

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

FRECUENCIA DE Vibrio cholerae 01, SEROTIPO INABA, BIOTIPO EL TOR,
EN CAMARONES Penaeus sp. QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO LA TERMINAL
UBICADO EN LA ZONA 4 DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA



Informe de tesis

presentado por

IRMA JOSEFINA JUAREZ MENCOS

Para optar al título de

QUIMICO BIOLOGO

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, septiembre de 1994.

DL

06

T (1754)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. JORGE LUIS GALINDO AREVALO
VOCAL V	BR. EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO

A G R A D E C I M I E N T O

A mi amigo, Federico Urbina

A los Licenciados: Jorge Pérez Folgar

Raúl Paniagua

Norma Gil de Castillo

Karin Herrera

Ingrid Tabarini

Al personal del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A las siguientes instituciones:

Dirección General de Servicios de Salud

Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá

A todas las personas e instituciones que en una u otra forma brindaron su colaboración para el desarrollo de esta tesis.

DEDICO ESTA TESIS

A Dios, por estar siempre a mi lado.

A mis padres: Irma Isabel Mencos Reyes

Ernesto Juárez Morales

con todo mi amor y respeto.

A mis hermanos: Luis Fernando

Mario Ernesto

Gerardo Eugenio

con muchísimo cariño.

DEDICO ESTE ACTO

A Dios

A mis padres

A mis hermanos

A mi ahijada, Laura María Diéguez González, con especial cariño.

A mis amigos, en especial a Norma Castillo Dian de Agreda

A mi familia en general

I N D I C E

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	4
4. Justificación	22
5. Objetivos	23
6. Hipótesis	24
7. Materiales y métodos	25
8. Resultados	31
9. Discusión de resultados	32
10. Conclusiones	34
11. Recomendaciones	35
12. Referencias	36
13. Anexos	41

1. RESUMEN

Durante el período comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994, se analizaron muestras de camarón Penaeus sp. provenientes del mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, con el fin de obtener la frecuencia de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en este alimento y determinar si los camarones vendidos en este mercado, durante el período de tiempo indicado anteriormente, constituyeron un factor de riesgo en la transmisión del cólera.

En el mercado La Terminal existe un total de 84 puestos de venta de mariscos de los cuales 54 fueron escogidos completamente al azar. De cada uno de los puestos seleccionados se tomó una muestra de 460 gramos de camarón Penaeus sp. de la cual se analizaron 25 gramos.

A cada muestra se le realizó los análisis respectivos para la determinación de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor. De las 54 muestras analizadas, diez presentaron colonias sospechosas de Vibrio cholerae pero sólo tres de ellas dieron positivas las pruebas de oxidasa y del cordón. Sin embargo, estas tres muestras, resultaron ser negativas para la prueba con antisuero anti Vibrio cholerae 01.

Luego de analizar los resultados se puede concluir que la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones expendidos en el mercado La Terminal, durante el período comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994 fue del cero por ciento y por lo tanto durante este período de tiempo los camarones expendidos en dicho mercado no constituyeron un transmisor de cólera.

2. INTRODUCCION

En América Latina la frecuencia de infecciones entéricas es bastante elevada y aún más ahora con la aparición de la séptima pandemia del cólera que se presentó en América a principios de 1991.

En Guatemala, como en otros países del área, la falta de saneamiento ambiental e higiene ha provocado que el cólera se extienda por todo el territorio y se espera que dicha infección será endémica en nuestro país por largo tiempo, ya que además de la falta de higiene de las personas y de saneamiento ambiental, no se lleva a cabo un buen control de la presencia de Vibrio cholerae en los alimentos que se expenden en los mercados, ventas callejeras, restaurantes y cafeterías.

La transmisión del cólera es atribuida al agua y alimentos, especialmente mariscos, contaminados con el agente causal. Sin embargo, la incriminación de este alimento como de alto riesgo en la transmisión del cólera no se ha comprobado científicamente, por lo que en el presente estudio se pretendió demostrar que no es frecuente aislar Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en mariscos, específicamente camarones, que se expenden en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, y con este resultado demostrar que los camarones que se expenden en ese lugar no son un alimento de alto riesgo en la transmisión del cólera.

Para la realización del estudio se analizaron 54 muestras de camarón. De cada muestra se realizaron diluciones (1:10 hasta

1:1,000,000) con agua peptonada alcalina, estas diluciones se incubaron por tiempo y temperatura determinadas. Luego se tomó un inóculo de la superficie del medio de cada dilución y se transfirió cada inóculo a una caja de medio de cultivo TCBS. Si después de la incubación del TCBS se observaron colonias sospechosas de Vibrio cholerae, se procedió a realizar pruebas bioquímicas y serológicas para la identificación de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor.

3. ANTECEDENTES

3.1. El cólera

3.1.1. Definición

El cólera morbus es una enfermedad entérica bacteriana, infectocontagiosa, producida por la bacteria Vibrio cholerae 01. Esta enfermedad afecta más a la población adulta y a niños mayores de doce años (1-3).

El hombre es el único mamífero hospedero y víctima natural del agente causal (2-5).

3.1.2. Historia

El cólera ha sido endémico en la India por siglos, pero se han registrado epidemias en otras partes del mundo en forma esporádica. Esta enfermedad ha causado siete pandemias mundiales (4,6,7).

Durante la segunda pandemia entre los años de 1824 y 1850, el cólera alcanzó por primera vez las costas de América, provocando epidemias devastadoras en Guatemala y Nicaragua (8).

En 1854 Pacini realizó la primera descripción del microorganismo causante del cólera. El observó numerosos bacilos curvos en el contenido intestinal de pacientes con cólera y nombró al organismo Vibrio cholerae. Más tarde, en el año 1884, Koch y sus colegas, trabajando en Egipto e India, aislaron el organismo en cultivo puro y evidenciaron su patogenicidad (6,7).

Durante la tercera pandemia (1852-1860) al igual que en la cuarta (1863-1875) el cólera se presentó en Guatemala (8).

La séptima pandemia comenzó en Sulawesi, Indonesia en 1961, extendiéndose luego a Bangladesh, India, partes de Rusia, norte y oeste de Africa, y a finales del mes de enero de 1991 apareció por primera vez en Sur América, en Chimbote, Perú, donde Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, fue aislado de varios pacientes (1,2,4-6,9-12).

Una vez invadido el Perú, la epidemia comenzó a extenderse por los países latinoamericanos, presentándose en Guatemala durante el mes de julio de 1991 el primer caso de cólera en el municipio de Tecún Umán del departamento de San Marcos. Desde el inicio de la epidemia del cólera en nuestro país, hasta el nueve de noviembre de 1991, se reportaron casos en 21 de los 22 departamentos (3-5,10).

3.1.3. Patogenicidad y manifestaciones clínicas

Las infecciones por V. cholerae 01, biotipo el tor, producen 75 por ciento de casos asintomáticos y sólo del 15 al 25 por ciento presentan síntomas moderados. En situaciones epidémicas sólo el dos por ciento de las infecciones ponen en peligro la vida de los pacientes (4,10,13).

