarrollo de un color rojo como se muestra en la figura 12
- ✓ Prueba negativa: desarrollo de color amarillo.



**Figura 12.** Prueba bioquímica positiva para rojo de metilo

- **Utilización del malonato.** el caldo malonato de Edwing es utilizado para realizar esta prueba, la cual es inoculado por medio de una asada simple y es incubado de 35 a 37°C por 40 ± 2 horas, los resultados se interpretan de la siguiente manera.
- ✓ Prueba positiva: desarrollo de color azul.
  - ✓ Prueba negativa: sin cambio de color.
- **Prueba de la motilidad, producción de indol y ornitina.** El medio utilizado para esta prueba es MIO, que es vertical y es sembrado por picadura en el centro del tubo, perpendicular a la base, es incubado de 35 a 37°C de 24 ± 2 horas, los resultados se interpretan de la siguiente manera.

#### **Movilidad**

- ✓ Prueba positiva: crecimiento a lo largo de la punción y el seno del medio de cultivo.
- ✓ Prueba negativa: crecimiento solo en la picadura.

#### **Descarboxilación de la ornitina**

- ✓ Prueba positiva: cambio de color en el medio de violeta a púrpura.
- ✓ Prueba negativa: presencia de color amarillo en el medio.

#### **Producción de indol**

Adicionar al tubo con medio SIM que presente crecimiento, 5 gotas del reactivo de kovac.

- ✓ Prueba positiva desarrollo de un color rojo.
- ✓ Prueba negativa: sin cambio de color.

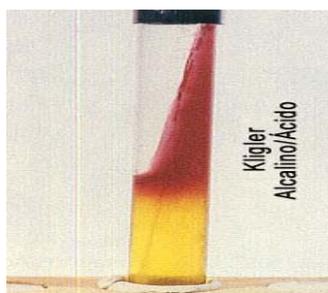
- **Aprovechamiento de la lisina.** Para el aprovechamiento de la lisina se utiliza el medio agar de hierro y lisina (LIA), es un medio vaciado en forma inclinada en el tubo y se inocula por picadura en el fondo y estrías en la superficie, es incubado de 35 a 37°C ± 2 horas, los resultados se interpretan de la siguiente manera.
- ✓ Descarboxilación positiva: fondo de color púrpura.
  - ✓ Descarboxilación negativa: fondo del tubo de color amarillo.

- ✓ Desaminación positiva: superficie del tubo de color rojo.
- ✓ Desaminación negativa: superficie púrpura o sin cambio de color.

- **Utilización de carbono de glucosa y lactosa, producción de gas y ácido sulfhídrico.** En agar hierro triple azúcar (TSI) es utilizado para esta prueba , este medio es sembrado por picadura en el fondo y por estria en la superficie es incubad de 35 a 37°C ± 2 horas y los resultados son los siguientes:

#### **Fermentación de glucosa**

- ✓ Prueba positiva: se observa un color amarillo en el fondo y un color rojo en la superficie como se muestra en la figura 13
- ✓ Prueba negativa: no hay cambio de color.



**Figura 13.** Prueba bioquímica positiva para fermentación de glucosa en agar TSI

#### **Fermentación de lactosa**

- ✓ Prueba positiva: se observa un color amarillo en la superficie y un color rojo en el fondo.
- ✓ Prueba negativa: no hay cambio de color.

#### **Producción de gas**

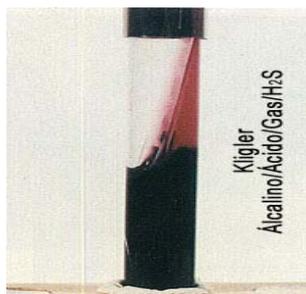
- ✓ Prueba positiva: se manifiesta mediante burbujas en el medio o una sola burbuja como se muestra en la figura 14
- ✓ Prueba negativa: no hay burbuja en el medio.



**Figura 14.** Prueba bioquímica positiva para producción de gas en agar TSI

### **Producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S)**

- ✓ Prueba positiva: la presencia de un precipitado color negro (sulfuro ferroso) como se muestra en la figura 15.
- ✓ Prueba negativa: no se observa precipitado color negro.



