

Monitoreo de *vibrio spp.* en ostiones *Crassostrea virginica* de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco, Veracruz, México

Monitoring of *vibrio spp.* in oysters *Crassostrea virginica* from Tamiahua and Tampamachoco lagoons, Veracruz, Mexico

Hernández-Mendoza Dulce Maripaz, San Martín-del Ángel Pablo, Jiménez-Torres Catya y Hernández-Herrera Rosa Idalia

Laboratorio de Biotecnología Ambiental Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Calle Dr. Gabriel Garzón Cossta s/n, Col. Universitaria, CP.92860. Tuxpan, Veracruz, México.

NOTA SOBRE LOS AUTORES

Dulce Maripaz Hernández-Mendoza: maripazher93@gmail.com,  <https://orcid.org/0000-0001-9420-2567>

Pablo San Martín-del Ángel: pmartin@uv.mx,  <https://orcid.org/0000-0003-3465-8495>

Catya Jiménez-Torres: biolcatya_jimenez@outlook.com,  <http://orcid.org/0000-0001-9653-5066>

Rosa Idalia Hernández-Herrera: idhernandez@uv.mx,  <https://orcid.org/0000-0002-7711-4132>

Esta investigación fue financiada con una beca de maestría 785129/607194 otorgada a Dulce Maripaz Hernández Mendoza por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Los autores no tienen ningún conflicto de interés al haber hecho esta investigación.

Remita cualquier duda sobre este artículo a Rosa Idalia Hernández-Herrera.

RESUMEN

Vibrio es un género ampliamente distribuido en ambientes estuarinos y marinos, adaptable y con rápida propagación de sus cepas. Los moluscos bivalvos son reservorios potenciales de *Vibrios*, su consumo está relacionado con el desarrollo de vibriosis leve como gastroenteritis hasta septicemia grave o la muerte. Por lo cual es importante el monitoreo continuo en las áreas de extracción y distribución para evaluar el riesgo para la salud humana derivado del consumo de moluscos y garantizar la inocuidad de estos bivalvos. En el presente estudio se determinaron las diferencias estacionales en la presencia y abundancia de *Vibrios* durante las fases de recolección (bancos ostrícolas) y post-recolección (cooperativas y restaurantes) en ostiones *Crassostrea virginica* de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco, Veracruz, México. Las muestras fueron obtenidas de trece sitios al azar durante el año 2018. El aislamiento bacteriano se realizó por el método de siembra por dilución en medio TCBS y recuento en placa de acuerdo a la NOM-031-

Recibido: 02/03/2021

Aceptado: 29/05/2021

Publicado: 01/06/2021



Copyright (c) 2021 Dulce Maripaz Hernández-Mendoza, Pablo San Martín-del Ángel, Catya Jiménez-Torres y Rosa Idalia Hernández-Herrera.

Esta obra está protegida por una licencia

[Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

SSA1-1993. El análisis estadístico indicó que no existieron diferencias espaciales significativas, no obstante, se presentaron diferencias estacionales. En esta investigación, se evidencia por primera vez, la presencia de *Vibrio* spp. en ostiones de las cooperativas de estudio. También se reporta la ausencia de este género bacteriano en los restaurantes adyacentes. En general, los resultados muestran la necesidad de aplicar medidas dirigidas a reducir la presencia de *Vibrios* durante la fase de post-recolección de ostiones, con la finalidad de disminuir el riesgo de infección por *Vibrio* spp. en los consumidores.

Palabras clave: Bacterias patógenas, ostiones, vigilancia sanitaria, inocuidad alimentaria

ABSTRACT

Vibrio is a genus widely distributed in estuarine and marine environments, with a high rate of adaptation and a rapid spread of its strains. Bivalve mollusks are potential reservoirs of *Vibrios*, their consumption is related to the development of vibriosis such as mild gastroenteritis to severe septicemia or death. Therefore, continuous monitoring in the extraction and distribution areas is important to assess the risk to human health derived from the consumption of mollusks and guarantee the safety of these bivalves. In this study, seasonal differences in the presence and abundance of *Vibrios* were determined during the harvesting phases (oyster banks) and post-harvesting (cooperatives and restaurants) in *Crassostrea virginica* oysters from Tamiahua and Tampamachoco lagoons, Veracruz, Mexico. The samples were obtained from thirteen random sites during 2018. *Vibrio* species were isolated by using TCBS agar medium and bacterial plate counting according to NOM-031-SSA1-1993. The statistical analysis indicated that there were no significant spatial differences, nonetheless, there were differences between seasons of the year. Importantly, these data are the first report by the presence of *Vibrio* spp. in oysters of Tamiahua and Tampamachoco cooperatives. The absence of this bacterial genus was also reported in adjacent restaurants. Taken together the results display the necessity to apply measures aimed to decrease the presence of *Vibrios* during the post-collection phase of oysters, in order to reduce the infection risk by *Vibrio* spp.

Keywords: pathogenic bacteria, oysters, sanitary surveillance, food safety

INTRODUCCIÓN

Vibrio es uno de los géneros bacterianos más amplio y diverso, comprende alrededor de cien especies (Gomez-Gil et al., 2014; Wietz et al., 2010), se distribuyen en ecosistemas estuarinos y marinos (Kingsley,

2014) y pueden encontrarse asociados con la proliferación de algas nocivas (Greenfield et al., 2017), así como a organismos vertebrados e invertebrados, (Ceccarelli and Colwell, 2014; Martínez-Urtaza et al., 2012) en algunos casos, estableciendo simbiosis (Martínez-Urtaza et al., 2012). Parámetros ambientales como la temperatura y la saturación de oxígeno, además de la contaminación por el impacto antropogénico se han determinado como factores esenciales que contribuyen en la presencia, cantidad y distribución geográfica de los *Vibrios* (Greenfield et al., 2017; Labbate et al., 2016; Wietz et al., 2010). El incremento en la abundancia de poblaciones de especies de *Vibrio* patógenas, entre estas *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae* y *V. vulnificus* puede provocar enfermedades en humanos, principalmente infecciones del tracto digestivo, ya sea por la ingesta de organismos contaminados o por exposición ocupacional o recreativa (Jones, 2017; West, 1989).