El período de incubación es corto, variando entre un tiempo de pocas horas a cinco días. El comienzo es súbito con vómitos y diarrea acuosa profusa de color blanquecino como agua de arroz, la cual causa deshidratación rápida, acidosis metabólica, calambres musculares y finalmente colapso circulatorio. La muerte puede sobrevenir en horas si los pacientes no son tratados con sales de rehidratación oral, sueros intravenosos y antibióticos (1-3,5,9,13-15).

La acidez gástrica desarrolla una importante función protectora contra el cólera. Cuando hay aclorhidria gástrica favorece la sobrevivencia del agente causal en el estómago. Una vez la bacteria ha sobrevivido al pasaje del ambiente ácido del estómago llega al ambiente alcalino del intestino delgado en donde se multiplica en la porción alta, ocurre adhesión de los vibrios a la mucosa intestinal y produce su efecto por medio de una potente enterotoxina la cual provoca alteraciones en el lumen intestinal provocando pérdida de agua y electrolitos (2,4,5, 7,11,14).

3.1.4. Tratamiento

El aspecto fundamental del tratamiento es la administración oportuna y adecuada de suero de rehidratación oral. En casos graves de deshidratación deben administrarse fluidos intravenosos, como solución de Ringer-lactato (2,4,13,16).

El progreso del curso clínico del cólera se logra con una terapia antibiótica la cual generalmente detiene la enfermedad dentro de 24 horas, disminuye el volumen de fluido que se pierde al igual que el período de excreción de organismos. Entre los antibióticos que se utilizan para la quimioterapia están el trimetoprim-sulfametoxazol, doxicilina, furazolidona y la tetraciclina (4,5,16,17).

3.1.5. Dosis infectiva

Para que un individuo se infecte con *V. cholerae* 01 debe ingerir una dosis determinada de vibriones coléricos la cual varía según el estado de salud, edad, nutrición, etc. El

sustrato que contenga al organismo también afectará la dosis infectiva, ya que se ha encontrado que algunos alimentos dan un efecto de protección sobre la bacteria durante el pasaje de la región ácida del estómago (18).

Se ha demostrado, en estudios con voluntarios, que se requieren dosis altas de Vibrio cholerae (10^8 - 10^9 bacterias vivas por gramo de alimento) para infectar al ser humano, puesto que el pH ácido del estómago podría neutralizar a la mayoría de los microorganismos antes de llegar al intestino. La neutralización de esta acidez reduce la dosis infectiva considerablemente (10^3 - 10^4 bacterias vivas por gramo de alimento) (5,6,11,14,18,19).

Un estudio realizado en Filipinas demostró que el tiempo de sobrevivencia depende del tamaño del inóculo; a mayor inóculo mayor sobrevivencia (18).

3.1.6. Formas de transmisión

La infección se produce por la ingestión de vibriones del cólera, cuya fuente son las excretas de las personas infectadas o agua contaminada. Es razonable suponer que el contacto directo y la transmisión indirecta a través de los alimentos contaminados con excretas por medio de los dedos y las moscas también puede ser una fuente de transmisión de la enfermedad. La mosca doméstica desempeña un papel relativamente irrelevante en la propagación del cólera, pero la presencia de muchas moscas indica un saneamiento deficiente que produce las condiciones que favorecen la propagación de la enfermedad (2,3,5,6,15,17).

Un manipulador de alimentos que acarrea al organismo sin presentar síntomas (estado de portador), puede transmitir la bacteria a los alimentos si la higiene personal es pobre (18).

Al examinar los alimentos y el agua de hogares con casos de cólera se determinó que la bacteria era más frecuentemente aislada en muestras de agua (18).

Debido a que el agua es el principal vehículo de transmisión, el riesgo mayor es el uso de agua contaminada, exposición a aguas de desagües (usada para regar verduras) o aguas estancadas cercanas a la desembocadura de un colector de desagües (2,18,20).

En un estudio realizado en la población del municipio de Champerico, sobre la calidad bacteriológica del agua que abastece a ese lugar, se analizaron pozos rurales, pozos municipales y agua de chorro que sirven los mismos. El resultado que se obtuvo fue que todos presentaron contaminación fecal, lo cual indica que la principal fuente de contaminación la constituyen las evacuaciones desordenadas e insalubres de las excretas del hombre. También se debe a la existencia de letrinas defectuosas y mal ubicadas, así como a las aguas servidas que se encuentran a flor de tierra (21).

3.1.7. Medidas preventivas

Debido a que el cólera puede ser un problema agudo de Salud Pública con posibilidades de propagarse rápidamente y de ocasionar muchas muertes, se debe prestar atención especial a su vigilancia y control (17).

El buen saneamiento ambiental y la higiene personal reducen sustancialmente el riesgo de transmitir patógenos entéricos, entre ellos los vibrios del cólera (5,15,17).

La defensa primaria en el control del cólera es el mantenimiento de un adecuado tratamiento de las aguas servidas y sistemas de purificación del agua. El agua debe de tener un contenido mínimo de 0.5 ppm de cloro en todas las partes del sistema de distribución. En zonas en donde no se trata el agua, deberá de enseñarse a las personas cómo pueden hacer segura el agua en el hogar hirviéndola de dos a tres minutos o añadiéndole un producto liberador de cloro. Otra medida a tomar es la rápida detección y tratamiento de los pacientes sintomáticos y portadores (5,15,17, 22-24).

Debe indicarse a la población la importancia de lavarse bien las manos con jabón o ceniza después de defecar y antes de comer y preparar alimentos (5,15,17).

Los alimentos pueden ser un vehículo importante de infección por lo que deben cocinarse bien (temperatura interna de 70°C) (6,17,25,26)

No debe permitirse el riego de cultivos con aguas servidas que no tengan el tratamiento suficiente para garantizar la eliminación de la bacteria causante del cólera (17).

Como ayuda para evitar la diseminación del cólera, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha elaborado diez "Reglas de Oro" para la preparación higiénica de los alimentos lo cual ayudará en gran medida a preparar alimentos sanos y libres de cólera (cuadro 1) (6,17).

3.1.8. Factores que contribuyen a la propagación

Las condiciones sanitarias existentes en las áreas marginales de las ciudades y poblaciones rurales de América Latina constituyen un terreno propicio para la introducción del cólera en el continente. La mayoría de las ciudades y pueblos tienen sistemas de recolección de aguas servidas, pero pocos tienen tratamiento, lo que no garantiza la destrucción de Vibrio cholerae; además, los desagües descargan su contenido en ríos, lagos y océanos lo que puede provocar epidemias (1,23,24, 27).

Otro factor importante en la propagación del cólera son las ventas ambulantes, se sabe que el perfil del manipulador de alimentos de venta callejera en los países en desarrollo está caracterizado por un bajo nivel de escolaridad, lo cual va asociado al desconocimiento de hábitos higiénicos que aseguren la inocuidad de los alimentos que preparan y expenden (10).