**Figura 15.** Prueba bioquímica positiva de ácido sulfúrico en agar TSI

- **Actividad de citocromo oxidasa.** Para realizar la prueba se toma la asada de una colonia pura de 24 horas a examinar y se coloca en una placa que contenga reactivos Gordon y McLeod, transcurridos 20 segundos.
  - ✓ Prueba positiva: color púrpura dentro de los 20 segundos como se muestra en la figura 16.
  - ✓ Prueba negativa: no hay cambio de color.



**Figura 16.** Prueba positiva prueba bioquímica oxidasa

- **Catalasa.** Para realizar la prueba se toma con el asa de siembra el centro de una colonia pura de 18 a 24 horas y se coloca sobre un portaobjetos limpio de vidrio, se adicionan unas gotas de peróxido de hidrógeno al 3% ( $H_2O_2$ ), sobre el microorganismo sin mezclarlo sobre el cultivo y los resultados son los siguientes:
  - ✓ Prueba positiva: formación inmediata de burbujas visibles.
  - ✓ Prueba negativa: no hay formación de burbujas.
  
- **Licuefacción en la gelatina.** El medio gelatina nutritiva es sembrada por picadura y se lleva a incubación a  $24 \pm 2^\circ C$  a  $48 \pm 2$  horas, y refrigerarlos por 20 minutos, la interpretación del resultado es el siguiente:
  - ✓ Prueba positiva: licuefacción de la gelatina
  - ✓ Prueba negativa: la gelatina permanece sólida.
  
- **Aprovechamiento del nitrógeno de la urea.** Esta prueba se realiza en caldo urea, el cual es inoculado por asada simple e incubado de  $35$  a  $37^\circ C$  por  $48 \pm 2$  horas, la prueba se interpreta de la siguiente manera:
  - ✓ Prueba positiva: vire a color rosado como se muestra en la figura 17.
  - ✓ Prueba negativa: no hay cambio de color



**Figura 17.** Prueba positiva para prueba bioquímica urea

- **Prueba de fermentación-oxidación de carbohidratos (OF).** Esta prueba es realizada en el medio OF, en la cual se inoculan dos tubos por picadura profunda, al cual a uno de ellos se le agrega 1 ml de aceite mineral estéril e incubado de 35 a 37°C por  $48 \pm 2$  horas, y su interpretación es la siguiente:
- ✓ Prueba positiva: cambio de color del medio a amarillo como se muestra en la figura 18.
  - ✓ Prueba negativa: no hay cambio de color



**Figura 18.** Prueba positiva para prueba bioquímica fermentación-oxidación (OF)

- **Diferentes concentraciones de NaCl en caldo nutritivo.** El medio de enriquecimiento utilizado en esta investigación en conjunto con las pruebas bioquímicas fue el caldo nutritivo a concentraciones de sal 0%, 3%, 6%, 8% y 10% se inoculan los tubos con una asada de un cultivo de 24 horas se incuban a 37 °C por 24 horas las pruebas son positivas si el caldo después de el periodo de incubación se encuentra turbio.

La tabla 5 enlista las pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de los géneros *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*.

**Tabla 5.** Pruebas bioquímicas para la identificación de *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahamolyticus*.

<b>P. bioquímica</b>	<b>V. vulnificus</b>	<b>V. cholerae</b>	<b>V. parahaemolyticus</b>
Catalasa	+	+	+
Oxidasa	+	+	+
Motilidad	+	+	+
Citrato	+ <sup>a</sup>	V	+
Licuefacción de la gelatina	+	+	+
RM	+	V	+
VP	-	V	-
Malonato	-	-	-
<b>OF:</b>			
glucosa	+(-)	+	+
sacarosa	-	-	-
manitol	+	+	+
<b>Caldo nutritivo con sal</b>			
0%	-	-	-
6%	+	-	+
10%	-	-	-

