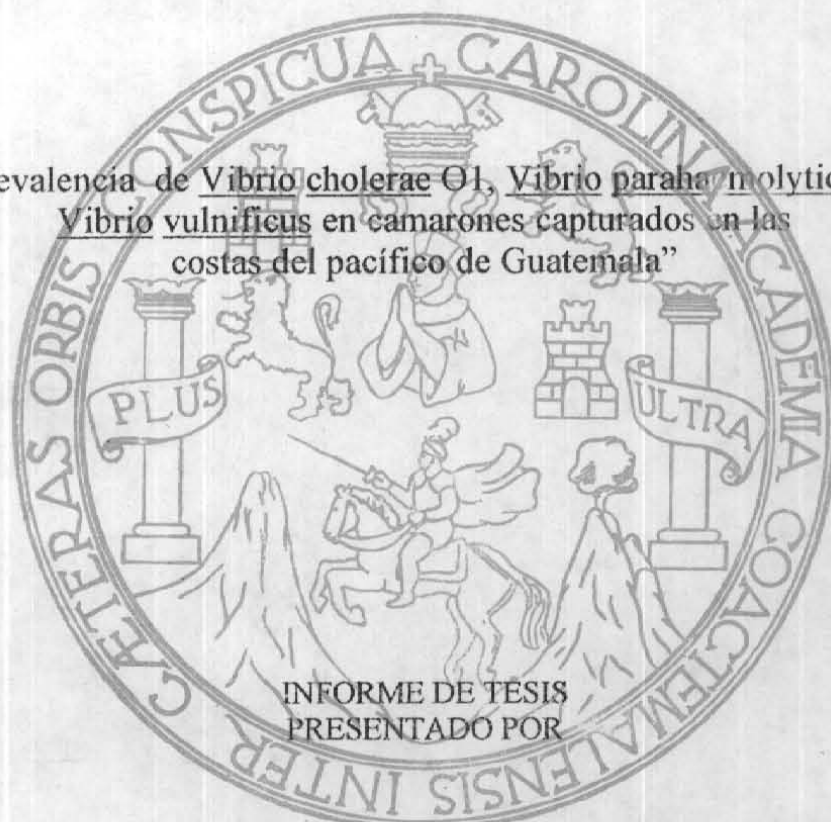


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

“Prevalencia de Vibrio cholerae O1, Vibrio parahaemolyticus y
Vibrio vulnificus en camarones capturados en las
costas del pacífico de Guatemala”



INFORME DE TESIS
PRESENTADO POR

Mónica Ofelia Alvarado Pernillo

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, Febrero 1998

06
T (1834)
C.4

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

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR.
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA.
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ.
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN.
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE.
VOCAL IV	Br. HERBERT RAUL AREVALO ALVARADO.
VOCAL V	Br. MANOLA ANLEU FORTUNY.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS Porque sin su ayuda no sería nada ni nadie, porque es mi creador y mi Salvador, porque toda mi vida pertenece a mi Señor.

A LA SANTISIMA VIRGEN MARIA

Porque es mi madre del cielo, porque me ayuda, me cuida, Intercede por mí y me ama.

A MI PAPA Lic. Mario Arturo Alvarado Melgar, porque siempre ha estado a mi lado y ha sabido ser un gran Padre.

A MI MAMA Ofelia Pernillo de Alvarado, porque no hay palabras para describir el inmenso amor que ella me tiene, y porque representa para mí el más grande amor terrenal y un gran ejemplo a seguir.

A MIS HERMANOS

Iliana y Mario porque los quiero y son un gran apoyo en mi vida.

A MIS SOBRINOS

Diego y Berny porque son una parte muy importante para mí, los quiero mucho y me han hecho muy feliz.

A JOSUE

Por su ternura, y su gran amor.

A MIS AMIGOS

Por creer en mí y regalarme su amistad.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue posible a gracias a:

- Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá INCAP; División de Nutrición e Infección, Laboratorios Leonardo Mata.
- Licenciada Floridalma Cano Granados, a la cual le agradezco su paciencia y su gran ayuda
- A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

INDICE

I.	RESUMEN.....	1
I.	INTRODUCCION.....	4
II.	ANTECEDENTES.....	6
A.	Ciclo de vida de los camarones.....	6
B.	Aspectos microbiológicos y epidemiológicos de los Vibrios patógenos relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).....	8
B.1.	<u>Vibrio cholerae</u>	9
B.2.	<u>Vibrio parahaemolyticus</u>	12
B.3.	<u>Vibrio vulnificus</u>	14
C.	Determinación de <u>Vibrio cholerae</u> , <u>Vibrio parahaemolyticus</u> <u>Vibrio vulnificus</u> en alimentos marinos... 16	16
C.1.	<u>Vibrio cholerae</u>	16
C.2.	<u>V. parahaemolyticus</u> y <u>V. vulnificus</u>	18
III.	JUSTIFICACION.....	20
IV.	OBJETIVOS.....	22
V.	HIPOTESIS.....	23
VI.	MATERIALES Y METODOS.....	24
VII.	RESULTADOS.....	35
VIII.	DISCUSION DE RESULTADOS.....	37
IX.	CONCLUSIONES.....	42
X.	RECOMENDACIONES.....	44
XI.	REFERENCIA.....	46
XII.	ANEXOS.....	54

I. RESUMEN

El objetivo principal del presente estudio fue determinar en camarones de consumo local la prevalencia y grado de contaminación de especies patógenas de Vibrios relacionadas con enfermedades transmitidas por alimentos: Vibrio cholerae O1, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus.

La mayoría de los camarones que se consumen a nivel local, son capturados en las costas del Pacífico; principalmente en el puerto de San José, Puerto de Champerico, Las Lisas y Sipacate.

Con base en el diseño de investigación, estratificado por conveniencia, se seleccionaron para ser analizadas en el laboratorio 50 muestras de camarón. Los camarones fueron obtenidos en los principales centros de acopio de las costas del Pacífico de Guatemala (lugares donde los pescadores artesanales llegan a vender los camarones que capturan durante el día) quedando distribuidos de la siguiente forma: 5 centros de acopio en el Puerto de las Lisas, (20 muestras), 2 centros de acopio en el puerto de San José, (8 muestras), 6 centros de acopio en el puerto de Champerico, (14 muestras) y 2 centros de acopio en el puerto de Sipacate (8 muestras); haciendo un total de 15 centros de acopio y 50 muestras de camarones. En cada una de las muestras de camarón se investigo por medio de la metodología de la FDA la presencia de Vibrios patógenos como Vibrio cholerae O1 y O139 productores de toxina colérica que son agentes causantes del cólera epidémico, Vibrio parahaemolyticus causante de gastroenteritis, y Vibrio vulnificus que en pacientes inmunocomprometidos o con problemas hepáticos causa septicemia y generalmente muerte a las 24 horas de

su consumo; también puede causar lesiones cutáneas intensas en personas que manipulan mariscos contaminados. Las muestras se procesaron siguiendo la metodología realizando así una cuantificación de las especies patógenas de los Vibrios ya mencionados.

Aplicando la técnica del número más probable (NMP) se encontró V. cholerae O1 en 3 muestras de camarón, representando él (6%), en una concentración entre 7 y 11 NMP/g. A estas cepas se les determinó la producción de toxina colérica por medio del método del PCR dando resultados negativos, por lo que se concluye que las cepas no son productoras de toxina colérica, es decir son del tipo no toxigénico. V. parahaemolyticus fue encontrado en 22 muestras de camarones representando él (44%), se aisló en concentraciones altas de 1,100 y >1,100 NMP/g. V. vulnificus se aisló en 2 muestras, lo que equivale al (4%) con una concentración no mayor de 11 NMP/g. También fue encontrado con una alta frecuencia V. cholerae no O1, en un total de 30 muestras representando el 60% del total de aislamientos en concentraciones mayores de 1,100 NMP/g.

Las cepas de V. cholerae O1 identificadas se aislaron únicamente en las diluciones sembradas en el agar modificado de Celobiosa Polimixina (mCPC); el aislamiento de V. cholerae O1 se dificulta en el agar TCBS por la presencia frecuente en concentraciones altas en los camarones de V. cholerae no O1 puesto que las características coloniales de todos los serogrupos de esta especie son similares. A pesar de que se picaron entre 3 a 4

colonias sacarosa positivas de cada dilución sembrada en el agar TCBS no se logró aislar este agente. El agar mCPC no permite el crecimiento de V. cholerae no O1.

De acuerdo con los resultados se concluye que la especie de Vibrio presente en camarones de consumo local con mayor frecuencia es V. parahaemolyticus que en concentraciones de 1×10^7 y dependiendo de la producción de toxina puede provocar enfermedades gastrointestinales.

Las condiciones de almacenamiento y transporte en los centros de acopio donde se recolecta la mayoría de camarones capturados por los pescadores artesanales no cumplen con normas sanitarias en cuando a manipulación y almacenamiento, esto influye a que la contaminación que presentan los camarones se incrementa, lo que representa un riesgo para la salud del consumidor por lo que se recomienda que los camarones al igual que otros productos de origen marino sean consumidos después de una cocción adecuada y evitar que se consuman crudos o mal cocinados, puesto que la mayoría de agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son eliminadas fácilmente por cocción.

Además es necesario y se recomienda mejorar las buenas prácticas de manufactura en la captura transporte y almacenamiento de productos marinos, como también vigilar por el cumplimiento de normas de higiene para evitar el incremento de la carga microbiana en los camarones después de su captura hasta llegar al consumidor.