Con lo que respecta al riesgo de transmisión del cólera por la importación de alimentos, la OMS no tiene pruebas documentadas de un brote de cólera que se haya dado como resultado de dicha importación a través de las fronteras internacionales (6,25).

3.2. Características de Vibrio cholerae

3.2.1. Generalidades

Vibrio cholerae pertenece a la familia Vibrionaceae a la cual pertenecen también los géneros Aeromonas y Plesiomonas (28).

Existen varias especies de Vibrio. Estos son microorganismos halófilos o sea que requieren cloruro de sodio

para su crecimiento a excepción de dos especies que soportan concentraciones altas de cloruro de sodio pero no las requieren y son llamadas por esta razón vibrios halotolerantes; estos son *V. cholerae* y *V. mimicus* (29,30).

Todos los miembros de la familia *Vibrionaceae* son microorganismos facultativos, gram negativo y no tienen requerimientos nutricionales exigentes. Su hábitat natural parece ser el agua. Son oxidasa positivo y tienen flagelos polares para su movilidad. El metabolismo es respiratorio y fermentativo (28,31).

3.2.2. Morfología

Los vibriones del cólera son bastones cortos (0.5 por 1.5 a 3.0 micrómetros), gram negativo. En el aislamiento inicial aparecen en forma de coma, por lo que Koch inicialmente los denominó "kommabacillus". Al efectuar varios subcultivos desaparecen las formas curvas y sólo se observan bacilos rectos (5,7,28,29).

Los vibriones son células procarióticas monotricas, pues poseen generalmente un solo flagelo polar (29).

3.2.3. Fisiología

Vibrio cholerae es un microorganismo anaerobio facultativo de fácil crecimiento, con temperatura óptima de crecimiento a 36°C, aunque también crece bien a 42°C. Su metabolismo es respiratorio y fermentativo y es sensible al pH ácido, produce enzimas como proteasas, nucleasas, lipasas y quitinasa. Puede crecer en medios simples, soporta bien un pH alcalino, propiedad

que se utiliza en la elaboración de los medios de aislamiento agar gelatina-taurocolato-telurito (TTGA) y agar sales biliares-citrato-tiosulfato-sucrosa (TCBS) (6,7;10,28,29, 32,33).

3.2.4. Propiedades bioquímicas

V. cholerae presenta reacciones positivas para oxidasa, lisina descarboxilasa, ornitina descarboxilasa, crecimiento en presencia (3 por ciento) y ausencia de cloruro de sodio, prueba del cordón, crecimiento en TCBS y es sensible a 150 microgramos de 2,4 diamino 6,7 diisopropil-p-piridina. Las pruebas que presentan resultados negativos son arginina dihidrolasa y crecimiento en cloruro de sodio al 8 por ciento, también produce cambios en los medios de TSI, Kligler, LIA y MIO (cuadro 2) (6,7,28,29).

Las colonias en TCBS son grandes (2 a 3 mm de diámetro), lisas y brillantes, amarillas, positivas para la fermentación de la sucrosa, ligeramente achatadas y con los bordes traslúcidos (2,29,32,33).

El biotipo el tor y el clásico, difieren en algunas propiedades (cuadro 3)(7,28,29,34).

3.2.5. Estructura antigénica

Los antígenos somáticos "O" son los de mayor importancia en el agrupamiento serológico de los vibriones del cólera. Hay más de sesenta serogrupos de *V. cholerae*, pero las cepas productoras de cólera pertenecen al serogrupo "O" subgrupo "1" y son epidémicas. Se pueden diferenciar dos biotipos de *V. cholerae* O1, que son clásico y el tor y tres serotipos que poseen

distintos factores y aglutinan con diferente antisueros (cuadro 4) (5-7,17,28,29).

El biotipo el tor ha causado casi todos los brotes recientes de cólera en el mundo, incluyendo el brote en Guatemala (7,17,28).

3.2.6. Determinantes de patogenicidad

3.2.6.1. Enterotoxina

Los aspectos clínicos del cólera son resultado de la reacción del hospedero frente a una enterotoxina extracelular. La toxina puede encontrarse tanto en V. cholerae 01 como no 01. Actualmente está claro que la producción de la toxina del cólera no se encuentra restringida a ningún serovar en particular pero sólo cepas del serovar 01 parecen ser capaces de causar cólera epidémico (7,10,28).

La enterotoxina del cólera o colerágeno es una proteína multimérica inactivada por calor a 56°C por treinta minutos y compuesta por una subunidad "A" , que tiene dos regiones A₁ y A₂, y cinco subunidades "B" unidas no covalentemente (7).

La actividad tóxica reside en "A₁" mientras que "A₂" sirve como el vínculo con la subunidad "B". La subunidad "B" se une rápidamente e irreversiblemente al intestino delgado. Luego de la unión, la subunidad "A" se disocia de la subunidad "B" y atraviesa la membrana celular provocando un incremento de la actividad de la enzima adenilciclase, aumentando el nivel de AMPc intracelular lo cual lleva a la rápida secreción de electrolitos hacia la luz intestinal. Además, se ve estimulada la secreción de cloruros lo cual produce pérdida de agua y decrece la absorción

de sodio y el resultado es la secreción de un líquido hipertónico con una concentración de bicarbonato y potasio del doble y ocho veces mayor que la del plasma, respectivamente (28,29).

3.2.6.2. Adherencia y otros factores relacionados

Además de la producción de enterotoxina, V. cholerae debe ser capaz de adherirse a las microvellosidades de la superficie intestinal. La motilidad puede estar involucrada con la adherencia de las bacterias a las células intestinales porque las variedades inmóviles que producen toxina son incapaces de producir enfermedad. La quimiotaxia también puede ser un factor importante ya que las cepas que son móviles y responden a estímulos quimiotácticos son más capaces de sobrevivir en el intestino de animales que las cepas móviles no quimiotácticas. V. cholerae también produce una mucinasa que permite al microorganismo atravesar el revestimiento mucoso del intestino delgado (7,23, 28).

3.2.7. Susceptibilidad

Las especies de vibrio son psicrofílicas, la supervivencia de V. cholerae es mayor a temperaturas entre -2°C y -10°C que a -30°C . Son fácilmente destruidos por calor, desinfectantes, desecación, pH menor de cinco y mueren en minutos cuando son expuestos al jugo gástrico normal (7,23,28).

3.2.8. Supervivencia en alimentos en general

Las modificaciones de algunos factores del alimento, como la disminución del pH por modificación natural o artificial y la

disminución de la actividad acuosa, influyen desfavorablemente para la supervivencia o crecimiento del vibrio. También tienen influencia notoria la temperatura de almacenamiento y la humedad relativa del ambiente (10,18).

Otro factor a considerar es la estructura biológica del alimento. Generalmente cuando el alimento se mantiene intacto es muy difícil para *V. cholerae* sobrevivir, pero en vegetales y frutas dañadas el pH se incrementa permitiendo la contaminación del alimento con la bacteria (10,18).