Estas bacterias suelen adherirse a las partículas y otros organismos en la columna de agua, facilitando su absorción por los moluscos que se alimentan por filtración, como los ostiones (Froelich and Noble, 2016). Diversos reportes indican que la concentración de *Vibrio* en ostiones puede ser hasta cien veces mayor que en el agua circundante, convirtiendo a los bivalvos en potenciales reservorios de *Vibrios* patógenos (DePaola et al., 2003; Froelich and Noble, 2016; Jones, 2017). En México la calidad sanitaria de de estos moluscos es vigilada y controlada por el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos (PMSMB), el cual se conforma interinstitucionalmente por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y la Secretaría de Marina, y es coordinado por la Secretaría de Salud a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) (Cofepris, 2009; FDA et al., 2018). En el marco del PMSMB, la guía técnica para el control sanitario de moluscos bivalvos establece los requerimientos necesarios para las áreas de cosecha, los cosechadores y los procesadores de estos moluscos, con la finalidad de salvaguardar la salud de los consumidores, garantizando la venta y distribución de moluscos bivalvos provenientes de fuentes seguras evitando su contaminación durante el cultivo, cosecha, extracción, proceso, transporte, manejo y comercialización (Cofepris, 2009).

Las lagunas costeras del estado de Veracruz representan la mayor parte de la producción ostrícola en México, aportando cerca del 50% de la producción anual, equivalente a 22 mil 45 toneladas de producto (Conapesca, 2018). Sin embargo, estudios anteriores han reportado la presencia de *Vibrios* en bancos ostrícolas del sistema lagunar de Veracruz. La presencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* fue determinada en muestras de *C. virginica* provenientes de los bancos naturales de mayor importancia económica en la laguna de Tampamachoco (Hernández-Herrera et al., 2015). *V. parahaemolyticus* tiene amplia distribución en el Golfo de México (Barrera-Escorcia et al., 2016), esta especie se ha detectado en muestras compuestas de *C. virginica* en las lagunas de Pueblo Viejo, Mandinga, La Mancha y Tamiahua (Galaviz-Villa et al., 2017; Reyes-velázquez et al., 2010), mientras que *V. alginolyticus* ha sido reportado en el sistema lagunar la Mandinga (Reyes-velázquez et al., 2010). No obstante, los estudios citados anteriormente fueron desarrollados en épocas específicas del año y en ciertos casos los datos se obtuvieron de muestras

compuestas por laguna, lo cual dificulta la evaluación de los posibles factores que pueden estar asociados con el incremento en la abundancia de estas bacterias. Con la finalidad de estimar los posibles factores que influyen en el aumento de *Vibrios* en la zona norte del sistema lagunar de Veracruz, como son: la ubicación de los bancos ostrícolas, almacenamiento de los organismos y estacionalidad del año; la presente investigación tuvo como objetivo determinar la presencia y abundancia de *Vibrio spp.* en muestras de ostiones *C. virginica* obtenidas en la fase de recolección y post-recolección provenientes de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco del estado de Veracruz, México durante el año 2018.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de los sitios de muestreo. La elección de las lagunas de estudio se realizó bajo los siguientes criterios: grado de perturbación por urbanización e industria, eutrofización, descarga directa de aguas residuales y presencia de coliformes fecales (Gutiérrez- Vivanco, 2010; Herrera-Silveira et al., 2011; Lango-Reynoso et al., 2010; Ramírez-Ayala et al., 2020).

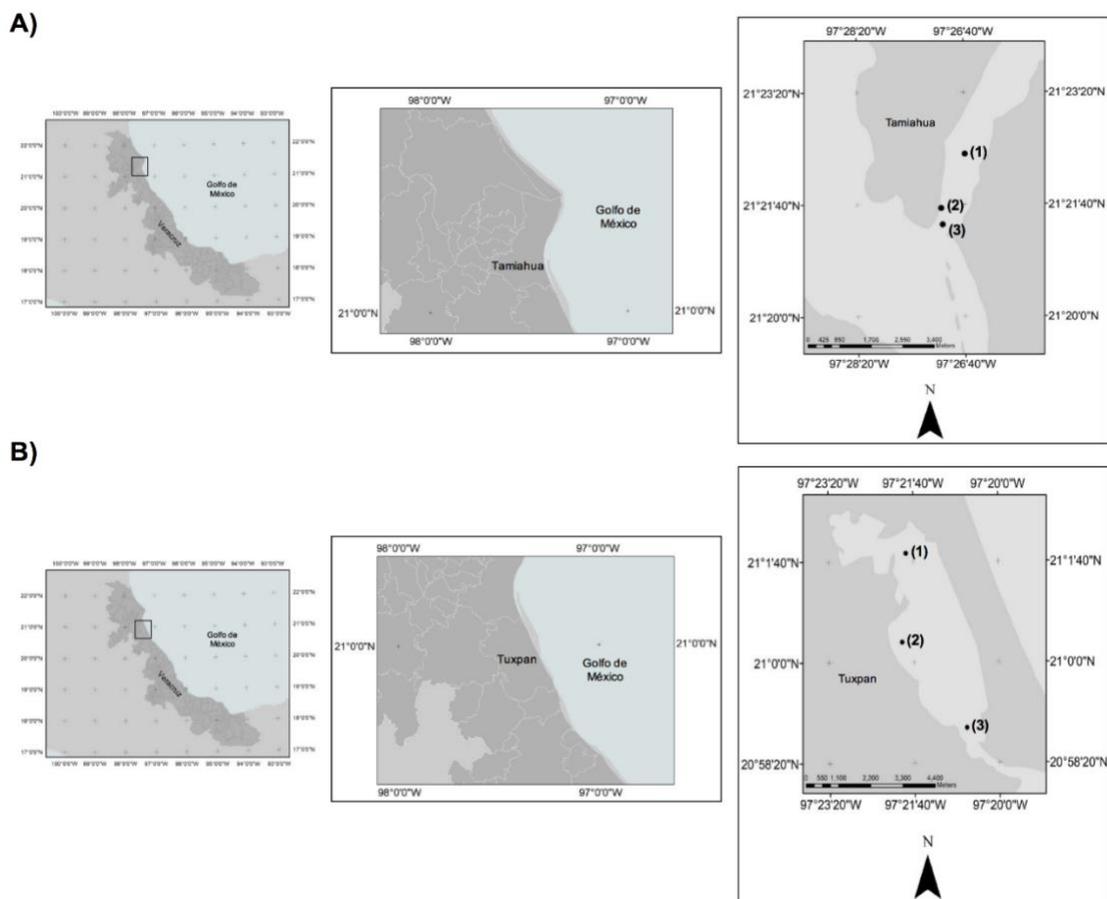


Figura 1. Ubicación geográfica de las lagunas de estudio y puntos de muestreo. A) Laguna de Tamiahua; (1) La Palma, (2) Mangles, (3) Panzacolas. B) Laguna de Tampamachoco; (1) Pipiloysa, (2) En Medio, (3) El Tubo.