II. INTRODUCCION

El camarón es un producto muy importante en la economía de Guatemala, siendo utilizado para su exportación así como para el consumo local. Existen dos formas de obtención de camarones, las cuales son por medio de la cosecha y la captura, la captura de camarones se realiza principalmente en las costas del pacífico, Puerto de San José, Sipacate, Las Lisas y Puerto de Champerico, siendo la mayoría de estos camarones destinados para el consumo local, dicha captura es realizada por medio de pescadores artesanales. La cosecha de camarones es utilizada casi exclusivamente para su exportación.

La mayoría de especies de camarones se desarrolla en aguas saladas, ambiente que es propicio para el crecimiento de las especies del género Vibrio. Estas bacterias son halofílicas en su mayoría; es decir que necesitan para su crecimiento alguna concentración de cloruro de sodio. Especies patógenas de vibrios que contaminan a los camarones pueden causar en el humano gastroenteritis y otras enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) ⁽¹⁾. Vibrio cholerae productor de toxina colérica (serogrupos O1 y O139), causante del cólera epidémico, Vibrio parahaemolyticus causante de gastroenteritis, y Vibrio vulnificus que en pacientes inmunocomprometidos o con problemas hepáticos causa septicemia y generalmente muerte a las 24 horas de su consumo; también puede causar lesiones cutáneas intensas en personas que manipulan mariscos contaminados (2).

Estas especies de Vibrios pueden transmitirse a través del

consumo de alimentos marinos como el camarón, que son consumidos crudos o mal cocinados, por ejemplo el ceviche de camarón representando un riesgo para la salud, debido a que pueden estar contaminados con Vibrios patógenos.

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal investigar en camarones capturados en las costas del pacífico de Guatemala la prevalencia de Vibrio cholerae O1 toxigénico, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus y establecer su importancia en camarones para el consumo local, los cuales podrían jugar un papel importante en la epidemiología de estas infecciones en el país.

III. ANTECEDENTES

A. Ciclo de vida de los camarones

En los camarones se pueden encontrar 40 especies repartidas en 6 géneros ⁽⁴⁾. La especie más consumida en Guatemala es Penaeus vannamei la cual es la especie más resistente a enfermedades, de mejor rendimiento de crecimiento en cautiverio y más tolerante a las condiciones adversas ⁽⁵⁾.

El ciclo de vida de los camarones *peneidos* es complejo comprendiendo las etapas de huevo, varios estadios larvarios, post-larva, juvenil y adulto ^(6,7). Estas etapas se llevan a cabo en dos fases: marina y estuarina.

En la fase marina se lleva a cabo el desove y la cópula entre machos y hembras normalmente después de que la hembra muda ⁽⁸⁾.

Durante el desove los espermatozoides depositados en los receptáculos seminales son liberados y cuando los huevos son descargados ocurre la fertilización. Los camarones *peneidos* producen un promedio de 500,000 a 1,000,000 huevos, dependiendo de la especie y condición de la hembra ^(6,9). Los huevos son descargados directamente en el agua, ocurriendo la eclosión varias horas después del desove. Los huevos fertilizados eclosionan como larva nauplios de 13 a 14 horas después del desove. Existen tres fases de larva: *Naupilo*, *Zoea* y *Mysis* ^(8,10).

El estadio de post-larva presenta las características morfológicas de un camarón adulto, los cuales se mueven en dirección de la costa, hacia los estuarios de los ríos, o en los

canales, donde se desarrollan rápidamente, ya que encuentran una mayor disponibilidad de alimento, menor salinidad, mayor temperatura y protección contra los depredadores ^(11,12). En estas zonas estuarinas consideradas como áreas de cría, las postlarvas, que son de hábitos bentónicos crecen hasta convertirse en juveniles aprovechando el sustrato rico en vegetación acuática y abundante materia orgánica, proporcionada por la presencia de los manglares que desempeñan una función importante ya que la biomasa de la fauna de los estuarios depende de la materia orgánica proporcionada por ellos, la cual se distribuye en toda el área por efecto de las mareas ⁽¹¹⁾.

Los camarones aprovechan todo tipo de alimento disponible en el fondo de los estuarios, incluyendo detritus, algas y microorganismos que lo habitan ⁽¹¹⁾.

Después de post-larva se transforman en camarones juveniles, manteniéndose en los estuarios de los ríos durante un lapso de 3-4 meses, luego de este lapso, emigran al mar, alcanzando una talla entre 10 y 13 centímetros ⁽¹¹⁾.

Las hembras son sexualmente inmaduras cuando salen de los estuarios. No madurarán hasta que alcancen los campos de apareo, lejos de la costa y cuando se encuentren en profundidades que van de las 7 a las 11 brazas. Los machos por naturaleza maduran antes que las hembras ⁽¹¹⁾.

Para que ocurra el apareo, la hembra debe haber mudado y encontrarse con el carapacho o exoesqueleto blando que es un estado característico ^(6,10).

La fisiología de los camarones se modifica a lo largo de su desarrollo, evolucionando en particular sus facultades de osmorregulación, que está ligada al hecho de que los camarones emigran a lo largo de su vida a través de diversos biotipos que esencialmente se les puede caracterizar por su gradiente de salinidad ^(8,10).

B. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos de los vibrios patógenos relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

El género Vibrio pertenece a la familia Vibrionaceae que también incluye a los géneros Aeromonas, Photobacterium y Plesiomonas ⁽¹³⁾. Comprende bacilos anaerobios facultativos, móviles, gram negativo y oxidasa-positivo, (con excepción de Vibrio metschnikovii y Vibrio gazogenes que son oxidasa-negativo) ^(2,3,14). A diferencia del resto de especies, V. cholerae y V. mimicus, pueden crecer en medios que carecen de cloruro de sodio (NaCl); sin embargo, crecen mejor en presencia de 2% de NaCl en los medios de cultivo ^(14,15). Las especies de vibrios por su capacidad de tolerar concentraciones altas de cloruro de sodio viven frecuentemente en aguas marinas, colonizando a peces, crustáceos, mariscos, y entre ellos a los camarones ^(16,17,18).

El género Vibrio posee muchas especies que son patógenas para el hombre produciendo enfermedades extraintestinales e intestinales (anexo 1).

Las especies más importantes relacionadas con enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son: V. cholerae productor de

Toxina colérica, V. parahaemolyticus y V. vulnificus ^(13, 20, 21).

1. Vibrio cholerae:

Este agente se clasifica con base en el antígeno somático "O" en serogrupos. El antígeno "O" está constituido por una proteína termolábil y una termoestable, y cuatro polisacáridos. Las diversas combinaciones de proteínas y polisacáridos le confieren diferentes estructuras químicas, y por tanto antigénicamente diferentes. El serogrupo O1 de V. cholerae; y el recientemente identificado O139 son capaces de producir la toxina causante del cólera epidémico; el resto de serogrupos O2 en adelante pertenecen a los vibrios llamados V. cholerae no O1, y no O139 ⁽¹⁹⁾.

V. cholerae O1 se divide según sus características bioquímicas en biotipos *Clásico* y *Eltor*, cada uno de los cuales puede ser subdividido en tres serotipos; el serotipo Ogawa tiene los antígenos A y B; el serotipo Inaba posee los antígenos A y C y el Hikojima tiene los tres A, B y C (anexo 2 y 3) ⁽¹⁹⁾.

Las cepas de Vibrio cholerae (no O1) que no están relacionadas con brotes epidémicos se les ha aislado en diferentes ambientes; del hombre, animales domésticos, mascotas y del ambiente acuático (ríos, esteros y lagos) ⁽¹⁶⁾.

En el mar se le encuentra en peces, crustáceos y otros productos marinos cuyo consumo en comidas cocinadas inadecuadamente se asocia con cuadros de diarrea. En el ser humano, los vibrios no O1 pueden causar casos esporádicos de gastroenteritis en 1 a 3 días de evolución, así como infecciones extraintestinales como septicemia, otitis media, cistitis, en

el canal auricular externo y de la faringe posterior. Estas infecciones habitualmente se contraen por contacto con el agua del mar^(15,19).

El cólera es una afección diarréica aguda acompañada de vómitos y calambres abdominales; caracterizada por una pérdida masiva de líquido y de electrolitos que conduce a una deshidratación severa, que si no se trata puede producir colapso cardiocirculatorio, acidosis metabólica, shock hipovolémico, insuficiencia renal y muerte en sólo un día⁽¹⁵⁾. Los casos benignos pueden consistir en episodios de diarreas de curación espontánea⁽²²⁾.

V. cholerae afecta únicamente a humanos; siendo bastante sensible a la desecación, a temperaturas de cocción, a la luz solar y al pH ácido. No crece a pH menores de 5, por lo que la acidez gástrica desarrolla una importante función protectora contra el cólera (19).

La dosis infectiva de vibriones del biotipo ElTor es 1×10^6 y de 1×10^9 para el biotipo clásico^(14,15,19). Superada la barrera gástrica, V. cholerae penetra en el epitelio del tracto intestinal, colonizando el intestino delgado, partiendo del duodeno y progresando hacia el íleon. La enterotoxina que produce se une sobre todo a los gangliósidos de las membranas de las células epiteliales del intestino delgado. Después de un período de latencia de 15 a 60 minutos de ocurrida esta unión, cuyo efecto dura 20-24 horas y no es reversible, comienza a producirse en las células de la mucosa un incremento de la adenilatociclasa,

catalizando la transformación del ATP en AMPc (23).