**a:** han sido reportadas cepas con reacción opuesta, **V:** variable

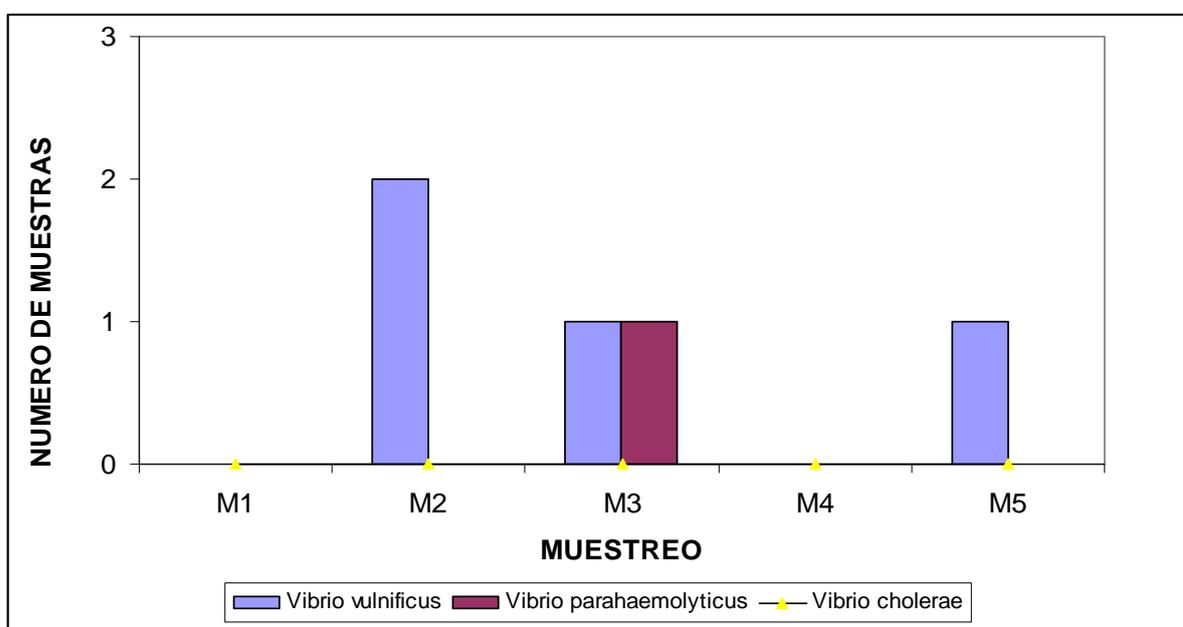
**Tabla 6.** Presencia de *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*, en almejas registradas en los meses de Junio y Julio de 2005 en diferentes sitios del Puerto de Yavaros.

Muestreo	Sitio de muestreo	Presencia de <i>Vibrio vulnificus</i>	Presencia de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Presencia de <i>Vibrio cholerae</i>
<b>1</b> 2005/06/01	Sitio 1	-	-	-
	Sitio 2	-	-	-
	Sitio 3	-	-	-
	Sitio 4	-	-	-
	Sitio 5	-	-	-
<b>2</b> 2005/06/13	Sitio 1	+	-	-
	Sitio 2	+	-	-
	Sitio 3	-	-	-
	Sitio 4	-	-	-
	Sitio 5	-	-	-
<b>3</b> 2005/06/20	Sitio 1	-	-	-
	Sitio 2	-	-	-
	Sitio 3	+	-	-
	Sitio 4	-	+	-
	Sitio 5	-	-	-
<b>4</b> 2005/06/27	Sitio 1	-	-	-
	Sitio 2	-	-	-
	Sitio 3	-	-	-
	Sitio 4	-	-	-
	Sitio 5	-	-	-
<b>5</b> 2005/07/04	Sitio 1	+	-	-
	Sitio 2	-	-	-
	Sitio 3	-	-	-
	Sitio 4	-	-	-
	Sitio 5	-	-	-

En el segundo y tercer muestreo se presentó la mayor incidencia de los *Vibrios* analizados, encontrándose una cepa de *Vibrio vulnificus* presente en el sitio de muestreo 1, 2 y 3. En el cuarto sitio de muestreo una cepa de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*, demostrando con eso que la incidencia de *Vibrio vulnificus* sigue presente en la región sur del estado como lo demostró Martínez (2001) en su investigación, esto debido a las condiciones de recolección, temperatura e

higiene a la cual se expanden las almejas. En el quinto muestreo solamente se encontró en el primer sitio, 1 cepa de *Vibrio vulnificus* y en el primero y cuarto muestreo no presentó incidencia figura 19, esto hace suponer que las aguas donde son las almejas se encuentran exentas de contaminación y las condiciones sanitarias en las que se expanden cumplen con los requerimientos.

Y aunque el porcentaje de aislamiento de los *Vibrios* estudiados no es elevado, merece ser considerada la posibilidad de supervivencia de estos microorganismos en las condiciones ecológicas del agua donde están recolectadas, ya que las almejas se suelen consumir sin someterlas a tratamiento térmico.