La laguna de Tamiahua se encuentra ubicada geográficamente a los 21° 06' N y los 97° 23' - 97° 4'O; tiene una superficie costera de 88,000 ha con una longitud de 85 km y una anchura máxima de 18 km (Fig. 1A), mientras que la laguna de Tampamachoco se localiza a los 20° 18' N y 97° 22'- 97° 19' O y cuenta con una superficie costera de 1,500 ha, una longitud de 10.6 km y una anchura máxima de 2.7 km aproximadamente (Fig. 1B) (Vidal-Briseño et al., 2015). Se establecieron al azar un total de trece sitios de muestreo en las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco. En el **cuadro I** se indican los sitios de recolecta y post-recolecta muestreados durante las cuatro estaciones del año 2018. En la laguna de Tamiahua se muestrearon los bancos ostrícolas: La Palma, Mangles y Panzacolas (Fig. 1A); la cooperativa “Tamiahua” y 2 restaurantes (R1 y R2). En la laguna de Tampamachoco se muestrearon los bancos ostrícolas: Pipiloya, En Medio y El Tubo (Fig. 1B); la cooperativa “Del Puerto de Tuxpan” y 3 restaurantes (R3, R4 Y R5).

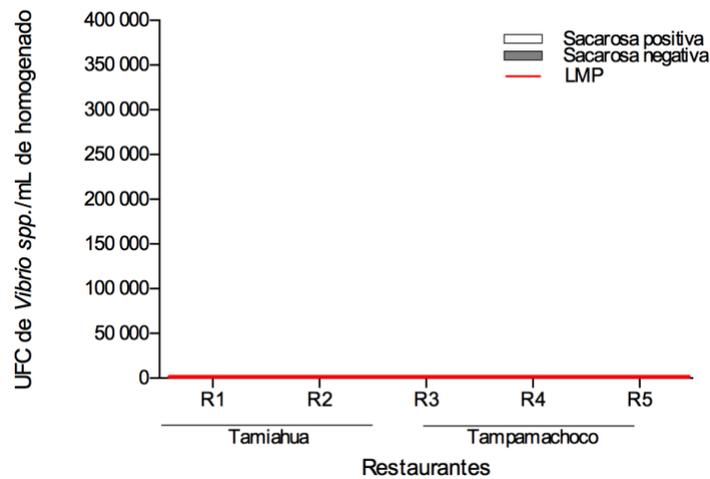


Figura suplementaria 1. Ausencia de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. en ostiones *C. virginica* obtenidos de restaurantes.

Cuadro I. Sitios de muestreo en las lagunas Tamiahua y Tampamachoco.

Laguna	Bancos ostrícolas	Cooperativa	Restaurantes
Tamiahua	La Palma, Mangles y Panzacolas	Cooperativa Tamiahua	R1 y R2
Tampamachoco	Pipiloya, En Medio y El Tubo	Cooperativa del Puerto de Tuxpan	R3, R4 y R5

Muestreo de ostiones *C. virginica* en las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco

El monitoreo se realizó durante el año 2018, incluyendo las cuatro estaciones del año; realizando un muestreo por estación. De acuerdo con la norma NOM-031-SSA1-1993 (SSA, 1993), considerando la

variación de talla y peso de los organismos, preliminarmente se estableció el tamaño de muestra de 20 ostiones por cada sitio de muestreo para obtener la cantidad de 50 gramos de músculo de ostión para los análisis posteriores. El muestreo consistió en tres visitas para cada una de las lagunas. En la primera visita se recolectaron 20 individuos *C. virginica* en los tres bancos ostrícolas. Durante la segunda visita se obtuvieron 20 ostiones de la cooperativa. Finalmente, en la tercera visita se obtuvieron 20 ostiones provenientes de los restaurantes.

Recolecta de ostiones *C. virginica* en bancos ostrícolas

La extracción de los ostiones de los bancos en cada laguna se realizó de manera aleatoria, de acuerdo con el método utilizado por Vidal-Briseño (2015), mediante buceo libre o por el arte de pesca denominado gafas. Brevemente, consiste en dos rastrillos de 2.5 a 4 metros de longitud, unidos, formando una pinza que se manipuló desde la borda de la lancha, introduciéndolas abiertas, rascando prácticamente la superficie del banco a muestrear y al cerrarlas, se obtuvieron los ejemplares, se seleccionaron individuos con tamaño comercial (mayor o igual a 5 cm) (Vidal-Briseño et al., 2015). Se extrajeron un total de 20 individuos *C. virginica*. Durante la recolección de ostiones, se utilizaron guantes de jardinería para evitar cortarse al manipularlos.

Post-recolección de ostiones *C. virginica* en cooperativas y restaurantes

En cada uno de los muestreos, se obtuvieron 20 ostiones *C. virginica* de las cooperativas de ambas lagunas. Además, se obtuvo la pulpa de 20 ostiones refrigerados (almacenados en bolsas con agua purificada) provenientes de los restaurantes colindantes a las lagunas, manteniendo la identidad de los restaurantes de forma confidencial.

Posterior a la recolecta, los ostiones se cepillaron para retirarles los materiales y fauna acompañante adheridos a la concha, se colocaron en bolsas resellables BOLROL® limpias y nuevas, los organismos fueron transportados al laboratorio a 4 ° C. En el laboratorio, los moluscos se cepillaron y enjuagaron con agua corriente para remover el lodo restante de las conchas (Gomez-Gil and Roque, 2006) y se colocaron en una charola con papel absorbente para su posterior desconche.

Aislamiento bacteriano

El aislamiento de bacterias *Vibrio* spp. se realizó en campana de flujo laminar. El material utilizado fue previamente sometido a 121 ° C y 15 lbs/pulg² de presión durante 15 min en autoclave vertical (Gomez-Gil and Roque, 2006).

Los ostiones obtenidos de los bancos ostrícolas y cooperativas fueron desconchados con un cuchillo estéril, en el caso de los restaurantes, se obtuvo la pulpa de ostiones almacenados en bolsas con agua purificada. En todos los casos, la pulpa de ostión de cada sitio de muestreo fue homogenizada a alta velocidad durante 1 min, agregando 5 mL de líquido intervalvar. Cada homogenado fue vertido por separado en vaso de precipitados estéril de 300 mL.