El aumento del 3,5 adenosín monofosfato cíclico (AMPc) provoca la secreción activa de aniones cloruro y bicarbonato y de cationes sodio y potasio de las células de la mucosa del lumen intestinal; estos iones provocan por ósmosis, un flujo pasivo de un gran volumen de agua que, en los casos más graves, puede alcanzar la cantidad de 15-20 litros al día(23), por lo cual es necesaria la reposición inmediata de líquidos por medio de hidratación por vía oral o intravenosa(23).

El agua contaminada con heces de personas infectadas es el vehículo de transmisión del cólera ya directamente o por la contaminación de los alimentos(24,25). La fuente de contaminación acuática ha sido demostrada en los últimos años, en que ha ocurrido un número elevado de epidemias de Vibrio cholerae O1 ElTor(anexo 3)^(25,26,27). Este tiene una gran supervivencia en aguas templadas y en animales acuáticos, como peces, mariscos, ostras, almejas y otros⁽²⁵⁾, los cuales al ser ingeridos crudos o mal cocinados son un vehículo de transmisión de la infección.

También han sido involucrados como medios de transmisión otros alimentos (leche, arroz, lentejas, papas, almendras, huevos, carne de pollo, camarones etc.) cuando se encuentran fuera de refrigeración o a temperatura ambiente en países tropicales, de este modo el microorganismo se introduce en pequeño número por manos sucias o agua contaminada y puede multiplicar los niveles de infección⁽²²⁾. También se ha informado de brotes de cólera por la ingestión de vegetales de hojas frescas rociadas con agua

contaminada^(22,27).

Vibrio cholerae O1 puede ser eliminado de agua y alimentos por medio de la exposición a temperaturas de cocción, como también por la adición de algunos agentes químicos como el hipoclorito de sodio^(28,29).

En el curso de la historia en el mundo han ocurrido siete grandes pandemias por V. cholerae O1 toxigénico. La presente comenzó en 1961, según algunos autores, en Hong Kong y Macao, mientras que la OMS considera que su inicio tuvo lugar en las islas Célebes (Indonesia)(1).

El primer país en América en reportar esta enfermedad fue Canadá en 1829, correspondiendo a una de las primeras pandemias mundiales. En Guatemala, el cólera se introdujo en 1836, 1857 y la actual en julio de 1991^(19,22). En 1996, durante el primer semestre se notificaron al Centro de Información y Vigilancia del Cólera del Departamento de Vigilancia Epidemiológica un total de 649 nuevos casos de cólera⁽³⁰⁾, de los cuales 32 han sido confirmados, registrándose 7 defunciones, lo que representa una letalidad de 1.08 por cien casos. Baja Verapaz, Suchitepéquez, Amatitlán, Retahuleu, Izabal y Zacapa son los departamentos más afectados por el cólera en este año.

La incidencia de esta enfermedad ha presentado un descenso durante las primeras 17 semanas epidemiológicas en comparación con las mismas semanas del año 1995. El descenso a nivel nacional ha sido de 14.28 por ciento respecto al año anterior⁽³⁰⁾.

2. Vibrio parahaemolyticus:

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria halofílica que se encuentra en forma natural en el agua de los estuarios, se ha aislado en muchas especies de pescado, ostras, mariscos y crustáceos^(3,14). En Japón, fue señalado por primera vez como causa de gastroenteritis en 1950⁽³¹⁾.

V. parahaemolyticus se le han atribuido numerosos brotes de gastroenteritis transmitidos por pescado y mariscos en Estados Unidos, en donde se informó a partir de 1971 de catorce epidemias gastroenteríticas atribuidas a este microorganismo y 3 epidemias entre pasajeros y la tripulación de navíos en cruceros por el Caribe. La presencia de V. parahaemolyticus en estas epidemias se ha confirmado por su aislamiento microbiológico en heces de los pacientes o de los alimentos. Estas epidemias probablemente han sido originadas por diferentes causas tales como: refrigeración inadecuada, cocción insuficiente, contaminación cruzada con otros alimentos o con el ambiente y re-contaminación⁽¹⁵⁾.

En 1968, Sakazaki informó sobre la habilidad de V. parahaemolyticus de causar hemólisis en agar Wagatsuma, preparado con eritrocitos frescos humanos o de conejo, produciendo el fenómeno Kanagawa que consiste en la formación de un halo de hemólisis de 3 mm de diámetro, el cual se relaciona con la presencia de una hemolisina directa termoestable (TDH). Este fenómeno se relaciona con cepas de V. parahaemolyticus que producen enfermedad gastrointestinal, estableciéndose un 96.5% de cepas positivas a esta prueba⁽³²⁾. La TDH puede detectarse también por métodos de biología molecular⁽³³⁾.

Los síntomas clínicos de la gastroenteritis provocados por V. parahaemolyticus se resuelven espontáneamente con una duración aproximada de 3 días, y son: diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, cefalea y algunas veces fiebre, se ha descrito en algunos casos un síndrome disenteriforme con heces sanguinolentas y mucosas. En casos severos hay deshidratación hipotensión y acidosis metabólica(32).

Además de la enfermedad diarréica V. parahaemolyticus ha sido aislado en un pequeño número de infecciones extraintestinales, habitualmente heridas infectadas después de contacto con agua de mar⁽¹⁵⁾.

V. parahaemolyticus llega al hombre por medio de pescados, mariscos, crustáceos que son consumidos sin ningún tratamiento de cocción o insuficientemente cocinados, o por inadecuada manipulación después de su cocción⁽³⁴⁾.

3. Vibrio vulnificus

Vibrio vulnificus fue reconocido como una especie patógena Desde 1976, siendo asociada con infecciones virulentas^(13,35).

Es habitante normal en aguas cuya concentración de cloruro de sodio es alta (por ejemplo el agua de mar) contaminando peces, crustáceos, ostras, camarones, y otros^(36,37).

Esta especie es similar a V. parahaemolyticus y a V. alginolyticus; pero difiere por su capacidad de fermentar la lactosa, y fue conocido como Vibrio lactosa-positivo, se diferencia de otras especies de vibrios por producir una reacción

positiva frente a la lisina descarboxilasa, fermenta la salicina y la celobiosa, y es ONFG positivo. V. vulnificus se puede identificar por medio de su resistencia a los antibióticos, es resistente al Colisistin pero susceptible a la Ampicilina y Carbenicilina⁽¹³⁾.

La infección por V. vulnificus puede presentarse bajo dos formas: la primera es una septicemia que frecuentemente aparece dentro de las 24 horas después de la ingestión de mariscos crudos contaminados, tiene un alto porcentaje de letalidad en pacientes inmunocomprometidos y con enfermedades hepáticas preexistentes.

La segunda forma es una infección de heridas que se caracteriza por presentar celulitis, y es contraída por contacto con el agua de mar o en la manipulación de crustáceos, en este segundo tipo de infección los casos de letalidad son bastante raros^(13,15).

V. vulnificus puede ser fácilmente eliminado de los alimentos y del agua por medio de la exposición a altas temperaturas (de 90 a 100°C.) y otros factores que lo destruyen, como la radiación y la exposición a luz ultravioleta^(36,38,39).

Se ha comprobado que V. vulnificus al exponerlo a temperaturas de congelación de -20°C. se reduce en un alto porcentaje la cantidad de esta bacteria en el alimento^(40,41).

El medio Colisistin-Polimixina B-Celobiosa agar (mCPC) es un medio que es utilizado para aislar especialmente a V. vulnificus por la capacidad de esta bacteria para fermentar la celobiosa, facultad que no poseen otros vibrios, por lo que es más fácil el aislamiento e identificación de este Vibrio por medio de este

agar^(12,43).

Una de las pruebas para confirmar la patogenicidad de V. vulnificus, consiste en la biovaloración del ratón cargado de hierro, permitiendo distinguir entre los cultivos puros de V. vulnificus patógenos y no patógenos^(14,35,44). Esta prueba consiste en inocular una suspensión de la bacteria a un grupo de ratones previamente inyectados con hierro dextrano, los cuales son observados durante 48 horas y se registra el número de ratones muertos en cada grupo. Las cepas avirulentas no son mortales para ratones cargados de hierro⁽¹⁴⁾.

C. Determinación de Vibrio cholerae O1, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus en alimentos marinos^(45,46).

1. Vibrio cholerae:

La determinación de la presencia de V. cholerae en alimentos lleva como primer paso un pre-enriquecimiento en APA al 2% de NaCl y pH 9. Para ello se pesan 50 gramos del alimento y se diluyen en 450 ml de APA para realizar una dilución 1:10. A partir de esta dilución se realiza otras diluciones (1:100 y 1:1000, etc.), las cuales se incuban por duplicado a 36 y 42°C respectivamente⁽¹⁴⁾.

De todas las diluciones se toma de la película (crecimiento superficial) y sin agitar el frasco, se toma una alícuota con un asa y se siembra a los siguientes medios selectivos: Tiosulfato-Citrato-Sales Biliares-Sucrosa(TCBS) y medio modificado de Celobiosa Polimixina agar(mCPC). Estos agares se incuban durante 18-24 horas, el TCBS a 35-37°C y el mCPC a 39-40°C.⁽¹⁴⁾.