M1: muestreo 1; M2: muestreo 2; M3: muestreo 3; M4: muestreo 4; M5: muestreo 5

**Figura 19.** Incidencia de *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* por muestreo.

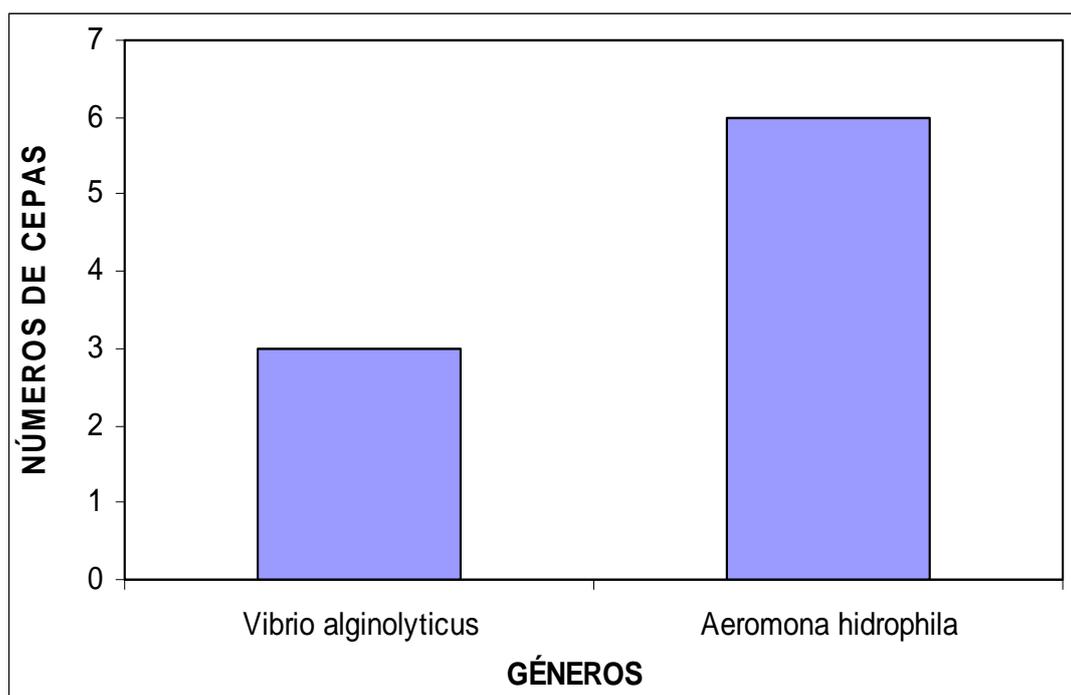
Las características de los *Vibrios* identificados no difieren mucho en cuanto a pruebas bioquímicas como se aprecia en tabla 7 las principales son oxidasa y catalasa (+), citrato, urea, lactosa y vp (-), la diferencia estuvo en el caldo nutritivo al 8% de NaCl donde la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* resiste a mayor concentración de NaCl que *Vibrio vulnificus*.

**Tabla 7.** Microorganismos identificados por pruebas bioquímicas

Microorganismo		<i>Vibrio Vulnificus</i>	<i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Aeromona hidrophila</i>
Tinción Gram		-	-	-	-
Agar TCBS		amarilla	Azul verde	amarillo	Azul verde
Oxidasa		+	+	+	+
Catalasa		+	+	+	+
Citrato		-	-	+	+
Gelatina		+	+	+	+
Urea		-	-	-	-
RM		+	+	+	+
VP		-	-	-	+
MIO	M	+	+	+	+
	I	+	+	+	+
	O	+	+	+	-
Malonato		-	-	-	-
SIM	M	+	+	+	+
	I	+	+	+	+
	H <sub>2</sub> S	-	-	-	+
LIA	DA	-	-	-	-
	DC	+	+	+	+
OF	GLU	+	+	+	+
	SAC	+	+	-	+
	MAN				
TSI	G	+	+	+	+
	L	-	-	-	+
	GS	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> S	-	-	-	+
Caldo nutritivo	0%	-	-	-	-
	3%	+	+	+	+
	6%	+	+	+	+
	8%	-	+	+	+
	10%	-	-	-	-

Además de los *Vibrios* estudiados se aislaron e identificaron por pruebas bioquímicas *Aeromona hidrophila*, encontrándose en el sitio de muestreo uno 3 cepas, en el sitio de muestreo tres 2 cepas y 1 cepa en el sitio de muestreo cuatro, representando un 24% del total de muestras.