En la **figura 2** se presenta el diagrama del procedimiento de siembra por dilución utilizado. Por cada sitio de muestreo se extrajo 1 mL de homogenado de ostión y se diluyó en 9 mL de agua peptonada alcalina amortiguada (pH 8,4 ± 0,2) (Gomez-Gil and Roque, 2006), hasta llegar a la dilución de 10⁻³ de acuerdo con la metodología de Gamazo *et al.* (2010), a continuación, se inocularon 0.1 mL de la dilución 10⁻³ en placa en medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Vibrio*, agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS, por sus siglas en inglés), mediante siembra extendida por triplicado. El medio TCBS se preparó en condiciones estériles de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas fueron incubadas a 30 ° C durante un periodo de 18 a 24 h en estufa Felisa®.

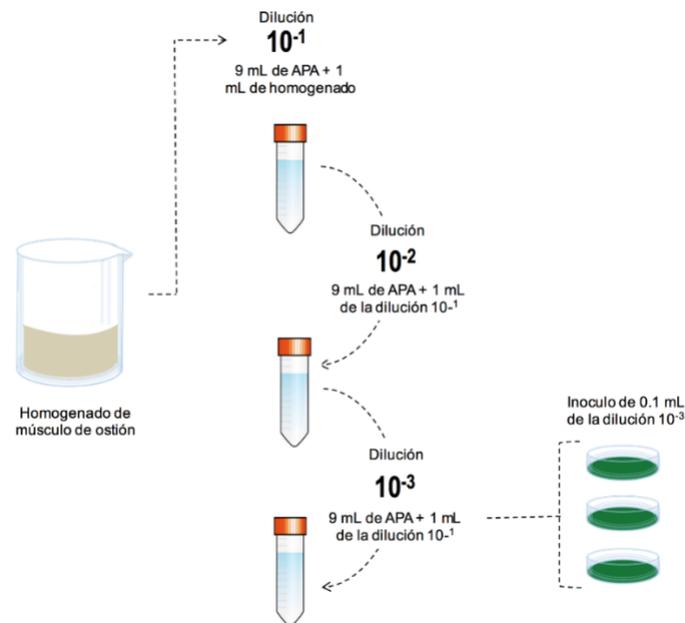


Figura 1. Diagrama del método de siembra por dilución en placa en medio TCBS utilizado para el aislamiento de *Vibrio* spp.

Recuento bacteriano de microorganismos viables

Para el conteo bacteriano se asumió que cada colonia aislada representa bacterias descendientes de una unidad formadora de colonia (UFC) (Gamazo et al., 2010). La NOM-092-SSA1-1994 (Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa) (1994), establece que el conteo debe realizarse entre 25 y 250 colonias, no obstante, adicionalmente permite reportar el número de UFC de aquellos cultivos en los que hubo crecimiento de *Vibrio* spp. por debajo de esta cifra (SSA, 1994). El recuento de colonias se realizó después de 18 - 24 h. Brevemente, consistió en contar las UFC aisladas en el medio TCBS, posteriormente se calculó el número inicial de unidades formadoras de colonias por mililitro de homogenado de ostión (UFC/mL), de acuerdo con lo reportado por Gamazo *et al.* (2010).

$$\text{Número de UFC/mL} = \frac{\text{Número de colonias (factor de dilución)}}{0.1 \text{ mL}}$$

El número de UFC/mL se calculó multiplicando el número de colonias resultantes, por el factor de dilución utilizado (1000, debido a que se utilizó la dilución 10^{-3}) y se dividió entre 0.1 mL, correspondiente al volumen de homogenado sembrado en placa.

Los valores se reportaron como UFC/mL, tanto sacarosa positiva como sacarosa negativa. Además, se tomó como referencia el nivel máximo permisible indicado por la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009) que indica que *V. cholerae* (sacarosa positiva) y *V. vulnificus* (sacarosa negativa) deben estar ausentes en 50 gramos de ostión. Finalmente, los residuos generados durante la fase de aislamiento y cultivo bacteriano fueron sometidos a 121°C y 15 lbs/pulg² de presión durante 15 min para su posterior desecho.

Presencia y abundancia de *Vibrio* spp. en *C. virginica*

La presencia de bacterias del género *Vibrio* en ostiones *C. virginica* se determinó mediante la observación y registro de UFC/mL aisladas en medio TCBS. La abundancia de *Vibrio* spp. sacarosa positiva y negativa se estimó por medio del conteo del número total de UFC/mL por cada sitio muestreado en ambas lagunas, de acuerdo con Gamazo *et al.* (2010).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, según la distribución de los datos, se aplicó la prueba Kruskal-Wallis para establecer diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sitios de recolecta y las estaciones del año. Una vez halladas las diferencias estacionales, se realizaron pruebas U de Mann Whitney y T Student, según su distribución. Los datos se presentan como el valor promedio \pm DE de UFC/mL de ambas lagunas, de los bancos ostrícolas y cooperativas. El análisis estadístico se realizó con el programa R x64 versión 3.4.2 y los gráficos con el programa Graphpad PRISM 6.01.

RESULTADOS

Características morfológicas de las colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco

Las colonias (UFC/mL) de bacterias *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* provenientes de bancos ostrícolas y cooperativas de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco exhibieron las siguientes características en común: forma circular, elevación cóncava, borde liso y tamaño de 1 mm a 3 mm. Las colonias fueron diferenciadas, al mostrar coloración de dos tipos; las colonias sacarosa positivas (con capacidad de degradar sacarosa) presentaron color amarillo, mientras que las colonias de *Vibrios* sacarosa negativas, presentaron coloración verde (Fig. 3).

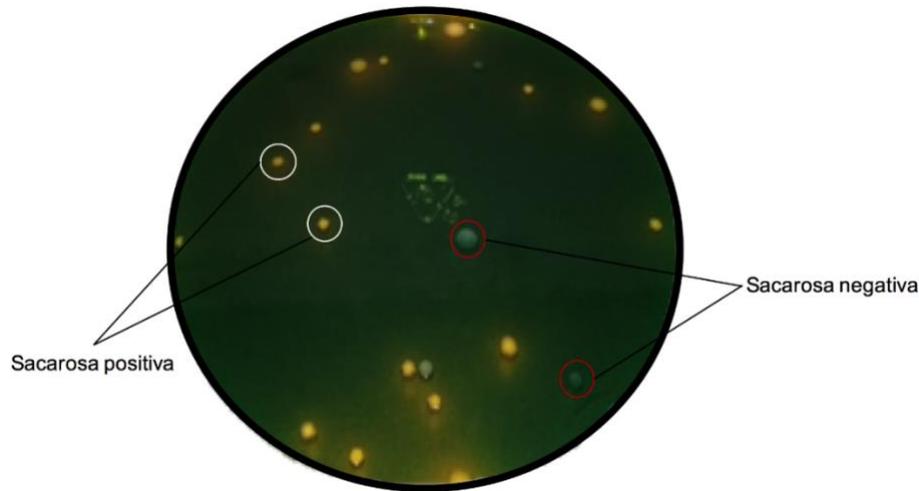


Figura 2. Colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* provenientes de bancos ostrícolas y cooperativas de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco.