Las colonias características de V. cholerae en agar TCBS son amarillas pequeñas y planas, y de color púrpura en el agar mCFC(14). (Anexo 4). Las colonias características deben subcultivarse en un medio no selectivo como el agar gelatina (GA) y agar gelatina con 3% de NaCl (GS), en el que se comprueba su crecimiento en presencia de NaCl o ausencia de la misma, obteniéndose así cultivos puros para llevar a cabo las pruebas bioquímicas y serológicas(13,14). La prueba de aglutinación con antisueros específicos para determinar serotipos y biotipos de Vibrio cholerae no se debe realizar a partir de colonias presuntivas de éste en agar TCBS, por ser difíciles de despegar del agar, y no da una aglutinación clara por lo que se recomienda hacer esta prueba a partir del crecimiento en medios no selectivos^(14,19).

A partir del crecimiento en GS se aglutina las colonias con el antisuero polivalente anti V. cholerae O1 frente a un control con solución salina; si se considera conveniente se aglutina con el antisuero anti- V. cholerae O139. Después de la aglutinación deben llevarse a cabo las pruebas de oxidasa y cordón(14). Las cepas que no aglutinan en el suero polivalente, pero que se comportan bioquímicamente como el bacilo del cólera, se clasifican como Vibrio cholerae no O1⁽¹⁹⁾. Si se observa aglutinación en solución salina, la cepa estudiada debe sembrarse en un medio no selectivo para Vibrio cholerae (p.e. agar sangre), ya que puede deberse a que se está trabajando con una cepa rugosa(15,20).

Después de identificar la cepa como V. cholerae O1 por medio

del antisuero polivalente, se deben realizar aglutinaciones para determinar el serotipo; utilizando antisueros Ogawa e Inaba y pruebas bioquímicas para establecer el biotipo⁽¹⁴⁾.

A las cepas aisladas de V. cholerae O1 de muestras ambientales (agua, alimentos) se les establece la presencia de toxina colérica. Existen diversos test para establecer esta toxina tales como el test de toxina por PCR, test de detección inmunológica enzimática (EIA), inmunoblot, prueba directa de anticuerpos fluorescentes para muestras de agua para V. cholerae O1 y prueba de anticuerpos fluorescentes después del enriquecimiento en APA de alimentos y agua^(23, 37, 47, 48).

2. Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus

La determinación de V. parahaemolyticus y V. vulnificus de alimentos se realiza cuantificando el número presente de estos organismos. Se prepara asépticamente una dilución de 1:10 a partir de 50 gramos del alimento en 450 ml de agua peptonada alcalina al 2% de NaCl y a partir de ésta se preparan diluciones decimales (1:100 en adelante). Una de las técnicas recomendadas es su cuantificación por medio de la técnica del Número Más Probable (NMP), utilizando para esta prueba el caldo de agua peptonada alcalina con 2% de NaCl⁽¹⁴⁾.

De las diluciones recién preparadas se agregan porciones de 1 ml de cada una a juegos de tres tubos con 10 ml de APA 2% de NaCl. Todos los tubos se incuban a 35-37°C por 16-18 horas. Todos los tubos positivos a crecimiento, el cual se evidencia por turbidez,

se siembran de la parte superior del caldo a medios selectivos como el agar TCBS para V. parahaemolyticus y agar mCPC para V. vulnificus. V. parahaemolyticus origina colonias sucrosa negativas sospechosas a partir de TCBS. Estas colonias se subcultivan en agar GA y GS para observar a las 24 horas crecimiento únicamente en el agar que contiene sal (GS). Después de esto debe continuarse con la prueba de oxidasa y la identificación bioquímica (anexo 5) ^(14,37).

Para aislar V. vulnificus se selecciona colonias características celobiosa positivas de mCPC, a partir de éstas se siembran en placas de GA y GS para continuar con la prueba de oxidasa y pruebas bioquímicas (anexo 5).

Entre otras pruebas para la identificación y diferenciación entre V. parahaemolyticus y V. vulnificus están: sensibilidad al compuesto vibriostático O/129, pruebas de tolerancia a la sal, crecimiento a 42°C, descarboxilación lisina y ornitina, hidrolasa y arginasa y prueba de ONPG (anexo 5 y 6) (14,49).

IV. JUSTIFICACION

Las bacterias del género Vibrio se desarrollan bien en ambientes acuáticos salinos por lo que pueden estar formando parte del ecosistema de las aguas costeras de nuestro país y contaminar las especies marinas que habitan estas aguas.

Los camarones para el consumo local, son en su mayoría capturados por pescadores artesanales en las costas del Pacífico. Las condiciones de manipulación, almacenamiento y transporte del camarón de exportación difieren del que se consume localmente, ya que el primero debe cumplir con requisitos sanitarios internacionales y su exportación involucra intereses económicos para el sector camaronero del país, lo cual es totalmente diferente en el mercado local, en donde no existe ningún tipo de vigilancia sanitaria para controlar si este producto, esta sujeto a una mayor contaminación microbiana, representando así un peligro para la salud de quien lo consume.

Los camarones, como otros alimentos marinos, pueden contaminarse con especies de vibrios patógenos y servir de vehículos en la transmisión de enfermedades al ser inadecuadamente preparados y manipulados causando enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Vibrio cholerae O1 toxigénico, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus, son las especies patógenas del género Vibrio que más se asocian con enfermedades transmitidas por alimentos, y de los cuales no se tiene información publicada en el ámbito nacional de la prevalencia de estos vibrios. Es por ello, que se

investigo su presencia en camarones de consumo local, y así poder informar de su importancia para la epidemiología de estas infecciones en el país.

MINISTERIO DE SALUD
SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA

COMITÉ DE MATERIA I

V. OBJETIVOS

1. Determinar, en camarones de consumo local, la prevalencia y grado de contaminación de especies patógenas de Vibrio relacionadas con enfermedades transmitidas por alimentos: Vibrio cholerae O1, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus.
2. Determinar cuál de las tres especies de Vibrios, Vibrio cholerae O1, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus, se encuentra con mayor frecuencia en las muestras de camarones analizadas.

VI. HIPOTESIS

Las especies patógenas del género Vibrio: Vibrio cholerae O1 toxigénico, Vibrio parahaemolyticus y Vibrio vulnificus se aíslan de los camarones capturados en las costas del pacífico de Guatemala.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO

Para la determinación de Vibrios patógenos en camarones se tomaron 50 muestras de camarones capturados en las costas de Pacífico de Guatemala destinados al mercado local.

Se dividieron la toma de muestras en los centros de acopio más grandes de los cuatro lugares con importancia en la captura de camarones a lo largo de las costas del pacífico de Guatemala, siendo estos lugares:

- a. Puerto de Champerico (14 muestras)
- b. Sipacate (8 muestras)
- c. Puerto de San José y (8 muestras)
- d. Las Lisas. (20 muestras)

Los centros de acopio son lugares donde los pescadores artesanales venden los camarones capturados.

B. RECURSOS

1. HUMANOS

- a. Br. Mónica O. Alvarado Pernillo (Tesisista)
- b. Licda. Floridalma Cano Granados (Asesora)
- c. Personal del Programa de Enfermedades Infecciosas del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP).

2. INSTITUCIONALES

Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá
INCAP; División de Nutrición e Infección, Laboratorios Leonardo
Mata.

3. FISICOS

a. Materiales de laboratorio:

- Cajas de petri plásticas estériles de 10 X 15 mm
- papel parafinado
- Espátulas
- papel aluminio
- papel craft
- agitador magnético
- Asas bacteriológicas.
- masking tape
- servilletas de papel
- gradillas de metal
- bolsas plásticas estériles
- Palillos o aplicadores estériles
- Láminas portaobjetos
- Pinzas

b. Cristalería:

- Beaker de 50, 100, 1000 mililitros estériles.
- Erlenmeyer 100, 250 y 1000 ml.
- Probetas de 10, 250 y 1000 ml

- Pipetas pasteur
- Tubos de tapón de rosca de 13 X 100 mm.
- Tubos con tapón de rosca de 1 X 100 mm.
- Viales de vidrio de 3 ml con tapón de rosca.
- Botellas de vidrio de 100 y 500 ml con tapón de rosca.
- Frascos de boca ancha grandes con tapón de rosca.
- Pipetas serológicas estériles de 0.1, 1.0, 5.0 y 10 ml.

c. Medios de Cultivo:

- Agua peptonada alcalina al 2% de NaCl.
- Agar TCBS (Tiosulfato, Citrato, Sales Biliares, Sucrosa)
- Agar mCPC (Medio modificado de Celobiosa Polimixina) (50)
- Agar Gelatina,
- Agar Gelatina con 0.3% de NaCl.
- Agar Ornitina descarboxilasa. *
- Agar Lisina descarboxilasa.*
- Agar Arginina descarboxilasa.*
- Caldo Voges-Proskauer.*
- Agar Sucrosa.*
- Agar celobiosa*
- Agar Mueller Hinton* (50)
- Con concentración de 2% de NaCl.

d. Reactivos

- Solución salina al 0.85 % de cloruro de sodio.
- Antisuero polivalente de V. cholerae O1 (INCAP)
- Antisuero Inaba (INCAP)
- Antisuero Ogawa (INCAP)
- Reactivo de oxidasa (N,N,N,N, -tetrametil-p-pfenilendiamina)
- Solución de desoxicolato de sodio al 0.5 %
- Solución A para caldo VP - MR (alfa Naftol)
- Solución B para caldo VP - MR (Hidróxido de Potasio al 40%)
- Indicador de Rojo de Metilo
- Aceite Mineral.

e. Equipo:

- Nefelómetro de MackFarland (0.5 - 5)
- Balanza analítica AND - Electronic Balance - FX 3200
- Estufa (Fisher Scientific Thermix Stirring Hot Plate)
- Incubadora de 35 ± 37°C (Thelco 32 M)
- Refrigeradora
- Autoclave (Castle steam sterilizer)
- Vortex (Curtin Scientific Co)
- Mechero de Bunsen
- Stomacher 400/Laboratory Blender-Tekmar/Seward.
- Computadora
- Campana bacteriológica.
- Baño de María.

f. Otros:

- Cepas de V. cholerae 01 serotipos Inaba y Ogawa, Cepa de Vibrio parahaemolyticus y Cepas de V. cholerae no 01. Del cepario del laboratorio bacteriológico Leonardo Mata del INCAP. -Cepa de Vibrio vulnificus LA - 624 de Atlanta.