También se encontró *Vibrio alginolyticus* 2 cepas en el sitio de muestreo uno y 1 cepa en el sitio de muestreo dos representando un 12% del total de muestras como se observa en la figura 20, poniendo de manifiesto la calidad sanitaria de las aguas de donde se colectan las almejas. La presencia de estos microorganismos en las muestras analizadas, se debe a una posible contaminación del agua en donde son recolectadas las almejas ya que la asociación de *Aeromonas spp* y brotes de gastroenteritis han sido más clara en el caso del agua.



**Figura 20.** Aislamiento e identificación de cepas de *Vibrio alginolyticus* y *Aeromona hidrophila*

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio se llega a la conclusión:

- ✓ La incidencia de *Vibrio vulnificus* es del 16% del total de muestras
- ✓ *Vibrio parahaemolyticus* 4% de las muestras
- ✓ Ausencia absoluta de *Vibrio cholerae* en el 100% de las muestras
- ✓ Se identificaron especies de *Vibrio alginolyticus* en el 12% de las muestras y *Aeromona hydrophila* en el 24% de las muestras
- ✓ Los porcentajes de incidencia de estos microorganismos en las almejas son indicios de la baja calidad del producto. Por lo que se recomienda tener los cuidados necesarios en el consumo de las almejas ya que representa un riesgo a la salud.

## RECOMEDACIONES

Establecer un programa de monitoreo de patógenos en moluscos bivalvos en el Puerto de Yavaros para prevenir restricciones, prohibiciones, y penalización en cuanto a la extracción y consumo, de parte de las autoridades sanitarias.

Es necesaria la implementación de un programa de educación en la comunidad pesquera dedicada a la extracción y procesamiento artesanal de los moluscos bivalvos, fomentándose mediante campañas divulgativas un manejo responsable del ambiente y del recurso.

La naturaleza de los microorganismos estudiados impide su eliminación del medio ambiente y las medidas de control deben de apuntar a mantener el número de microorganismos por debajo de la dosis infecciosa. Se recomienda las siguientes prácticas de saneamiento y protección de alimentos.

- ⇒ Calentar o recalentar vigorosamente las almejas, para destruir los microorganismos, los cuales son altamente sensibles (15 min/70°C)
- ⇒ Hervir hasta apertura de la concha y continuar la ebullición durante 5 minutos más o, en corriente de vapor hasta la apertura de la concha y continuar la cocción 9 minutos máximo. No consumir aquellos mariscos que no abran durante la cocción, hervir el ostión desconchado por lo menos 3 minutos, o freírlos en aceite al menos 10 minutos a 90°C.
- ⇒ Evitar la contaminación cruzada mediante separación física y manipulación de productos cocidos y crudos.
- ⇒ Mantener las almejas, crudas o cocidas adecuadamente refrigeradas antes de prepararlas o servir las.
- ⇒ Evitar la exposición de heridas abiertas al agua salada, o a los mariscos crudos que se cultivan en esas aguas.

## BIBLIOGRAFÍA

Adams M.R, M. Moos, 1997, Microbiología de los alimentos, Editorial ACRIBIA S.A. pp 153

Desrosier, w, N, 1984. Elementos de la tecnología de los alimentos, editorial CONTINENTAL, México, DF, pp 404-407

Enciclopedia HISPANICA, 1996, tomo 1, pág. 227. Encyclopedia Britannica Publishers, EEUU, <http://ezinegesell.com.ar/almeja1.html>

Forbes, B. A., Sahm D, and Weissfeld A. 1998. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 10<sup>th</sup> edition. Mosby USA pp 509-516

Frazier, W, C, 1993. Microbiología de los alimentos, cuarta edición, editorial CRIBIAS. S.A. pp 339

Jay J, 2002, Microbiología moderna de los alimentos, Editorial ACRIBIA S.A. pp 101.

Koneman, E.W. Allen S., Janda W., Schrecknberger P, and Winn W, 1994, Introduction to Diagnostic Microbiology. J.B. Lippincott Company USA pp 41-66

Leyva, V, E. Valdez, E. Cisneros, B. Pérez, 1996, Aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba, Revista Cubana Aliment Nutr 1996;10(2)

[http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol10\\_2\\_96/ali02296.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol10_2_96/ali02296.htm)

Mac Faddin. 1984. pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Paraninfo. Madrid.