En una investigación realizada en Africa se determinó que *V. cholerae* se multiplica rápidamente en salsa de cacahuate (pH 6.0) pero no sucede lo mismo en la salsa de tomate que es más ácida (pH 5.0) (35).

En América del Sur y Centro América se han encontrado alimentos que ofrecen mayor potencial de transmisión y son aquellos preparados a base de agua y hielo (10).

Varios estudios realizados han demostrado que *Vibrio cholerae* muestra distintos tiempos de supervivencia dependiendo del alimento en el que se encuentre (cuadro 5)(6).

Estudios realizados sobre el efecto de congelación en vibriones presentes en la carne, revelan que se recuperaron bacterias viables de la carne vacuna entera y ninguna de la carne molida vacuna (6).

Las temperaturas a las que normalmente se recalientan los alimentos antes de servirlos, no matan a *V. cholerae*. Se ha demostrado que el organismo se mantiene viable en los alimentos preparados como el arroz cocido, arvejas cocidas, fideos con queso y las albóndigas, cuando son contaminados después de la

preparación y son recalentados hasta los 60°C (6).

El lavado con jabón y agua es muy eficaz salvo para la limpieza de granos y hojas pequeñas como las del apio. La inmersión de los alimentos y las hortalizas contaminadas, durante treinta segundos en agua hirviendo, según análisis realizados, mata invariablemente a todos los vibriones (6).

Hay gran tendencia hacia la incriminación de alimentos como causantes de cólera, sin haberse realizado investigaciones epidemiológicas que así lo evidencien, ni estudios de laboratorio confirmándolo (10).

3.2.9. Supervivencia en mariscos

V. cholerae sobrevive mejor en el agua que en los alimentos, dependiendo del pH, la temperatura, el grado de contaminación, las sustancias orgánicas presentes, la humedad osmótica, el contenido de sal, carbohidratos y la presencia de otras bacterias (6).

Hay escasa posibilidad de contaminación del mar con la bacteria causante del cólera ya que la gran salinidad de las aguas profundas no permite que el organismo sobreviva en ese medio por lo que es poco probable que los peces de mar profundo se hayan infectado en su hábitat, pero podrían contaminarse en la manipulación posterior. Así, la principal actividad está enfocada a vigilar la manipulación de los productos en las plantas procesadoras. En el consumo interno de los países de Latinoamérica hay problemas de contaminación de productos e históricamente la inspección no se practica (2,6,10).

En pescados, moluscos y crustáceos la supervivencia de *V. cholerae* es de dos a cinco días a temperatura ambiente y de siete a catorce días en refrigeración (6).

Para los crustáceos se recomienda la cocción adecuada en el procesamiento primario o a nivel del servicio de los alimentos y evitar la nueva contaminación del producto cocido. En un estudio se encontró que los cangrejos de mar machos, grandes y enteros, hervidos menos de ocho minutos o cocinados al vapor por menos de veinticinco minutos, aún pueden contener organismos viables de *V. cholerae* (6).

Se ha demostrado la presencia de *V. cholerae* en preparaciones a base de alimentos marinos pero sin la comprobación científica que demuestre si la contaminación era de este alimento o de sus agregados (10).

En la India se encontró que la incidencia de *V. cholerae* 01 en productos pesqueros frescos fue del 0.2 por ciento en las costas de Kerala y Tamil Nadu durante el período comprendido del 1 de febrero de 1986 al 30 de junio de 1987 (36).

En Louisiana, Estados Unidos, se incriminó a los productos pesqueros como transmisores de la enfermedad del cólera en un brote que surgió en 1986. Sin embargo al analizar 1,323 muestras de mariscos del área, ninguna resultó estar contaminada con *Vibrio cholerae* 01 (37).

Según estudios realizados en Japón, no se ha detectado *V. cholerae* en los productos pesqueros de Latinoamérica; en el caso peruano, de las 2,393 muestras analizadas en los últimos años ninguna presentó resultados positivos para dicha bacteria (10).

El riesgo de transmisión del cólera a través del consumo de productos pesqueros importados no ha sido comprobado en la presente pandemia (10).

3.3. Camarones

3.3.1. Distribución

Los camarones están ampliamente distribuidos y pueden encontrarse en aguas marinas y dulces, desde el Ecuador hasta las regiones polares. Aunque la mayoría de especies marinas ocupan aguas poco o moderadamente profundas, se han encontrado algunos a profundidades cerca de los 5,700 metros, pero casi todo el camarón comercial es capturado en los esteros continentales a profundidades menores de los cien metros (38,39).

Muchos camarones adultos toleran temperaturas de 16°C a 31°C. Las larvas de los camarones se alejan de la costa a medida que crecen, procurando las condiciones propicias para completar su crecimiento (40,41).

3.3.2. Anatomía

El cuerpo de los camarones es alargado, aplanado y está cubierto por un caparazón. El tamaño fluctúa entre cinco a más de treinta y seis centímetros. El abdomen es grande, amplio, notoriamente segmentado y es más largo que la cabeza (39,42).

Las patas son delgadas pero un par de éstas pueden ser gruesas o terminar en tenazas. Los apéndices abdominales usados para nadar están bien desarrollados y se encuentran en los cinco segmentos abdominales, poseen branquias filamentosas y un corazón que está formado por túbulos que se extienden por casi

todo el tórax y el abdomen. Los ojos son compuestos y muy desarrollados (38,39,42).

3.3.3. Hábitat y alimentación

La mayoría de camarones viven en galerías excavadas en el fondo marino, en grietas de rocas y corales o entre las algas. Son rapaces y se alimentan de pequeños peces, crustáceos y de otros invertebrados. Algunas especies cazan la presa mientras que otras la esperan en la entrada de su madriguera (39,42,43,44).

3.3.4. Procesamiento

Los camarones son un alimento que se contamina con facilidad por lo que deben manipularse en todo momento con gran cuidado de manera que se inhiba la multiplicación de microorganismos y deberán enfriarse con la mayor rapidez posible (45).

Los barcos pesqueros deben ser de fácil limpieza y desinfección, deberán estar equipados para poder congelar a bordo y deben de disponer de un suministro de agua potable fría. Se ha demostrado en la industria del pescado que el agregar cloro al agua fría empleada para la limpieza, contribuye a reducir la contaminación bacteriana (45).

El hielo que se utilice deberá de ser de agua potable y no deberá contaminarse durante su fabricación, manipulación o almacenamiento. Siempre que sea factible deberá efectuarse el descabezado de los camarones ya que la mayor parte de la carga bacteriana normal se cree que se encuentra en la cabeza. El descabezado, pelado y desvenado deberán efectuarse rápidamente

para impedir la contaminación y proliferación de microorganismos (45).

Ninguna persona que sufra de enfermedades contagiosas o que sea portador de éstas, con heridas infectadas o abiertas, deberá participar en la preparación, manipulación y/o transporte de los camarones (45).

El procesamiento del camarón de exportación en Guatemala se realiza de una forma óptima con lo cual se evita la contaminación del producto por manipulación. En cambio el camarón de consumo local es tratado de tal forma que cada etapa de la recolección y procesamiento es una fuente de contaminación (46).