C. PROCEDIMIENTO

a. Obtención de las muestras:

Los camarones fueron comprados en los centros de acopio de los cuatro lugares escogidos para el presente estudio, de acuerdo con el diseño experimental (pagina 29), estos lugares son: Pto. De Champerico, Sipacate, Pto. De San José y las Lisas. Estos camarones debieron haber sido capturados tanto de mar abierto como del Canal de Chiquimulilla; y se colocaron en bolsas plásticas estériles.

La recolección de muestras en los centros de acopio se realizo al azar simple.

b. Transporte de las muestras:

Las bolsas de camarones fueron transportadas en temperaturas de refrigeración para evitar de esta forma la proliferación de microorganismos hasta el momento de ser procesados.

c. Procesamiento de las Muestras:

Las muestras fueron procesadas de preferencia 24 horas después de haber sido recolectadas, y mantenidas a temperatura de 0 - 3°C.; pero si no fueron analizadas en este tiempo, las muestras

se congelaron para ser analizadas en un período no mayor de 72 horas(14).

Las muestras congeladas se descongelaron por 12 horas a una temperatura de 0-3°C. o bien en Baño de María a una temperatura de 42 - 45°C. por 15 minutos(3,14).

i. Preparación de homogenizado y diluciones:

Se realizo un pool de trozos de camarones con 10 gramos de cada muestra. En una bolsa para el equipo Stomacher estéril se pesaron 50 gramos del pool y se les adicionaron 450 ml de agua peptonada alcalina al 2% de NaCl; luego se homogenizaron en el Stomacher por 60 segundos. A partir del homogenizado (dilución 1:10) se realizaron las diluciones 1:100 y 1:1000.

ii. Siembra de diluciones. Técnica del Número más probable:

De cada una de las anteriores diluciones se sembraron porciones de 1 ml a series de tres tubos con 10 ml de agua peptonada alcalina al 2% de NaCl. Todos los tubos se incubaron por 48 horas a 37°C. (NMP)

- Para la determinación de V. cholerae O1 fue necesario trabajar las diluciones por duplicado, incubando los duplicados a 42°C.
- Después del período de incubación se efectuaron lecturas a las series de tubos del NMP y se tomaron como positivos los tubos con crecimiento, el que se evidencio por turbidez(14).

d. Aislamiento en agar TCBS y medio mCPC:

Todos los tubos positivos del NMP incubados a 37°C, y a 42°C. (solo para V. cholerae) fueron sembrados, tomando una asada de la superficie del caldo para la siembra de agar: Tiosulfato, Citrato, Sales Biliares, Sucrosa (TCBS) el cual se incubo por 24 horas a 37°C, y agar modificado de celobiosa polimixina (mCPC), el que se incubo a 42°C.

e. Observación y subcultivos:

Después del período de incubación se procedió a buscar las colonias características (anexo 5). V. cholerae origina colonias amarillas sucrosa positivas o colonias púrpuras celobiosa negativas en los medio de TCBS y mCPC respectivamente(3,12). V. parahaemolyticus se observo por medio de la presencia de colonias verdes (sucrosa negativas) en el agar TCBS y V. vulnificus presento colonias amarillas (celobiosa positivas) en el medio mCPC(3,13,14).

f. Identificación de las especies de Vibrio:

Las colonias características de los tres organismos buscados tanto en TCBS como en mCPC fueron sembrados en los medios de cultivo de agar gelatina (GA) y agar gelatina con 3% de NaCl (GS) con el propósito de observar si la bacteria necesita de concentraciones de NaCl para crecer. Si se observo crecimiento de las colonias sacarosa positivas y celobiosa negativas en ambos medios sé siguió la marcha para V. cholerae. Las colonias de V. parahaemolyticus (sacarosa negativas en TCBS) y V. vulnificus

(celobiosa positivas en mCPC) crecieron sólo en el medio con NaCl.

A partir del crecimiento en agar GS se llevo a cabo las pruebas de oxidasa y prueba del cordón. Si ambas fueron positivas se procedió a realizar la aglutinación con el antisuero polivalente de V. cholerae O1 con un control en solución salina(3). Si la colonia era rugosa, aglutina en solución salina, y se debió realizarse varios pasajes en un medio no selectivo como el Mueller-Hinton, y después se procedió a la aglutinación. Si la colonia no aglutino con el suero polivalente, era un V. cholerae no O1. Si aglutino es un V. cholerae O1, completándose con otras pruebas bioquímicas para su confirmación y a su aglutinación con los sueros monovalentes de Vibrio cholerae O1 Inaba y Ogawa(14,21).

A las cepas confirmadas como Vibrio cholerae O1, se les realizo la determinación de toxina colérica por el método de PCR^(37,51,52).

Las colonias grandes sacarosa negativas (color verde) que fueron subcultivadas de agar TCBS y que crecen solo en agar gelatina con NaCl se les realizo pruebas de oxidasa, cordón y se sembraron en medios de descarboxilación ornitina, lisina, y arginina, caldo MP-VP (Rojo de metilo-Voges-Proskauer) medios de fermentación de celobiosa y sacarosa, y pruebas de halofilismo en concentraciones de: 0% 3% y 8% de NaCl y el test de ONPG. (Anexo 5)^(53,54).

A las colonias amarillas en el medio de mCPC que son celobiosa positivas, y que crecen en agar gelatina con NaCl se les

realizó las pruebas de oxidasa, cordón y el resto de pruebas bioquímicas. Pruebas descritas anteriormente para Vibrio parahaemolyticus. (Anexo 5)(14).

D. DISEÑO DE INVESTIGACION

En el presente estudio se realizó un diseño estratificado por conveniencia, ya que se evaluó diferentes estratos o lugares aislados los cuales fueron: Puerto de San José, Sipacate, Las lisas y Puerto de Champerico.

El número de centros de acopio con más afluencia de pescadores en cada lugar visitado fue: Puerto de San José 2, Sipacate 2, Las Lisas 5 y Puerto de Champerico 6. La unidad muestral fue de 1 libra.

La recolección de muestras en los centros de acopio fue realizará al azar simple.

Cálculo de la Muestra:

1. Probabilidad de + (sí) = $p = 0.5 \sigma^2$ = pq
Probabilidad de - (no) = $q = 0.5 \sigma^2$ = 0.25

2. Nivel de confianza: 95%
($\alpha = 0.05$) = $Z = 1.96$

3. Límite de error (Δ) 15% = 0.15

$$n = \frac{Nc^2 \sigma^2}{\Delta^2}$$

$$a) n = \frac{(1.96) (0.25)}{(0.15)} = 48$$

El número de muestras fue distribuido de la siguiente forma:

1. Puerto de San José: 8 muestras
2. Sipacate: 8 muestras
3. Champerico: 14 muestras
4. Las Lisas: 20 muestras

VIII. RESULTADOS

Las cincuenta muestras de camarón analizadas para la búsqueda de la presencia de *Vibrios* patógenos fueron recolectadas en 15 centros de acopio, con base en el diseño experimental estratificado por conveniencia. La distribución de los centros de acopio fue de la siguiente forma: dos en el Puerto de San José, dos en Sipacate, seis en el Puerto de Champerico, y cinco en las Lisas recolectando diferente número de muestras en cada uno. (Ver anexo 6 tabla número 1). Las muestras fueron trabajadas en "pooles" los que se prepararon mezclando 5 muestras de camarones del mismo centro de acopio, los camarones fueron cortados en trocitos y mezclados dentro de una bolsa estéril. Para el análisis se pesaron 50 gramos de cada "pool" para hacer la dilución inicial de 10^{-1} con 450 mililitros de agua peptonada alcalina con 2% de NaCl.

El método de utilizado fue la cuantificación de los *Vibrios* por la técnica del Número Más Probable sembrando las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . (14)

De las 50 muestras de camarones analizadas se encontró presente de mayor a menor frecuencia, *V. Cholerae* no O1 en 30 muestras, 60% del total de aislamientos y en concentraciones mayores a 1,100 NMP/g. , *V. parahaemolyticus* se aislo en 22 muestras equivalente a un 44%, en concentraciones de 1,100 y >1,100 NMP/g. , *V. cholerae* O1 fue encontrado en 3 muestras (6%), provenientes del puerto de San José y champerico en concentraciones de 7 y 11 NMP/g. A estas cepas se les realizó la

prueba para verificar la producción de toxina colérica por medio de la técnica de PCR, (52) dando resultados negativos, por lo que las cepas de V. cholerae O1 aisladas son no toxigénicas.

V. vulnificus se aisló únicamente en 2 muestras (4%) y en bajas concentraciones (7 y 11 NMP/g). En la tabla 3 (anexo 6) se encuentran los resultados de los aislamientos y concentraciones de los Vibrios investigados.