Martinez, E. 2001. Presencia de *Vibrio Vulnificus* en pata de mula (Andora Sp), consumida en Ciudad Obregón Sonora, Tesis de Ingeniero Biotecnólogo. Instituto tecnológico de Sonora, Cd. Obregón Sonora, México, pp 23

Microsoft Encarta 2006. 1993-2005 Microsoft Corporation. “Bivalvo”

Microsoft Encarta 2006. 1993-2005 Microsoft Corporation

Nasreldin, E, R. Son, Ch. Chien-Hsien, N. Mitsuaki. 2004, Prevalence of Potentially Pathogenic *Vibrio* Species in the Seafood Marketed in Malaysia. Journal of food, 67(7): 1469-1475

Rodríguez J.J, 2002a, *Vibrio* ¿un patógeno emergente?, Diario de la seguridad alimentaría, Fundación Eroski

<http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2002/02/13/702.php>

Rodríguez J.J, 2002b, Riesgos asociados a los moluscos bivalvos, Diario de la seguridad alimentaría, Fundación Eroski.

<http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2002/01/30/665.php>

Rodríguez J.J, 2003c, *Vibrio*, el patógeno del pescado crudo, Diario DE LA Seguridad alimenbtaria, Fundación Eroski.

[http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad\\_y\\_consumo/2003/11/28/9639.php](http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/2003/11/28/9639.php)

Sevilla, M, 1993, Las ostras de México, aspectos básicos para cultivo, editorial LUMUSA, paginas 37-39

Torres M. 2002a, Agentes patógenos transmitidos por los alimentos, volumen I Editorial Universidad de Guadalajara, pp 25-53

Torres M, A. Castillo. 2002b, Agentes patógenos transmitidos por los alimentos, volumen II, Editorial, Universidad de Guadalajara, pp. 87-217

### **Páginas WEB**

Walne. P. R. 1986, Cultivo de moluscos bivalvos, editorial Acribia, pp 24

<http://www.salcobrand.cl/AppWeb/marzo/marisco.asp>

<http://epi.minsal.cl/epi/html/Actualidad/Vparahaemolyticus2004.htm>

<http://docum.azti.es/RIESGOS.nsf/0/4c3935cd902aae43c1256ad10050163b?OpenDocument>

<http://www.ops.org.uy/pdf/vibrio.pdf>

<http://www.biologiamarina.com/dev/projects/moluscos.asp>

<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/centr/1980-2/articulo105html>

[http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem\\_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf](http://www.cfired.org.ar/esp2/eventos/sem_acuicult/PDF/Gentile%20ACUIC%20def.pdf)

## GLOSARIO

**Valva.** Concha externa par de los branquiópodos y moluscos lamelobranquios.

**Bivalvo.** Nombre común de cualquier molusco que tenga la concha dividida en dos mitades articuladas por el borde, branquias especializadas en la alimentación y cabeza reducida

**Molusco.** Animales invertebrados de cuerpo blando, desnudo o protegido por una concha

**Sifón.** Tubo que en muchos moluscos sirve para conducir el agua respiratoria a la cavidad del manto.

**Charnela.** Articulación de las valvas del molusco acéfalo.

**Cloacales.** Lugares sucios e infectados.

**Toxina.** Sustancia, por lo común de naturaleza albuminoidea, elaborada por los seres vivos, particularmente por los microbios y que hace el efecto de un veneno.

**Septicemia.** Alteración de la sangre, causada por gérmenes infecciosos.

**Halófilos.** Organismos que crecen o requieren grandes concentraciones de sales para su crecimiento.

**Cepa.** Origen de una familia o linaje.

**Organotrófico.** Crece en materia orgánica

## I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Generalidades de los moluscos bivalvos

Todos los moluscos bivalvos marinos son filtradores lo que significa que son los únicos elementos vivos que no necesitarán para su cultivo, el aporte de alimento externo artificial porque crecen en el medio ambiente, a expensas de las partículas existentes en forma suspendida en el agua y que están presentes en el mar o el agua dulce (<http://www.biologiamarina.com/dev/projects/moluscos.asp>).

Los bivalvos pertenecen a la clase Bivalvia. Se conocen más de 6.000 especies, incluyendo algunas tan conocidas como la almeja, el mejillón y la ostra (Microsoft Encarta 2006. 1993-2005 Microsoft Corporation. "Bivalvo").