Conteo de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* provenientes de bancos ostrícolas (fase de recolección).

Bancos ostrícolas de la laguna de Tamiahua.

En la laguna de Tamiahua, en primavera, el banco Mangles presentó el valor promedio de UFC/mL sacarosa positiva más alto (260,000 UFC/mL), seguido por el banco La Palma con 140,000 UFC/mL, por último, el banco Panzacolas exhibió un promedio de 110,000 UFC/mL. En verano, Panzacolas presentó un valor promedio de 26,667 UFC/mL, seguido por el banco Mangles con 3,333 UFC/mL, y, el banco La Palma no presentó UFC/mL (**Fig. 4A**). Considerando como referencia que *V. cholerae*, una bacteria sacarosa positiva, debe estar ausente. El límite máximo permisible (LMP) indicado por la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009) se sobrepasó en primavera, en los bancos La Palma, Mangles y Panzacolas, y en verano, en los bancos Mangles y Panzacolas. En las estaciones de otoño e invierno los ostiones de los bancos ostrícolas de la laguna de Tamiahua no presentaron UFC/mL sacarosa positiva (**Fig. 4A**).

El análisis estadístico indicó que los valores promedio de las UFC/mL sacarosa positivas entre los bancos ostrícolas no fueron diferentes ($p= 0.7406$). Sin embargo, se determinaron diferencias significativas entre las estaciones del año ($p= 0.000001$), siendo el valor promedio registrado en primavera significativamente más alto que el presentado en verano (**Fig. 4A**).

En la **figura 4B** se muestran los valores promedio de las UFC/mL sacarosa negativas obtenidas de ostiones *C. virginica* durante las estaciones del año. En primavera el banco Mangles obtuvo 56,667 UFC/mL, seguido por Panzacolas con 53,333 UFC/mL, por último, el banco La Palma presentó 23,333 UFC/mL. Durante el verano, se determinó un valor promedio de 10,000 UFC/mL para el banco La Palma, seguido por Panzacolas con 6,667 UFC/mL, y por último Mangles con 3,333 UFC/mL. En ambas estaciones, primavera y verano, se sobrepasó el LMP indicado por la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009) en los bancos La Palma,

Mangles y Panzacolas, se tomó como referencia que *V. vulnificus*, una bacteria sacarosa negativa, debe estar ausente. En otoño e invierno, no fueron aisladas UFC/mL sacarosa negativa de los ostiones provenientes de los bancos ostrícolas de la laguna de Tamiahua.

No se determinaron diferencias significativas entre los valores promedio de los bancos ($p= 0.09608$), mientras que, entre las estaciones se presentaron diferencias ($p= 0.000001$) entre el valor promedio de UFC/mL, en primavera fue significativamente más alto que el registrado en verano (Fig. 4B).

Bancos ostrícolas de la laguna de Tampamachoco.

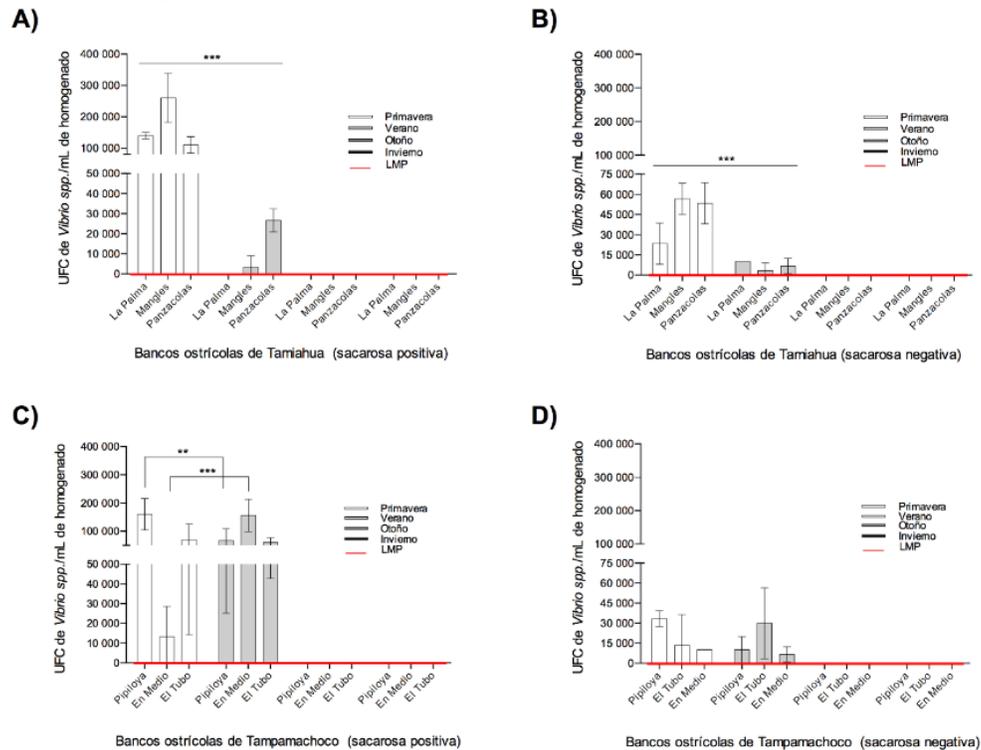


Figura 3. Valor promedio de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* provenientes de bancos ostrícolas durante las estaciones del año. A) Unidades formadoras de colonias sacarosa positivas aisladas de ostiones de bancos de la laguna de Tamiahua. B) Unidades formadoras de colonias sacarosa negativas aisladas de ostiones de bancos de la laguna de Tamiahua. C) Unidades formadoras de colonias sacarosa positivas aisladas de ostiones de bancos de la laguna de Tampamachoco. D) Unidades formadoras de colonias sacarosa negativas aisladas de ostiones de bancos de la laguna de Tampamachoco. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Conteo de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* obtenidos de cooperativas (fase de post-recolección).