Para el aislamiento de V. cholerae se utilizó el agar Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sucrosa (TCBS) y el agar modificado de Celobiosa Polimixina (mCPC) como lo recomienda la metodología descrita por la FDA (Food-Drog-Administration) (14). Los aislamientos de V. cholerae O1 fueron obtenidos únicamente del agar mCPC el que contiene antibióticos que inhiben el crecimiento de otros Vibrios, permitiendo a V. cholerae O1 y V. vulnificus su crecimiento. Los Vibrios aislados se encontraron en la mayoría de los centros de acopio, V. parahaemolyticus en San José, Las Lisas, Sipacate y Champerico, V. cholerae O1 no toxigénico en San José y Champerico, V. vulnificus en San José y Sipacate y V. cholerae no O1 en San José, Las Lisas, Sipacate y Champerico. (ver tabla3 Anexo 6)

IX. DISCUSION DE RESULTADOS:

De las cincuenta unidades experimentales V. cholerae 01 no toxigénico se aisló en tres de las muestras de camarón (6%) dos de las cuales fueron obtenidas en el puerto de San José y una en el puerto de Champerico. En tres cepas de V. cholera 01 aisladas se demostró que no son toxigénicas, por lo tanto las cepas aisladas de V. cholerae 01 no son productoras de toxina colérica.

Se encontró con frecuencia y en concentraciones altas la presencia de V. cholerae no 01, la frecuencia y concentración en la que se encuentra en la mayoría de las muestras de camarones interfiere en el aislamiento de V. cholerae 01, puesto que ambos tienen similares características coloniales en el agar TCBS. A pesar de que se picaron entre 3 a 4 colonias sacarosa positivas en cada placa de agar TCBS sembrado por cada dilución no fue posible encontrar la presencia de V. cholerae 01. Las tres cepas encontradas de V. cholerae 01 fueron aisladas del agar mCPC. Este agar contiene antibioticos que inhiben el crecimiento de V. cholerae no 01 y otros Vibrios, excepto V. cholerae 01 biotipo El Tor que es causante de la séptima pandemia, y V. vulnificus, lo que facilita la separación de las colonias de V. cholerae 01 de las no 01.

V. parahaemolyticus se aisló en el 44% de las muestras de todos los centros de acopio investigados, y de las especies encontradas causantes de Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) fue el de mayor aislamiento. Esto significa que V. parahaemolyticus es un agente común de los camarones de consumo

local, y constituye un peligro potencial de contaminación. Es importante mencionar que no todas las cepas de V. parahaemolyticus son capaces de producir toxina, y que la patogenicidad de este agente esta ligada con la capacidad de la cepa de producir toxina, encontrandose en el alimento en una concentración de 1×10^7 células/g. La toxina es una hemolisina directa termoestable (TDH), la cual se puede determinar por medio del test de Kanagawa que consiste en la siembra de la cepa en un agar especial llamado Wagatsuma, el cual contiene eritrocitos frescos humanos o de conejo; las cepas positivas forman un halo de hemólisis beta (32), o bien la producción de toxina TDH puede confirmarse por métodos de biología molecular (33). En el presente estudio no fue posible demostrar en las cepas de V. parahaemolyticus aisladas la presencia de la toxina TDH por no contar con el agar Wagatsuma, ni tener la facilidad de probarlo por métodos de biología molecular.

V. vulnificus fue encontrado en 2 muestras de camarones proveniente de los puertos de San José y Sipacate, llegando a representar un 4% de los aislamientos. A estas cepas hay que evaluar su patogenicidad por medio del método de la biovaloración de ratón cargado de hierro(14,35,44). Esta prueba no fue posible realizarla.

V. cholerae no O1, fue siempre encontrado en concentraciones altas en muestras de camarones provenientes de todos los centros de acopio estudiados, aislandose en 30 muestras, lo que equivale al 60%. Este Vibrio comúnmente vive en agua de mar y en ocasiones se encuentra contaminando animales de origen marino; puede causar

en casos esporádicos gastroenteritis de uno a tres días de evolución. Estas cepas patógenas están asociadas con la producción de una toxina llamada CT O NAG-ST, que en algunos casos pueden llegar a producir después de la diarrea una septicemia desconociéndose los mecanismos de patogenicidad (52).

Para la cuantificación de los Vibrios fue utilizada la técnica del Número Más Probable, utilizando como caldo agua peptonada alcalina con 2% de NaCl ya que la mayoría de especies del género Vibrio requieren de la presencia de Cloruro de sodio para crecer.

Se sembraron en la técnica del número más probable diluciones del alimento de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , obteniéndose como resultado en la mayoría de diluciones concentraciones altas de Vibrios según la tabla del NMP. Por ser alimentos marinos crudos se debió trabajar con diluciones más altas para poder obtener datos de cuantificación más precisos. Sin embargo podemos concluir que si V. parahaemolyticus estaba presente en concentraciones mayores de 1,100 NMP/g existe la probabilidad de encontrarse en concentraciones que representen un riesgo de producción de toxina.

La dosis infectiva de V. cholerae O1 para el biotipo El Tor es de 1×10^6 y de 1×10^9 para el biotipo Clásico, y para V. parahaemolyticus es de 1×10^7 .

Las diluciones realizadas fueron sembradas en agar Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sucrosa (TCBS), para determinar la presencia de V. cholerae O1, V. parahaemolyticus y V. cholerae no O1. Para el aislamiento de V. vulnificus fue utilizado el agar modificado de Celobiosa Polimixina agar (mCPC), V. cholerae en el

agar TCBS presenta colonias amarillas, y V. parahaemolyticus colonias verdes; el aislamiento de V. cholerae O1 en éste medio de cultivo es muy complejo, ya que otras especies de Vibrios también presentan similares características coloniales.

Las tres cepas de V. cholerae O1 fueron aisladas unicamente del agar mCPC y no fueron aisladas del agar TCBS. Esto puede deberse a que el agar mCPC tiene la capacidad de distinguir solamente las colonias características de V. cholerae O1 y del V. vulnificus, el medio de cultivo mCPC posee antibióticos que inhiben el crecimiento de otros Vibrios.

A todas las cepas con características de V. cholerae O1, V. parahaemolyticus, y V. vulnificus se les identifico realizando marchas bioquímicas para asegurar la presencia de estas clases de Vibrios en los camarones. Entre las pruebas bioquímicas que se les realizaron están: Hidrólisis de la gelatina, crecimiento a diferentes concentraciones de NaCl, pruebas de aminoácidos, pruebas de azúcares, caldo Voges-Proskauer etc.

En los centros de acopio se pudo observar que las condiciones higiénicas necesitan mejorarse, la mayoría de estos establecimientos poseen pocas hieleras, las que no son suficientes para almacenar grandes cantidades de camarones, esto hace que el producto permanezca a una temperatura no optima para retardar el crecimiento microbiano. Se pudo observar que en ocasiones se encontraban los camarones en recipientes sucios y en contacto con otro tipo de mariscos o pescado, arena y tierra.

La temperatura ideal de almacenamiento, transporte y

distribución de los camarones es de 0° a 3°C, si se aumenta la temperatura se aumenta la actividad microbiana y cuando los camarones llegan al mercado local y al consumidor final, estos poseen una alta carga microbiana, lo que representa una fuente de contaminación para el consumidor (3,13).

X. CONCLUSIONES

1. Fueron obtenidas tres cepas de Vibrio cholerae O1 No toxigénico de las 50 muestras de camarón analizadas, lo que puede no descartar la posibilidad de la presencia de esta bacteria en los camarones y el contagio del Cólera por medio del consumo en condiciones no adecuadas de éste alimento.
2. Vibrio parahaemolyticus se aisló en un 44%, lo que equivale a 22 cepas encontradas, y en concentraciones de 1,100 y mayores de 1,100 NMP/gr. siendo el Vibrio con mayor número de aislamientos en las muestras analizadas teniendo la capacidad de ocasionar en el hombre enfermedades gastrointestinal dependiendo de la concentración de Vibrio ingerida, y de la toxicidad de la cepa.
3. Se aisló Vibrio vulnificus en dos de las 50 muestras de camarones analizados, representando un 4% del total de vibrios encontrados.
4. En 30 muestras de camarón de las 50 analizadas fue encontrada la presencia de Vibrio cholerae No O1 representando el 60% del total de aislamientos.
5. Del agar primario de aislamiento agar modificado celobiosa polimixina fue fácilmente encontrada la presencia de Vibrio cholerae O1, ya que este medio de cultivo contiene antibióticos que impiden el crecimiento de Vibrios con excepción de V. cholerae O1 y V. vulnificus, ayudando a diferenciar esta característica las cepas de V. cholerae No O1 que no tiene la capacidad de crecer en este medio de

cultivo, y que en el agar TCBS son fácilmente confundidas.

XI. RECOMENDACIONES

Los alimentos marinos especialmente los que puedan consumirse crudos o mal cocinados como por ejemplo el camarón que es el que se consume frecuentemente como seviche, deben antes de ser ingeridos de tener algún método de cocción para eliminar los Vibrio presentes, y que pueden provocar en el hombre enfermedades transmitidas por alimentos:

Se debe realizar un control estricto en la contaminación cruzada en los camarones destinados para el consumo local por parte de las instituciones a cargo, ya que en los camarones se aumenta su carga microbiana por las malas condiciones de transporte; al mismo tiempo debe realizarse un programa de vigilancia ambiental ya que especies patógenas de Vibrio como V. parahaemolyticus puede ser el causante de enfermedades gastrointestinales de etiología desconocida, como también V. vulnificus causante de lesiones cutáneas en pescadores y personas que manipulan camarones que no puede demostrarse la procedencia de la enfermedad, esto ayudará a la búsqueda de estas especies de Vibrio patógenos en las personas enfermas contribuyendo a su diagnóstico y tratamiento.