En un estudio realizado en camarones de exportación y de consumo local en el año 1982 en Guatemala, se observó que las muestras de camarón de exportación no presentaron bacterias coliformes totales ni Escherichia coli, mientras que por el contrario el noventa y seis por ciento de las muestras de camarones para consumo interno presentaron coliformes totales y E. coli. En el mismo estudio los camarones adquiridos recién pescados no presentaron ningún tipo de bacteria coliforme, esto demuestra que es la manipulación del camarón para consumo interno así como el transporte y expendio lo que contamina los camarones (46).

Las especies de camarón más frecuentemente capturadas en Guatemala son el camarón café Penaeus aztecus (el que más se consume), el azul P. stylirostris, el blanco P. vannamei-borneo y el rosado P. occidentalis que es el más escaso (46).

3.3.5. Composición de la carne

La carne de camarón posee proteínas de buena calidad nutricional, carbohidratos, minerales y vitaminas. Análisis cromatográficos han demostrado que los aminoácidos más frecuentemente aislados son cistina, serina, glicina, tirosina y arginina. Además se ha demostrado una relación directa entre los niveles de glicina, prolina y alanina con la salinidad del agua en donde se crían (47-52).

3.3.6. Microbiología

Los mariscos contienen los microorganismos del medio en que viven, además de los contaminantes que se les agregan al capturarlos y manipularlos (53).

La microbiota más frecuente del camarón está compuesta por especies de los géneros Achromobacter, Acinetobacter, Pseudomonas, Alcaligenes, Micrococcus, Corynebacterium, Moraxella y Vibrio. Los tejidos internos y el sistema sanguíneo son estériles (53-56).

Los mariscos deben contener pocas o ninguna bacteria coliforme y absolutamente ninguna Salmonella, Shigella u otro enteropatógeno. Los de buena calidad deben de contener menos de diez coliformes fecales por gramo de alimento y cien estafilococos por gramo del mismo (53).

4. JUSTIFICACION

En Guatemala el consumo de camarón ha disminuido debido a que ha sido incriminado como uno de los alimentos con mayor riesgo de portar la bacteria causante de la enfermedad del cólera. Sin embargo, no se ha demostrado con base científica que este alimento sea de alto riesgo en la transmisión de la infección. Por lo tanto se hace necesario establecer la frecuencia de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en este marisco para poder demostrar así que los camarones no son un factor importante en la transmisión del cólera.

Debido a que el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la capital de Guatemala es el principal distribuidor de camarones en la ciudad, se escogió para realizar este estudio en el cual se pretendió determinar la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en los camarones que se expenden en los puestos de mariscos.

5. OBJETIVOS

5.1. Demostrar que los camarones que se expenden en los puestos de mariscos del mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala no son un alimento de alto riesgo en la transmisión del cólera.

5.2. Determinar la frecuencia de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones Penaeus sp. que se expenden en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala.

6. HIPOTESIS

Los camarones Peneaus sp. que se expenden en los puestos de mariscos del mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, no se encuentran contaminados con Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Universo de trabajo

Camarones de los puestos de venta de mariscos del mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala.

7.2. Medios

7.2.1. Recursos humanos

Autor: Br. Irma Josefina Juárez Mencos.

Asesora: Lic. Karin Herrera.

7.2.2. Recursos institucionales

Dirección General de Servicios de Salud -DGSS-.

Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, USAC.

Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá -INCAP-.

Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial -ICAITI-.

Biblioteca Universidad del Valle de Guatemala -UVG-.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-.

7.3. Materiales

7.3.1. Cristalería

Frascos Masson de 300 ml con aspas marca Oster

Erlenmeyer de 500 ml y 1000 ml

Probeta de 100 ml y 500 ml

Pipetas volumétricas de 1 ml

Pipetas volumétricas de 5 ml

Pipetas Pasteur de 1 ml

Varilla de vidrio

Tubos de ensayo de 150 x 13 mm con tapón de rosca

Caja de portaobjetos de 75 x 25 mm

Cajas de Petri descartables de 15 x 100 mm

7.3.2. Reactivos y medios de cultivo

Desoxicolato de sodio al 0.5 por ciento

Reactivo de oxidasa (N,N,N,N tetrametil-p-fenilendiamina dihidrocloruro al 0.5 - 1 por ciento)

Agua destilada

Antisuero polivalente anti *V. cholerae* O1 marca BBL

Agar TCBS (sales biliares-citrato-tiosulfato-sucrosa) marca BBL

Agar Müller Hinton marca BBL

Peptona marca BBL

Cloruro de sodio grado analítico marca Merck

Hidróxido de sodio 1 N

Acido clorhídrico 1 N

Reactivos para tinción de Gram

7.3.3. Aparatos de laboratorio

Incubadora marca Environ Room

Autoclave

Balanza semianalítica Cent-o-gram 310 g

Mechero Bunsen

Motor de licuadora marca Oster

7.3.4. Otros

Bomba de succión

Guantes descartables número 7 1/2

Asa de nicromo en argolla 3-5 mm de diámetro

Asa de nicromo en punta

Palillos de dientes

Papel filtro

Pizeta de 250 ml

Espátula

Papel manila

Papel pH

Papel mayordomo

Masking tape de 1/2 pulgada

Jabón desinfectante

Desodorante ambiental

Cloro Magia Blanca

7.4. Procedimiento

7.4.1. Toma de muestra

Se compró 360 g. de camarón en cada uno de 54 puestos de venta de mariscos que fueron escogidos al azar en el mercado La Terminal. Las muestras se trasladaron al laboratorio en bolsas plásticas dentro de una hielera que tenía una temperatura entre 4°C y 10°C. Las muestras que no pudieron analizarse inmediatamente se dejaron en refrigeración, a la temperatura indicada anteriormente, y no pasó más de una semana entre el día de la recolección y el análisis (2,29,32,33).

7.4.2. Aislamiento e identificación de *V. cholerae* en camarones

7.4.2.1. Aislamiento

Se pesaron asépticamente 25 g de camarón sin pelar de cada muestra, estos 25 g se licuaron con 225 ml de agua peptonada alcalina pH 8.8, por dos minutos, a la velocidad de 1,800 rpm, con lo que se obtuvo una dilución de 1:10 (cada muestra se licuó por separado en Masson estéril) (2,29,32,33).

En tubos estériles con tapón de rosca, se prepararon diluciones por duplicado de cada muestra en agua peptonada alcalina pH 8.8, a partir de la dilución 1:10 hasta llegar a una dilución de 1:1,000,000 (esto se hizo debido a la interferencia de otros vibrios) (6).

Las diluciones se dejaron con el tapón flojo y se incubaron de seis a ocho horas a 35°C -37°C. El período de incubación no debió exceder de ocho horas (2,6,32,33).

Después de la incubación y sin agitar el tubo, se transfirió una asada de la superficie del medio a una caja de medio TCBS. Se incubó el medio durante 18 a 24 horas a 35°C -37°C. Luego se examinó el mismo a fin de determinar si había colonias sospechosas de *V. cholerae*, esto se hizo observando las características de las colonias que crecieron en la caja de TCBS (6,29).