La tasa de crecimiento de las almejas esta gobernada principalmente por dos factores. La temperatura del agua y la abundancia del alimento. Estos factores están interrelacionados, ya que la temperatura regula el tipo de fauna y flora que consumirán las almejas (Desrosier, 1984).

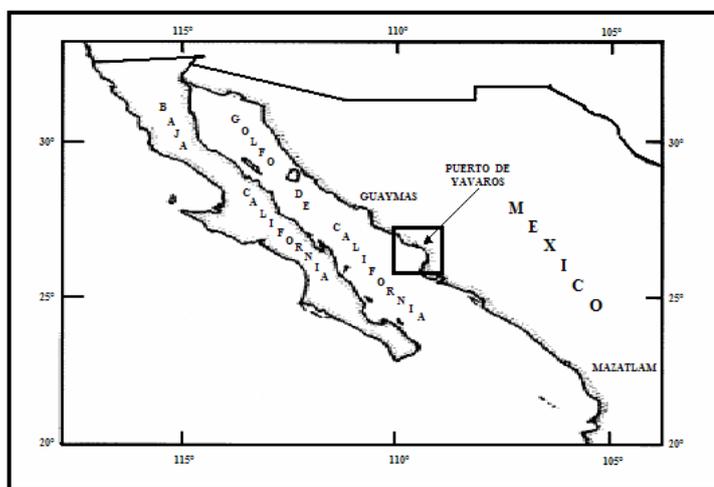
#### 1.1.1 Morfología de las almejas

Las almejas pertenecen a la familia de los moluscos y tienen un cuerpo blando protegido por dos conchas o valvas como se muestra en la figura 1, algunas veces se les conoce como bivalvos, se encuentran ampliamente distribuidas y habitan las áreas costeras en todo el mundo. Su hábitat natural es de la línea de la marea hasta muchas millas fuera de la costa (Desrosier, 1984).

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Zona de estudio

La región de Yavaros, Sonora, se localiza en la costa sur del estado de Sonora, a pocos kilómetros al sur de la ciudad agrícola de Huatabampo, se extiende aproximadamente entre los  $26^{\circ} 40'$  y  $26^{\circ} 45'$  de latitud norte,  $119^{\circ} 50'$  y  $119^{\circ} 25'$  de longitud oeste como se aprecia en la figura 5. El clima de la región es semiárido, con lluvias en verano; la temperatura media mensual es de  $30^{\circ}\text{C}$  y la evaporación es diez veces superior a la precipitación pluvial. Los vientos dominantes son del sureste en el verano y del noroeste en el resto del año. (<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/centr/1980-2/articulo105html>)



**Figura 5.** Mapa de localización de la región de Yavaros, Sonora, México.

**Fuente.** <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/centr/19802/articulo105html>

### III. RESULTADO Y DISCUSIÓN

En el siguiente capítulo se presentarán los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos.

La incidencia de *Vibrio vulnificus* en las 25 muestras analizadas fue de 16%, *Vibrio parahaemolyticus* 4%, y *Vibrio cholerae* 0%.

En la tabla 6 se puede observar que de los sitios de muestreo analizados se encontró *Vibrio vulnificus* en los sitios 1,2, y 3, *Vibrio parahaemolyticus* en el sitio 4 y el sitio 5 no presentó incidencia de los 3 microorganismos estudiados, lo cual indica que este último sitio cuenta con controles de calidad adecuados para vender la almeja y lograr con esto un producto de calidad superior a los otros sitios estudiados.

Los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de las almejas cumplen con lo especificado en la NORMA OFICIAL MEXICANA, BIENES Y SERVICIOS. PRODUCTOS DE LA PESCA. MOLUSCOS BIVALVOS FRESCOS-REFRIGERADOS Y CONGELADOS. NOM-031-SSA1-1993, con respecto a *Vibrio cholerae* donde se define que moluscos bivalvos deben de estar exentos del microorganismo, lo cual se obtiene en el presente estudio, sin embargo se encontró *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* y *Vibrio alginolyticus* lo cual nos demuestra que la presencia de estos microorganismos en las almejas son indicios de la baja calidad del producto. Por lo que se recomienda tener los cuidados necesarios en el consumo de las almejas ya que representa un riesgo a la salud.

Se conoce que existe gran relación entre la presencia de *Vibrios spp.* Y la estación del año, encontrándose una mayor incidencia en los meses de verano donde la temperatura es más alta, esta relación estacional se encontró en el presente trabajo debido a las características climáticas de la región.