Deben realizarse campañas de salud por parte de las instituciones responsables donde se dé a conocer los Vibrios patógenos que pueden estar contenidos en los camarones y como deben ser adecuadamente ingeridos, principalmente evitando que los mismos sean consumidos crudos.

Para el mejor aislamiento de V. cholerae O1 deben utilizarse

más de dos medios de cultivo que puedan evidenciar rápidamente la presencia de este microorganismo, por ejemplo se deben utilizar el medio de TCBS, y al mismo tiempo el medio de mCPC, el cual por contener antibióticos inhibe el crecimiento de otras especies de Vibrios, especialmente V. cholerae no O1 que es fácilmente confundido con V. cholerae O1.

Deben realizarse programas de educación para todas las personas que manipulan camarones en Buenas Prácticas de Manufactura para el adecuado manejo en la pesca, almacenamiento y venta destinada para el consumo local, insistiendo en el correcto almacenamiento, distribución, y en el manejo higiénico.

XII. REFERENCIAS

1. OPS/OMS. Riesgos de transmisión del cólera por los alimentos. Washington: OPS/OMS, Doc. No. 704. 1991. pg. 55. (p.34-36)
2. James B, Kaper J, Glenn M. Clinical Microbiology. USA: American Society for Microbiology, Vols. 8, Col. 1, 1995. 86p. (p.47-51)
3. Davis B. Microbiology. USA: Harper international, 1992 181p. (p.120-123)
4. Bertullo VH. Tecnología de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos. Buenos Aires, Argentina: Hemisferios sur, 1985. 538p. (p.124, 234-248)
5. OPS, ONVA Código internacional recomendado de prácticas para los camarones, 2 ed. Roma: FAO Codex alimentarios, Doc. Tec. No.3, 1984. 489p. (p.342-261)
6. Vasquez M. Manual práctico del cultivo del camarón en Honduras, Ciclo biológico del camaron blanco en el golfo de fonseca. Honduras: Ediciones tegucigalpa, 1991. 45p. (p.23,28-40)
7. FAO. King The Fishery resources of pacific island countries Deep-Water Shrimps. Roma: FAO: Fisheries technical paper, 1986. 272p. (p.124-127)
8. Villagran E. Efecto de la tasa de alimentación sobre el crecimiento del camarón (*Penaeus sp.*) cultivado en estanques naturales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1989.

- 70p. (p.34-55)
9. Garcia S, Reste L. Ciclos Vitales, dinámica, explotación y ordenación de las poblaciones de camarones peneidos costeros. Roma: Organización de las Naciones unidas para la agricultura y la alimentación, 1987. 180p. (p.23-150)
 10. Gaitán L. Pruebas de mortandad en camarones del género *Penaeus* Producidas por melaza. Guatamala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1992 62p. (p.21-25)
 11. Pretto R: Manual de Cría de camarones peneidos en estanques de aguas salobres. Panamá: Dirección Nacional de Acuicultura, 1984. 65p. (p.10, 23-56)
 12. López I. Influencia de la Temperatura y la salinidad en la distribución y abundancia de postlarvas de *Penaeus* spp. en el canal de Chiquimulilla, Iztapa, Escuintla. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1986. 40p. (p.12-43)
 13. Kelly M, Hickmann F, Former J. Manual of clinical Microbiology. 5th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991. 395p. (p.145-185)
 14. Charles EA, Kaysner M, Tamplin L. Metodología de la administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para la recuperación, identificación y Enumeración, de las especies patógenas de Vibrio, incluyendo V. cholerae, V. parahaemolyticus y V. vulnificus, y otras especies de Vibrio.

- Washington D.F.: FDA, 1987. 42p. (p.1-42)
15. Giuseppe N, Vito MN. Diccionario de Bacteriología Humana. Centro de Documentacion Científica Menarini. España: Instituto de Microbiología de la Universidad de Catania, 1990 260p. (p.210-214)
 16. Varma PR, Iyer TS. Studies on the incidence of Vibrio cholerae in fishery products. Journal of food protection, 1989; 26:341-342
 17. Karl C, Klontz RV, Tauxe WL. Cholera after the consumption of Raw Oysters. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, 1987. 848p. (p.677-682)
 18. Wong L, Yu. Occurrence of Vibrios in Frozen Seafoods and survival of psychrotrophic Vibrio cholerae in Broth and Shrimp homogenate at low temperatures. Journal of food Protection. 1995; 58:263-267
 19. Mata L. El Cólera historia, prevención y control. Costa Rica: Universidad estatal a distancia de Costa Rica, 1991. 117p. (p.23, 43-78)
 20. Klontz K, Williams L, Baldy L. Raw Oyster-Associated Vibrio infections: Linking Epidemiologic Data with Laboratory Testing of Oysters Obtained from a Retail Outlet. Journal of Food Protection 1993; 56:977-979
 21. Wong H, Shieh W, Lee Y. Toxigenic characterization of Vibrios isolated from foods available in taiwan. Journal of Food Protection 1993; 56:980-982.

22. Riveron R. Colera Shigelosis y Rotavirus. Ciudad de La Habana Cuba: Ciencias Médicas ministerio de Salud Pública, 1992. 46p. (p.4-16)
23. Glass R. Effects of undernutrition on infection with Vibrio cholerae O1 and one response to oral cholera vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* 1989; 8:105-109.
24. Timothy J, Barrett P, Blake G. Use of Moore Swabs for Isolating Vibrio cholerae from Sewage. *Journal of Clinical Microbiology* 1980; 2:385-388.
25. Motes M, De paola A, Ginkel S. Occurrence of toxigenic Vibrio cholerae O1 in Oysters in Mobile Bay, Alabama: An Ecological Investigation. *Journal of Food Protection* 1994. 57:75-980.
26. Spira W, Ahmed Q. Gauze Filtration and Enrichment Procedures for Recovery of Vibrio cholerae from Contaminated waters. *Applied and Environmental Microbiology* 1981; 42:730-733.
27. Avendaño C. Efecto del agua de riego y del transporte en la contaminación de vegetales con Vibrio cholerae O1. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) INCAP 1994. 72p. (p.45-56)
28. Mccarthy S, Miller A. Effect of three Biocides on Latin American and Gulf Coast Strains of Toxigenic Vibrio cholerae O1. *Journal of Food Protection* 1994; 57:865-869.
29. Quan S. Uso de la radiacion solar para la desinfección de

- agua cobntaminada con el agente causal del cólera.
Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación,
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1994. 64p. (p.44-
60)
30. Boletín Epidemiológico Año II, No.12. Ministerio de Salud
Pública y Asistencia Social. Departamento de Vigilancia
Epidemiológica, Centro de Información y Vigilancia del
Cólera.1996
 31. Balows A, Hausler W, Herrmann K. Manual Of Clinical
Microbiology. 5 ed. Washington D.C.: ASM, 1991. 1317p.
(p.1245, 1255-1260)
 32. Pai A, Blake R, Hollis D. Diseases of humans (other than
cholera) caused by vibrios. Washington D.F.: American
Society for Microbiology, 1980. 367p. (p.233-254)
 33. Persing D. Diagnostic Molecular Microbiology Principles and
Applications. Washington D.C.: American society for
Microbiology Washington D.C., 1993. 270p. (p.138, 189-221)
 34. Woxg H, Chen L. Survival of psychrotrophic Vibrio mimicus,
Vibrio fluvialis and Vibrio parahaemolyticus in Culture
broth at low temperatures. Journal of Food Protection 1994;
57:607-610.
 35. Stelma G, Reyes k, Peeler J. Virulence characteristics of
clinical and Environmental isolates of Vibrio vulnificus.
Applied and Environmental Microbiology 1992; 58:2776-2782.
 36. Murphy S, Oliver J. Effects of temperature abuse on
Survival of Vibrio vulnificus in Oysters. Applied and

- Environmental Microbiology 1992; 58:2771-1775.
37. Matte G, Matte M, Rivera I. Distribution of potentially pathogenic Vibrios in oysters from a tropical region. Journal of Food Protection 1994; 57:870-873.
 38. Mark L, Tamplin M, Gesa M. Persistence of Vibrio vulnificus in Tissues of Gulf Coast Oysters, *Crassostrea virginica*, Exposed to Seawater Disinfected with UV Light. Applied and Environmental Microbiology 1992; 58:1506-1510.
 39. Sun Y, Oliver JD. Effects of GRAS compounds on Natural Vibrio vulnificus populations in Oysters. Journal of Food Protection 1994; 57:921-923.
 40. Parker R, Maurer E, Childers A. Effect of Frozen storage and Vacuum-Packaging on Survival of Vibrio vulnificus in Gulf Coast Oysters (*Crassostrea virginica*). Journal of Food Protection 1994; 57:604-606.
 41. Sunl Y, Oliver J. Hot Sauce: No elimination of Vibrio vulnificus in Oysters. International association of Milk, food and environmental sanitarians 1995; 58:441-442.
 42. James D, Oliver K, Guthrie J. Use of Colistin-Polymyxin B-Cellobiose Agar for Isolation of Vibrio vulnificus from the Environment. Applied and Environmental Microbiology 1992; 58:737-739.
 43. Sun Y, Oliver J. Value of Cellobiose-Polymyxin B-Colistin Agar for isolation of Vibrio vulnificus from Oystedrs. International association of Milk, food and Environmental sanitarians 1995; 58:439-440.