7.4.2.2. Identificación

Se realizó la coloración de Gram de las colonias características de *V. cholerae* que crecieron en el agar TCBS. Se debió observar bacilos cortos gram negativo. Las colonias sospechosas se pasaron a una caja con agar Müller Hinton, se

incubaron de 18 a 24 horas de 35°C - 37°C. En este medio se logró observar crecimiento a las ocho horas de incubación. A partir de este crecimiento se realizaron las pruebas de oxidasa y cordón. También se realizó la prueba serológica con el antisuero polivalente anti Vibrio cholerae O1 marca BBL (6,29).

Si se hubiera aislado alguna colonia de V. cholerae O1 se hubieran tenido que realizar las pruebas de Voges-Proskauer, sensibilidad a 50 UI de polimixina B y pruebas serológicas con antisueros para determinar el serotipo. Otra prueba importante que se hubiera tenido que realizar sería la detección de la toxina del cólera, utilizando la técnica de sondas de ADN y/o la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (6,29,57-60)

7.5. Diseño de la investigación

7.5.1. Determinación del número de muestra

Se trabajó con muestras de camarón provenientes de puestos de venta de mariscos en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala.

Número total de puestos que distribuyen mariscos en el mercado = 84

Frecuencia esperada = 2.5 por ciento (máximo porcentaje de contaminación esperado)

Límite de error = 2.5 por ciento

Con los datos anteriores se determinó que el número de muestras a tomar era de 54.

El número de muestra fue calculado utilizando el paquete de computación Stat Calc del programa Epi-Info versión 5.0.

7.5.2. Diseño de muestreo

El muestreo se realizó completamente al azar.

1-2-3- Diseño de muestreo

7.5.2. Diseño de muestreo

El muestreo se realizó completamente al azar.

7.5.3. Análisis de resultados

El análisis de resultados fue descriptivo. Se hizo una estimación de la frecuencia de V. cholerae en camarones en todo el mercado. El método estadístico fue de estimación del valor poblacional (el mercado La Terminal) en base a la muestra.

8. RESULTADOS

En el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, existen 84 puestos de venta de mariscos de los cuales 54 fueron escogidos completamente al azar para determinar la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones Penaeus sp. expendidos en dicho mercado durante el período comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994.

De cada uno de los 54 puestos de venta se tomó una muestra de 460 gramos de camarón y de cada muestra se analizaron 25 gramos.

Al realizar los análisis de las muestras, diez presentaron crecimiento de colonias sospechosas de V. cholerae en el agar TCBS. A cada una de estas colonias se les realizó la tinción de Gram y en todas se observaron bacilos gram negativo. De las diez colonias sospechosas solamente tres dieron resultados positivos para las pruebas de oxidasa y cordón. A estas tres muestras también se les realizó la prueba con el antisero anti V. cholerae 01 marca BBL pero ninguna dio resultado positivo.

Con estos resultados se puede decir que ninguna de las muestras de camarón se encontraba contaminada con la bacteria causal del cólera.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

El mercado La Terminal se escogió para realizar este estudio de la determinación de la frecuencia de *V. cholerae* 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones *Penaeus* sp. debido a que este mercado es el distribuidor principal de mariscos en la ciudad capital de Guatemala.

Se eligió determinar la frecuencia en camarones debido a que este alimento ha sido incriminado como uno de los principales transmisores del cólera en nuestro país sin tener una base científica que lo confirme (10,37).

Como se puede observar en los resultados, solamente en diez (18.5%) de las 54 muestras analizadas se aislaron colonias sospechosas de *V. cholerae*, pero al realizar las pruebas de oxidasa y cordón solamente tres de las diez dieron resultados positivos para dichas pruebas. Las siete muestras, que dieron la prueba de oxidasa negativa, pudieron haberse tratado de colonias de enterobacterias las cuales no fueron identificadas.

A las tres muestras que presentaron colonias oxidasa positivo se les realizó la prueba con antisuero anti *V. cholerae* 01 marca BBL y todas dieron un resultado negativo. Este resultado pudo deberse a que las colonias eran de *Aeromonas* o de *V. cholerae* no 01 fermentadores de la sucrosa.

Del total de las 54 muestras analizadas ninguna resultó estar contaminada con *Vibrio cholerae* 01, serotipo Inaba, biotipo el tor.

Debido a que el método estadístico es de estimación del valor poblacional (el mercado La Terminal) en base a la muestra,

se puede concluir que la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones Penaeus sp. expandidos en el mercado La Terminal, durante el período de tiempo comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994, fue del cero por ciento.

Esta frecuencia obtenida pudo deberse a que los camarones no provienen contaminados con V. cholerae desde el mar o criaderos artificiales y además no fueron contaminados durante su transporte hacia el mercado. Otra causa de esta falta de contaminación pudo deberse a que el camarón se vende rápidamente en los puestos de venta (permanece en los puestos durante 3 horas como máximo); además todos los puestos de venta son lavados con agua y jabón e inclusive cloro, antes de recibir el camarón y después de haberlo vendido.

10. CONCLUSIONES

10.1. La frecuencia de Vibrio cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones Penaeus sp. expendidos en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, durante el período comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994, fue del cero por ciento.

10.2. Los camarones Penaeus sp. expendidos en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, durante el período comprendido del 11 al 27 de mayo de 1994, no constituyeron un alimento de alto riesgo en la transmisión del cólera.

10.3. En los puestos de venta de mariscos del mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala, durante el período del 11 al 27 de mayo de 1994, se aplicó una medida importante para la prevención del cólera la cual fue el lavado de las planchas de cemento de los puestos de venta con agua, jabón y cloro.

11. RECOMENDACIONES

11.1. Realizar este estudio por un período de tiempo más largo para poder determinar con mayor certeza la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en camarones Penaeus sp. que se expenden en el mercado La Terminal ubicado en la zona 4 de la ciudad capital de Guatemala.

11.2. Realizar en estudios posteriores la identificación completa de todas las colonias sacarosa positivo que se aislen en el medio de cultivo TCBS.

11.3. Determinar la frecuencia de V. cholerae 01, serotipo Inaba, biotipo el tor, en otros mariscos tales como el filete de tiburón, pescados, conchas, etc.