Cooperativa de la laguna de Tamiahua (cooperativa Tamiahua)

En la **figura 4C** se observan los valores promedio de UFC/mL sacarosa positivas obtenidas de ostiones *C. virginica* de los bancos ostrícolas de Tampamachoco. Durante la primavera, el banco ostrícola Pipiloaya

obtuvo el valor promedio más alto con 160,000 UFC/mL, seguido por el banco El Tubo con 70,000 UFC/mL, y finalmente, el banco En Medio presentó 13,333 UFC/mL. En verano, el banco En Medio exhibió el valor promedio más alto con 156,667 UFC/mL, el banco Pipiloya obtuvo 66,667 UFC/mL y El Tubo presentó 60,000 UFC/mL. En ambas estaciones, primavera y verano, se sobrepasó LMP de acuerdo con la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009), en los bancos Pipiloya, En Medio y El Tubo. En otoño e invierno no se logró determinar UFC/mL en los ostiones de los bancos ostrícolas de la laguna de Tampamachoco. El análisis estadístico indicó que no existieron diferencias significativas entre bancos ($p= 0.8602$), mientras que se presentaron diferencias significativas entre las estaciones primavera y verano para los bancos Pipiloya y En Medio ($p=0.000001$).

Los valores promedio de UFC/mL sacarosa negativa aislados de ostiones de los bancos ostrícolas de la laguna de Tampamachoco durante las diferentes estaciones del año, indicaron que, en primavera el banco Pipiloya presentó un valor promedio de 33,333 UFC/mL, el banco En Medio 13,333 UFC/mL y el Tubo 10,000 UFC/mL. En verano, el banco En Medio obtuvo 30,000 UFC/mL, seguido por los bancos Pipiloya con 10,000 UFC/mL y el Tubo con 6,667 UFC/mL. Durante primavera y verano se sobrepasó el LMP de acuerdo con la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009), en los bancos Pipiloya, En Medio y El Tubo (**Fig. 4D**). No obstante, el análisis estadístico reveló que no hubo diferencias entre los bancos ostrícolas ($p= 0.8415$). Durante otoño e invierno no se determinaron UFC/mL sacarosa negativa en los bancos ostrícolas de la laguna de Tampamachoco, observando diferencias entre los valores de unidades formadoras de colonias de *Vibrio spp.* entre estaciones ($p= 0.0001122$), sin diferencias entre los valores registrados para primavera y verano ($p= 0.0759$) (**Fig. 4D**).

En la **figura 5A** se indican los valores promedio de las UFC/mL sacarosa positiva aisladas de los ostiones post-recolectados de la cooperativa Tamiahua. Se evidenció que los ostiones obtenidos en primavera y verano no presentaron UFC/mL. Durante la estación de invierno se aislaron un promedio de 6,667 UFC/mL sacarosa positiva, sobrepasando el LMP determinado por la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009). De acuerdo a los valores promedio de UFC/mL sacarosa negativa, en primavera se presentaron 10,000 UFC/mL, sobrepasando el LMP determinado por la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009) (**Fig. 5B**).

Cooperativa de la laguna de Tampamachoco (cooperativa del Puerto de Tuxpan)

Los valores promedio de UFC/mL sacarosa positiva aisladas de ostiones *C. virginica* procedentes de la cooperativa del Puerto de Tuxpan, localizada en la laguna de Tampamachoco, indican que en primavera se obtuvieron 253,333 UFC/mL, durante el verano se registraron 10,000 UFC/mL. Nuevamente, en otoño e invierno no fueron registradas UFC/mL de ostiones *C. virginica*, demostrando diferencias significativas en los valores de valores de UFC/mL sacarosa positiva entre las estaciones del año ($p= 0.02366$) (**Fig. 5C**).

Los valores promedio de UFC/mL de *Vibrio spp.* sacarosa negativa indicaron 156,667 UFC/mL durante la primavera y 6,667 UFC/mL en verano. En otoño e invierno no se presentaron UFC/mL sacarosa negativa

aisladas de ostiones *C. virginica* obtenidos de la cooperativa del Puerto de Tuxpan. Los valores de UFC/mL sacarosa negativas presentaron diferencias entre estaciones ($p=0.02542$) (Fig. 5D).

Los datos mostraron que tanto en primavera y verano, se sobrepasó el LMP según la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009) (Fig. 5C y D).

Registro de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* obtenidos de restaurantes

Se determinó la ausencia de UFC/mL sacarosa positiva y UFC/mL sacarosa negativa en ostiones *C. virginica* obtenidos de los diferentes restaurantes ubicados en las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco. Evidenciando el cumplimiento del LMP según la NOM-242-SSA1-2009 (SSA, 2009). (Fig. suplementaria 1).