44. Chen C, Chang T. An Enzyme-Linked Immunosorbent assay for the rapid detection of vibrio parahaemolyticus. Journal of food protection 1995; 58:873-878.
45. Vanderzant C, Splittstoesser D. Compendium of Methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington D.C.: American Public Health association, 1992. 1219p. (p.1034, 1123-1134)
46. Anderson M. Microbiología Alimentaria. México D.F.: Metodología analítica para alimentos y bebidas, 1991. 245p. (p.98, 176-187)
47. Rose N, Friedman H, Fahey J. Manual of Clinica Laboratory Immunology. 3 ed. Washington, D.C.: Ammerican Society for Microbiology, 1986. 369p. (p.276-298)
48. Sengupta D, Sengupta T, Ghose A. Major Outer Membrane proteins of Vibrio cholerae and their role in induction of protective immunity through inhibition of intestinal colonization, Infection and Immunity, Washington, D.C.: American society for Microbiology, 1992. 4855p. (p. 3267-3281)
49. Miceli G, Watkins W, Rippey S. Direct Plating procedure for Enumerating Vibrio vulnificus in Oysters (Crossostrea virginica). Appliaed and Environmental Microbiology 1993: 59:35129-3524.
50. Power D, McCuen P. Manual of BBl products and laboratory procedures. 6 ed. Estados Unidos: Becton-Dickinson Microbiology Systems, 1988. 256p. (p.144-152)

51. Morales V. Levantamiento larvario de Camarones peneidos.
Panama: Pradepesca, 1993. 44p. (p.6, 10-39)
52. Wachsmuth I, Blake P, Olsvik O. Vibrio cholerae and
Cholera, Molecular to global perspectives. Washington,
D.C.: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data,
1994. 464.
(p.231, 337-356)
53. Gini G. Manual de procedimientos para la identificación de
las bacterias con importancia clínica. Guatemala:
Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacia, 1993. 124p. p.(98)
54. Macfaddin J. Media for Isolation-Cultivation-
Identification-Maintenance of medical bacteria. Estados
Unidos de América: Williams y Wilkins, 1987. 928p. (p.556-
591)

ANEXO 1

ESPECIES DE VIBRIOS PATOGENOS PARA EL HOMBRE (19)

ESPECIES	SINTOMATOLOGIA PREDOMINANTE
PATOGENOS	
<ul style="list-style-type: none">• <i>Vibrio cholerae</i> 01 y 0139• <i>Vibrio parahaemolyticus</i>• <i>Vibrio vulnificus</i>	<p><i>Enfermedad del cólera.</i></p> <p><i>Gastroenteritis.</i></p> <p><i>Septicemia, a veces diarrea y heridas en Extremidades.</i></p>
OPORTUNISTAS	
<ul style="list-style-type: none">• <i>Vibrio cholerae</i> No 01 y No 139• <i>Vibrio fluvialis</i>• <i>Vibrio hollisae</i>• <i>Vibrio mimicus</i>• <i>Vibrio metschnikovii</i>• <i>Vibrio alginolyticus</i>• <i>Vibrio damsela</i>• <i>Vibrio cincinnatiensis</i>	<p><i>Puede causar diarrea, fiebre y septicemia</i></p> <p><i>Diarrea fiebre y dolor.</i></p> <p><i>Diarrea y septicemia ocasional.</i></p> <p><i>Diarrea ocasional.</i></p> <p><i>Rara vez diarrea.</i></p> <p><i>Lesiones extraintestinales.</i></p> <p><i>Infecciones en heridas traumáticas, en ojos y oídos.</i></p> <p><i>Septicemia.</i></p>

ANEXO 2

DIFERENCIACION DE LOS SEROTIPOS DE *Vibrio Cholerae* 01 (19).

Serotipo	Antígenos somáticos Presentes	Aglutinación Anti-Inaba.	Aglutinación Anti-ogawa
• Inaba	A,C	+	-
• Ogawa	A,B	-	+
• Hikojwa	A,B,C.	+	+

ANEXO 3

DIFERENCIACION DE LOS BIOTIPOS Y EL TOR DE *Vibrio cholerae* 01 (13).

	Biotipo Clásico	Biotipo Eltor.
• Voges Proskauer.	-	+
• Susceptibilidad a Polimixina B	+	-
• Hemólisis de Eritrocitos (Sangre de Carnero).	-	+
• Hemólisis de Eritrocitos De pollo.	-	+
• Lisis de Bacteriofagos Clásico IV Eltor. S FK	+ - +	- + -

ANEXO 4

CARACTERISTICAS COLONIALES DE Vibrios (14) EN AGAR TCBS Y mCPC

ESPECIE	AGAR TCBS	MEDIO mCPC
• <u>Vibrio cholerae.</u>	Colonias lisas amarillas (positivas para la fermentación de la sucrosa), ligeramente achatadas, con el centro opaco.	Colonias de color púrpura (negativas para la fermentación de la celobiosa).
• <u>Vibrio parahaemolyticus</u>	Colonias redondas de 2 o 3 mm de diámetro, color verde o verde azulado.	Rara vez crece en este medio, produciendo colonias moradas y abultadas.
• <u>Vibrio vulnificus.</u>	Colonias redondas de 2 o 3 mm de diámetro, color verde o verde azulado.	Colonias achatadas amarillas (por el ácido producido por la fermentación de la celobiosa). Tienen el centro opaco y los bordes traslúcidos.

ANEXO 5

PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA DIFERENCIACION DE *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. (14).

	<i>V. alginolyticus</i> .	<i>V. anguillarum</i> .	<i>V. carchariae</i> .	<i>V. cholerae</i> .	<i>V. cincinnatiensis</i> .	<i>V. damsela</i> .	<i>V. fluvialis</i> .	<i>V. furnissii</i> .	<i>V. Harveyi</i> .	<i>V. hollisae</i> .	<i>V. metschnikovii</i> .	<i>V. mimicus</i> .	<i>V. parahaemolyticus</i> .	<i>V. vulnificus</i> .
Agar TCBS.	Y	Y	Y	Y	Y	G	Y	Y	Y/G	NG	Y	G	G	G
Agar mCPC.	NG.	NG.	Nd.	P	Nd.	NG.	NG	NG	Nd.	NG	NG	NG	NG	Y
• Crecimiento en:														
0% NaCl	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6% NaCl	+	+	+	-	+	V	+	+	+	+	+	-	+	+
8% NaCl	+	-	+	-	-	-	V	+	V	-	V	-	+	-
10% NaCl	+	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	+
Crecimiento a 48°C.	+	-	Nd.	+	-	-	V	-	V	Nd.	V	+	+	+
• Acido a partir de:														
Sucrosa	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	+	-	-	+
D-Celobiosa.	-	+	+	-	+	+	+	+	Nd.	-	-	-	V	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
ONPG	-	+	-	+	+	+	+	+	V	-	+	+	-	+
Voges-Proskauer.	+	+	-	V	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
Arginina Deshidro.	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+
Lisina Descarboxi.	+	-	+	+	+	V	-	-	+	-	+	+	+	+
Ornitina Descarboxi.	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Gelatinasa.	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+

TABLA No. 1

Número de centros de acopio y cantidad de muestras de Camarones recolectados en las costas del Pacífico de Guatemala.

CENTROS DE ACOPIO	NUMERO DE CENTROS DE ACOPIO	NUMERO DE MUESTRAS DE CAMRON RECOLECTADAS No. (%)
SAN JOSE	2	8 (16)
LISAS	5	20 (40)
SIPACATE	2	8 (16)
CHAMPERICO	6	14 (28)
TOTAL	15	50 (100)

TABLA No. 2

Número más probable (NMP/gr) por gramo de las cepas aisladas.

VIBRIOS AISLADOS

CENTROS DE ACOPIO	<i>V. cholerae 01 (Inaba)* NMP/gr.</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus NMP/gr.</i>	<i>V. vulnificus NMP/gr.</i>	<i>V. cholerae No 01 NMP/gr.</i>
SAN JOSE	11	> 1,100	7	> 1,100
LISAS	< 3**	1,100	11	> 1,100
SIPACATE	< 3**	> 1,100	< 3**	> 1,100
CHAMPERICO	7	1,100	< 3**	> 1,100

* Cepas no toxigenicas.

** <3 ausencia

TABLA No.3

Número de muestras y porcentaje de aislamiento de Vibrios en 50 muestras de Camarones recolectadas en 15 centros de Acopio de las Costas del Pacífico de Guatemala.

CENTROS DE ACOPIO	NUMERO DE MUESTRAS DE CAMARON RECOLECTADAS		VIBRIOS AISLADOS							
			<i>V. cholerae</i> 01 (Inaba)		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		<i>V. vulnificus</i>		<i>V. cholerae</i> No 01	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
SAN JOSE	8	(16)	2	(4)	3	(6)	1	(2)	6	(12)
LISAS	20	(40)	0	(0)	9	(18)	0	(0)	12	(24)
SIPACATE	8	(16)	0	(0)	5	(10)	1	(2)	5	(10)
CHAMPERICO	14	(28)	1	(2)	5	(10)	0	(0)	7	(14)
TOTAL	50	(100)	3	(6)	22	(44)	2	(4)	30	(60)

NOTA: En más de una muestra se encontró 2 o 3 tipos de Vibrios.

Br. Mónica Ofelia Alvarado Penillo
Tesista

Licda. Florida Alma Cano Granados
Asesora

Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalan
Director

Lic. Jorge Rodolfo Perez Folgar
Decano