12. REFERENCIAS

- 1- Organización Panamericana de la Salud. Lineamientos para la vigilancia y control del cólera. Bol Epidemiol. 1991; 4:7-10.
- 2- Organización Panamericana de la Salud. Diálogo sobre la diarrea; cólera afecta a las Américas. Bol Inter Cont Enf Diar. 1991; 35:5-7.
- 3- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Dirección General de Servicios de Salud. Bol Epidemiol Nac. 1991; 5:11-16.
- 4- West PA. Cholera; the disease, treatment and prevention. PHLS Microbiol Dig. 1992; 9(1):17-19.
- 5- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Dirección General de Servicios de Salud. Manual de normas y procedimientos para la vigilancia y control del cólera; versión actualizada. Guatemala: INCAP, OPS/OMS. Doc. Tec. 1992. 49p.
- 6- Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Riesgos de transmisión del cólera por los alimentos. Washington: OPS/OMS. Doc.Tec. 1991. 67p.
- 7- Lee JV. Vibrio cholerae; the species and the characteristics of de strains causing epidemic cholera. PHLS Microbiol Dig. 1992; 9(1):14-17.
- 8- Organización Panamericana de la Salud. Antecedentes históricos del cólera en las Américas. Bol Epidemiol. 1991; 12(1):10-12.
- 9- Barua D. Supervivencia del vibrión colérico en los alimentos, el agua y los fomites; principios y prácticas de la lucha contra el cólera. Ginebra: OMS. Doc. Tec. 1991. 40p.
- 10- Programa de Salud Pública Veterinaria, Organización Panamericana de la Salud. Inocuidad y comercialización de alimentos frente a la epidemia del cólera en las américas. Buenos Aires: OPS, OMS, ONU. Doc.Tec. 1992. 36 p.
- 11- Organización Panamericana de la Salud. La situación del cólera en las Américas. Bol Epidemiol. 1991; 12(1):1-2.
- 12- Organización Panamericana de la Salud. La epidemia del cólera en El Perú. Bol Epidemiol. 1991; 12(1):2-7.
- 13- Organización Panamericana de la Salud. Diálogo sobre la diarrea, actualidades sobre el cólera. Doc. Tec. 1990. vol.No.32, 8p.(p.2).

- 14- Nicoletti G, Nicolosi VW. Diccionario de bacteriología humana. Barcelona: Doyma, 1989. 295p.(p.253-260).
- 15- Cruz JR. Aspectos microbiológicos de las enfermedades diarreicas. Rev Col Med. 1986; 37:14-22.
- 16- Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico y tratamiento del cólera. Bol Epidemiol. 1991; 12(1):14-18.
- 17- Organización Panamericana de Salud. Pautas para el control del cólera. Bol Epidemiol Nac. 1991; 4:11-16.
- 18- Roberts D. Growth and survival of Vibrio cholerae in foods. PHLS Microbiol Dig. 1992; 9:24-28.
- 19- Hornick RB, et al. The broad street pump revisited; response of volunteers to ingested cholera vibrios. Bull NY Acad Med Sc. 1971; 47:81-91.
- 20- Organización Panamericana de Salud. Condiciones de la salud ambiental y la vulnerabilidad del cólera en América latina y el Caribe. Bol Epidemiol. 1991; 12(2):5-10.
- 21- Reyes de Portillo IA. Calidad bacteriológica del agua que abastece a la población del municipio de Champerico. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1982. 58p.
- 22- Joklik J. Microbiología de Zinsser. 18 ed. Meeroff, trad. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1987. 1832p.(p.718-724).
- 23- Organización Panamericana de la Salud, Salud ambiental. prevención y control del cólera. Bol Epidemiol. 1991; 12(1):18.
- 24- Organización Panamericana de la Salud. Medidas de salud ambiental en la prevención y control del cólera. Bol Epidemiol. 1991; 12(3):13-14.
- 25- Appropriate Health Resources and Technologies. Diálogo sobre la diarrea; el riesgo de transmisión del cólera por alimentos importados es escaso. Bol Internac Cont Enf Diar. 1991; 35:8.
- 26- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social/UNICEF. Juntos contra el cólera; manual de información y medidas prácticas. Guatemala, 1992. 20p.
- 27- Organización Panamericana de la Salud. Vigilancia de la situación de salud según condiciones de vida. Bol Epidemiol. 1991; 12(3):7-9.
- 28- Madden JM, MacGardell BA, Boutin BK. Isolation and identification of Vibrio cholerae. United States of America: Food and Drug Administration, 1984. 13p.(p.1-12).

- 29- Torres MF, et al. Etiología y diagnóstico de laboratorio del cólera. OPS. Guatemala, 1991. 22p.
- 30- Koneman EW. Diagnostic microbiology. 3a. ed. Philadelphia: Lippincot, 1988. 840p.(p.210-216).
- 31- Skinner FA, Shwan JM. Aquatic microbiology. USA: Academic press, 1977. 369p.(p.141).
- 32- Spira WM, Ahmed QS. Filtration and enrichment procedures for recovery of *Vibrio cholerae* from contaminated waters. Appl Enviroment Microbiol. 1981; 42:730-733.
- 33- Speck M. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. United States of America: American Public Healt Association Inc, 1986. 701p.(p.358-369).
- 34- Balows A, et al. Manual of Clinical Microbiology. Fifth edition. Washington: American Society for Microbiology, 1991. 1,364p.(p.390).
- 35- StLouis ME, et al. Epidemic cholera in west Africa; the role of food handling and high-risk foods. Amer J Epidem. 1990; 131(4):719-725.
- 36- Varma PRG, et al. Studies on the incidence of *Vibrio cholerae* in fishery products. J Fd Sci Technol. 1989; 26(6):341-342.
- 37- Lowry PW, et al. Cholera in Louisiana; widwning spectrum of seafood vehicles. Arch Intern Med. 1989; 149:2,079-2,084.
- 38- Barnes RD. Zoología de los invertebrados. 3a. ed. México: Interamericana, 1977. 493p.(p.140).
- 39- Ubico SR. Contaminación microbiana de algunos mariscos destinados al consumo humano en la ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad del Valle, (tesis de graduación, Biología) 1980. 83p.
- 40- Bertullo V. Tecnología de los productos y subproductos de pescado, moluscos y crustáceos. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1975. 538p.(p.340).
- 41- Newman G. Los recursos vivos del atlántico sudoriental. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Doc. Tec. 1979. 64p.(p.32).
- 42- Barnes RD. Zoología de los Invertebrados. 3a.ed. Otten Waelder CG, trad. México: Editorial Interamericana, 1977. 826p.(p.278-285).
- 43- Barnes RD. Zoología de los invertebrados. 3a.ed. Mata RE, trad. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., 1985. 1,157p.(p.345).