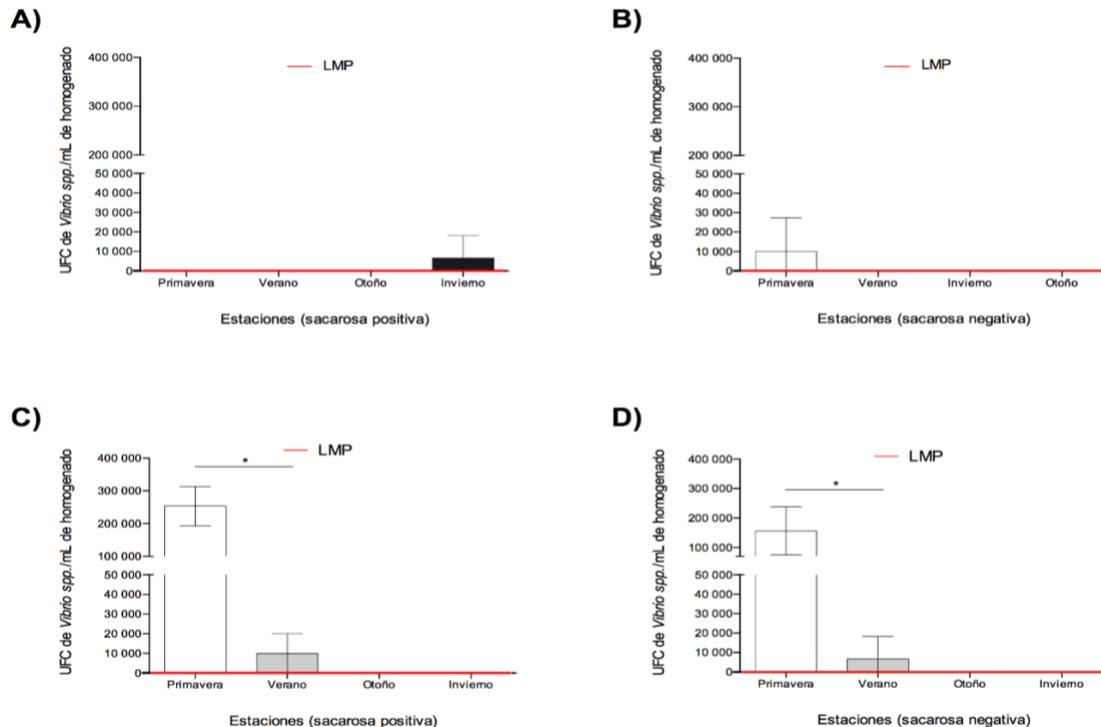


Figura 4. Valores promedio de unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de ostiones *C. virginica* obtenidos de cooperativas durante las estaciones del año. A) Unidades formadoras de colonias sacarosa positivas y B) Unidades formadoras de colonias sacarosa negativas aisladas de ostiones de la cooperativa Tamiahua. C) Unidades formadoras de colonias sacarosa positivas y D) Unidades formadoras de colonias sacarosa negativas aisladas de ostiones de la cooperativa del Puerto de Tuxpan, localizada en la laguna de Tampamachoco. * $p < 0.05$.

Comparación de los sitios de recolección y postrecolección de ambas lagunas

Los bancos ostrícolas de Tamiahua presentaron valores promedio de UFC/mL sacarosa positiva significativamente más altos en comparación con los valores registrados en los bancos de la laguna de

Tampamachoco ($p= 0.0415$) durante la primavera (Fig. 6A). Mientras que en verano, los bancos ostrícolas de la laguna de Tampamachoco presentaron valores más altos en comparación con la laguna de Tamiahua ($p= 0.0002$) (Fig. 6B). Durante otoño e invierno no se presentaron UFC/mL de *Vibrio* spp. en ostiones muestreados en ambas lagunas (Fig. 4). En la figura 6C, se muestran los valores promedio de UFC/mL de *Vibrio* spp. sacarosa positiva aisladas de ostiones post-recolectados de cooperativas de ambas lagunas. Los datos indican que no hay diferencias estacionales entre los valores promedio de UFC/mL ($p= 0.1326$). Simultáneamente, los valores UFC/mL sacarosa negativa obtenidos no demostraron diferencias significativas entre estaciones ($p= 0.2070$) en ambas lagunas (Fig. 6C).

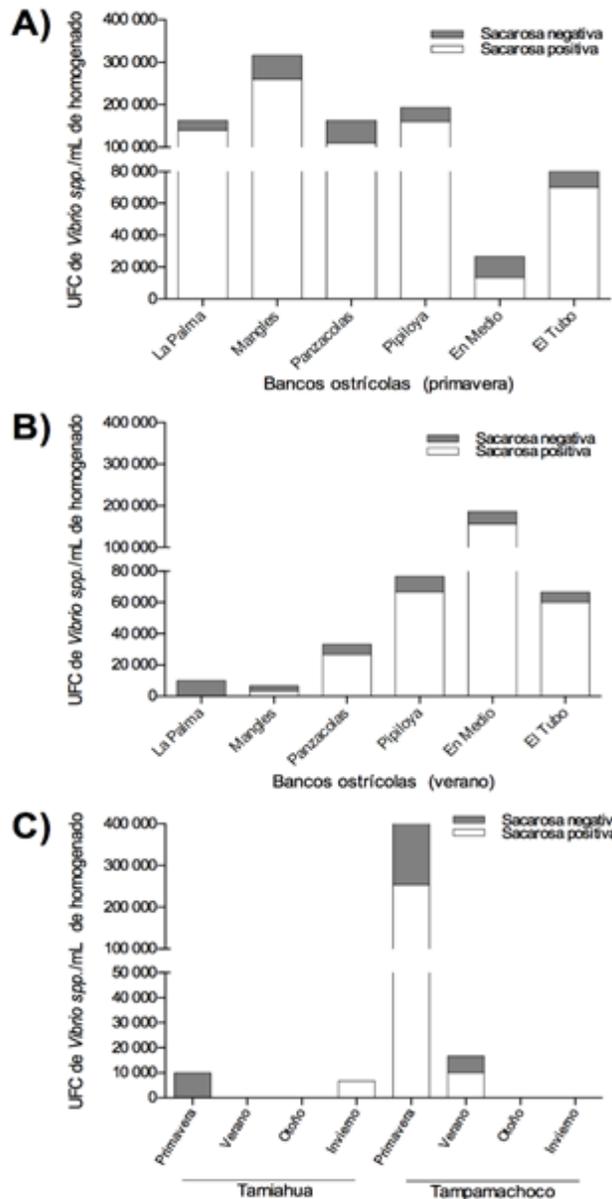


Figura 5. Comparación de los valores promedio de las unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. entre los sitios de recolección y post-recolección de ambas lagunas. Unidades formadoras de colonias de *Vibrio*

spp. aisladas de *C. Virginica* muestreados en los bancos ostrícolas de ambas lagunas durante A) primavera y B) verano. C) Unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. aisladas de *C. Virginica* obtenidos de las cooperativas de las lagunas Tamiahua y Tampamachoco (Del Puerto de Tuxpan) durante las estaciones del año.

DISCUSIÓN

En la presente investigación se determinó la presencia de bacterias del género *Vibrio* en ostiones *C. virginica* recolectados y post-recolectados en las lagunas Tamiahua y Tampamachoco, ubicadas en la zona norte del sistema lagunar de Veracruz, México.