- 44- Akman MS, Ceylan S, Sanly Y. Degree of contamination with organochlorine insecticides in different species of fish and shrimps from the turkish mediterranean coast. *Ank Univ Vet Fak Derg.* 1978; 25(1):121-134.
- 45- Organización Mundial de la Salud/FAO. Código Internacional recomendado de prácticas para los camarones; *Codex alimentarius*. 2a.ed. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación, Organización Mundial de la Salud, vol.8, 1984, 43p.
- 46- Massanet de Ramírez I. Estudio microbiológico comparativo entre camarones de exportación y camarones de consumo local. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1982. 71p.
- 47- Charley H. Tecnología de los alimentos; procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. España: Limusa, 1989. 603p.(p.407).
- 48- Toma RB, James WH. Nutritional evaluation of protein from shrimp connery effluent (shrimp waste protein). *J Agric Food Chem.* 1975; 23(6):1168-1165.
- 49- Czczuga D, Gierasimow M. Aminoacids content in the protein of fresh and salt water crustaceans. *Bull Aca Polo Sci Biol.* 1976; 24(11):663-666.
- 50- Cobb BF, Conte FS, Edwards MA. Free aminoacids and osmoregulation in Penaeid shrimp. *J Agric Food Chem.* 1975; 23(6):1172-1174.
- 51- Stepanova IV, Amon MEB. Determination of lipophilic vitamins in fish and marine crustaceans using thin-layer cromatography. *Rybne Khasya* 1977; 1:75-76.
- 52- Funwar JK. Gas-liquid chromatographic determination of total cholesterol in multicomponent foods. *J Assoc Off Anal Chem.* 1975; 58(4):804-810.
- 53- Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Manual para el control de calidad de los alimentos; análisis microbiológico. Roma: FAO. Doc. Tec. 1981. 15p.
- 54- Edwards PR, Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae. 3.ed. Georgia: Burgesz Publising Company, 1972. 362p.(p.214).
- 55- Gramajo VA. Aislamiento de Salmonella y otras enterobacterias en productos cárnicos. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1980. 60p.
- 56- Thompson RH. Halogenated metabolites from marine animals and plants. *J Ind Chem Soc.* 1978; 55(1):1209-1215.

- 57- Gene-Trak Systems. The Gene-Trak colorimetric assay format. Massachusetts:Gene-Trak Systems. Doc. Tec. 1989. 4p.
- 58- Brownell GH. DNA probes for the identification of *Nocardia asteroides*. J Clin Microbiol. 1990; 28(9):2,082-2,086.
- 59- Fields PI, et al. Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. J Clin Microbiol. 1992; 30(8):2118-2121.
- 60- Olsvik O, et al. Use of automated sequencing of polymerase chain reaction generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. J Clin Microbiol. 1993; 31(1):22-25.

13. A N E X O S

Cuadro No.1. " Reglas de oro" de la OMS para la preparación higiénica de los alimentos.

1. **Elegir alimentos tratados con fines higiénicos:** Los alimentos se tratan para que se conserven mejor y para que resulten más seguros desde el punto de vista sanitario.
2. **Cocinar bien los alimentos:** Los agentes patógenos pueden eliminarse si se cocina bien el alimento. La temperatura aplicada debe llegar al menos a 70°C en toda la masa del alimento. Los alimentos congelados deben descongelarse bien, antes de cocinarlos.
3. **Consumir inmediatamente los alimentos cocinados:** Cuando los alimentos cocinados se enfrían a temperatura ambiente las bacterias empiezan a proliferar. Cuanto más se espera hay mayor riesgo.
4. **Guardar cuidadosamente los alimentos cocinados:** Si se quiere tener en reserva alimentos cocinados hay que prever su almacenamiento en condiciones de calor mayores a los 60°C o de frío menores a los 10°C.
5. **Recalentar bien los alimentos cocinados:** Un buen recalentamiento implica que todas las partes del alimento alcancen al menos una temperatura de 70°C.
6. **Evitar el contacto entre los alimentos crudos y los cocinados:** Un alimento bien cocinado puede contaminarse si se tiene el más mínimo contacto con alimentos crudos.
7. **Lavarse las manos a menudo:** Lavar bien las manos antes de empezar a preparar alimentos y después de cambiar pañales o ir al baño. Ciertos animales de compañía albergan a menudo agentes patógenos que pueden pasar a las manos de las personas y a los alimentos.
8. **Mantener escrupulosamente limpias todas las superficies de la cocina:** Cualquier desperdicio o mancha puede ser un reservorio de gérmenes y éstos pueden contaminar los alimentos.
9. **Mantener los alimentos fuera del alcance de insectos, roedores y otros animales:** Los animales suelen transportar organismos patógenos. Deben guardarse los alimentos en trastos cerrados.
10. **Utilizar agua pura:** Si el suministro hídrico no inspira confianza, conviene hervir el agua antes de añadirla a los alimentos o de transformarla en hielo para refrescar las bebidas.

(6)

Cuadro No.2. Reacciones de *Vibrio cholerae*
en medios diferenciales.

MEDIO	REACCION		
	SUPERFICIE/FONDO	GAS	H ₂ S
TSI	ácido o alcalino /ácido	-	-
Kligler	alcalino/ácido	-	-
LIA	alcalino/alcalino ó alcalino/neutro	-	-

El medio de MIO da las reacciones de movilidad y ornitina positivos y el indol en un 86 por ciento de los casos es positivo.

(10, 29)

Cuadro No.3. Características y diferenciación de los biotipos clásico y el tor de Vibrio cholerae 01

PRUEBA O PROPIEDAD	BIOTIPO ^a	
	Clásico	El tor
Aislado en la India	Ocasional ^b	Común
Aislado en el resto del mundo	Muy raro	Común
Pruebas diferenciales		
Hemólisis de eritrocitos de carnero	-	+
Voges - Proskauer	-	+
Inhibición por Polimixina B (disco de 50 U)	+	-
Aglutinación de eritrocitos de pollo	-	+
Lisis por bacteriófagos:		
Clásico IV	+	-
FK	+	-
El tor 5	-	+

^a. Todos los datos son para reacciones que se llevan a cabo a una temperatura entre 35°C-37°C: +, mayoría de las cepas (generalmente del 90 por ciento al 100 por ciento) dan reacción positiva; -, mayoría de las cepas dan resultado negativo (generalmente cero por ciento al diez por ciento dan resultado positivo).

^b. El biotipo clásico reaparece hace varios años en la India y es encontrado en ciertos lugares pero no en otros.

(34)

Cuadro No.4. Diferenciación en serotipos
de *V. cholerae* 01

SEROTIPO	FACTORES	AGLUTINACION EN SUERO ABSORBIDO	
		Ogawa	Inaba
Ogawa	A, B	+	-
Inaba	A, C	-	+
Hikojima	A, B, C	+	+

(29)

Cuadro No.5. Tiempos de supervivencia de los vibriones del cólera en alimentos.

ALIMENTO	TIEMPO DE SUPERVIVENCIA
Alimentos ácidos.	< 1 semana *
Frutas y hortalizas de superficie áspera.	> 1 semana *
Frutas y hortalizas crudas y no dañadas.	2 semanas en el refrigerador.
Alimento con alto porcentaje de azúcar.	< 1 semana *
Especies secas en polvo.	< 1 semana *
Productos curados desecados.	< 1 semana *
Cerveza, bebidas gaseosas, café, limonadas ácidas.	24 horas *
Pescados, moluscos y crustáceos	< 5 días a temperatura ambiente y de 1 a 2 semanas en refrigeración

* Temperatura ambiente.

(6)

J. Mencos

Irma Josefina Juárez Mencos
Tesisista

Karin Herrera

Lic. Karin Herrera
Asesora

Gerardo Arroyo

Lic. Gerardo Arroyo
Director

Jorge Pérez Folgar

Lic. Jorge Pérez Folgar
Decano