Los moluscos bivalvos como el ostión americano *C. virginica* tienen una relevancia importante para la integridad y funcionalidad de los ecosistemas estuarinos (NOAA, 2007). Además, representan una actividad económica importante como fuente de alimento, generando empleo y servicios (FAO, 2008). En cuanto a volumen, constituyen la quinta pesquería más importante a nivel nacional, en el año 2017 se produjeron 55,470 toneladas de este recurso (Conapesca, 2018), con aproximadamente más de 5,169 pescadores y 10,000 desconchadores registrados (Aranda et al., 2014). Sin embargo, tanto la demanda de estos moluscos, así como su precio en el mercado y capacidad de exportación se ven directamente afectados por su calidad sanitaria (Avilés-Quevedo and Vázquez-Hurtado, 2006). Los hallazgos registrados en este estudio demostraron la presencia de *Vibrio* spp. en bancos ostrícolas naturales de mayor importancia económica, así como en las cooperativas de las lagunas de Tamiahua y Tampachoco, Veracruz. La norma NOM-242-SSA1-2009 emitida por la secretaría de salud indica ausencia para *V. cholerae* y *V. vulnificus*, y 104 NMP/g para *V. parahaemolyticus* como el límite máximo permisible en 50 g de producto (SSA, 2009), evidenciando el posible incumplimiento del mismo en ambas áreas. No obstante, la guía técnica para el control sanitario de moluscos bivalvos integrada dentro del PMSMB, establece que la autoridad deberá desarrollar un plan de manejo de riesgo para *V. vulnificus* únicamente cuando se detecten 2 o más casos de intoxicación por esta bacteria debido al consumo de moluscos bivalvos (Cofepris, 2009), mientras que para *V. parahaemolyticus*, según sea el caso, la autoridad debe realizar una evaluación de riesgo anualmente, en donde las variaciones estacionales son factores primordiales a considerar (Cofepris, 2009). Está bien establecido que la presencia y abundancia de bacterias del género *Vibrio* está correlacionado con factores fisicoquímicos como la temperatura, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto (León Robles et al., 2013; Parveen et al., 2008; Vezzulli et al., 2016), además la materia orgánica (SSA, 2012) y el aumento de poblaciones de cianobacterias y dinoflagelados favorece la presencia de estas bacterias (Greenfield et al., 2017). Los valores de UFC/mL de *Vibrio* spp. registrados en este estudio no mostraron diferencias entre los sitios muestreados, en contraste, se demostraron diferencias entre estaciones del año tanto en los bancos ostrícolas como en las cooperativas de ambas lagunas. Durante primavera y verano se registraron bacterias del género *Vibrio*, alcanzando los valores máximos en primavera, cuando la

temperatura promedio alcanza los 31 y 28 ° C para la laguna de Tamiahua y Tampamachoco, respectivamente (López-Ortega et al., 2012; Ocaña-Luna and Sánchez-Ramírez, 2016); similar a lo reportado por Martínez (Martínez, 2011), quien aisló *V. cholerae*, *V. alginolyticus* y *V. fluvialis* de *C. virginica* de la cooperativa de la laguna de Mandinga, Veracruz durante los meses de marzo, abril, mayo y junio. Indicando la influencia de la época estacional en la presencia y abundancia de este género bacteriano patógeno tanto para la fase de recolecta como post-recolecta. En un estudio realizado en el 2010 se determinó la presencia *V. alginolyticus*, *V. cholerae* El Tor, *V. fluvialis*, *V. mimicus* y *V. parahaemolyticus* en individuos *C. virginica*, en todas las fases de comercialización, desde su recolecta en la Laguna de Alvarado, Veracruz hasta su distribución en centros comerciales de la Ciudad de México (Negrete- Redondo and Romero- Jarero, 2010), evidenciando el alto riesgo para la salud de los consumidores. Importantemente, los datos del presente estudio demuestran valores elevados de UFC de *Vibrio spp.* en individuos *C. virginica* obtenidos de la cooperativa del Puerto de Tuxpan, correspondiente a la laguna de Tampamachoco, en contraste con la cooperativa Tamiahua. En la cooperativa Tamiahua el tratamiento de los individuos colectados consiste en retirar todo el sedimento con agua potable, para su posterior almacenamiento o transporte a los diversos centros de distribución. Los bajos valores de UFC de *Vibrio spp.* obtenidos en dicha cooperativa, incluso en primavera, señalan la importancia del adecuado manejo post-recolección de los moluscos.

Durante el presente estudio se utilizó el medio TCBS, selectivo para *vibrios*, para su aislamiento y detección (Di Pinto et al., 2011). Se diferencian dos tipos de colonias de *Vibrios* de acuerdo a la capacidad de degradar o no sacarosa. Los *Vibrios* sacarosa positiva forman colonias amarillas, mientras que los que no poseen esta cualidad forman colonias verdes o azules y son denominados sacarosa negativa (Jones, 2014). Las colonias amarillas corresponden presuntivamente a *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. furnissii* y *V. mimicus*, y las colonias verdes *V. parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* (Kumar et al., 2016). En este contexto, ambos tipos de colonias fueron aisladas de *C. virginica* procedentes de las lagunas de estudio, indicando mayor UFC de *Vibrio spp.* sacarosa positiva. La especificidad del medio TCBS para algunas cepas de *Vibrio spp.* se ha determinado hasta en un 70 % (Di Pinto et al., 2011), y aunque es necesaria la aplicación de pruebas bioquímicas y/o moleculares para la confirmación de las cepas, los datos obtenidos sugieren la presencia de *V. cholerae* en ambas lagunas. En similitud con los presentes datos, en un estudio publicado en el 2015, los autores reportaron la presencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en moluscos muestreados de las lagunas de Tamihua y Tampamachoco, tanto en primavera, verano y otoño (Hernández-Herrera et al., 2015).

Durante invierno, cuando la temperatura registrada oscila entre los 13 - 18 ° C (Ocaña-Luna and Sánchez-Ramírez, 2016), se aisló un promedio de 6,667 UFC/mL sacarosa positiva de moluscos provenientes de la cooperativa Tamiahua. Sin embargo, no se obtuvieron registros en los principales bancos ostrícolas de dicha laguna durante esa temporada. Esto podría indicar que la captura de los bivalvos ocurre además en

otros bancos ostrícolas que no fueron muestreados en este estudio. Por otra parte, se ha demostrado que *V. cholerae* es capaz de adherirse a los exoesqueletos de crustáceos así como a superficies abióticas (Hood and Winter, 1997), los cuales actúan como microhábitats favorables para su supervivencia ante condiciones ambientales estresantes, una vez adherido a estas superficies externas, el microorganismo puede iniciar un proceso de colonización (Castro-Rosas and Escartín, 2005, 2002), el cual puede aumentar, invadiendo el musculo durante la fase de post-recolección, donde las condiciones ambientales ya no son extremas. Esta fase de colonización se ha reportado principalmente en crustáceos y se ha asociado con una mayor resistencia a bajas temperaturas y niveles de pH (Amako et al., 1987; Castro-Rosas and Escartín, 2005). Finalmente, es importante señalar que no se registraron unidades formadoras de colonias de *Vibrio* spp. de organismos provenientes de los restaurantes muestreados. Indicando que los protocolos de limpieza, desconche y almacenamiento (refrigeración) implementados por los restaurantes en esta zona lagunar cumplen con la función de entregar moluscos inocuos de bacterias del género *vibrio* al consumidor.

CONCLUSIÓN

En la presente investigación fueron registradas unidades formadoras de colonias de *Vibrio spp.* en ostiones *C. virginica*, tanto sacarosa positiva como negativa en bancos ostrícolas y cooperativas de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco, principalmente en las estaciones de primavera y verano. Sin embargo, los datos sugieren presuntivamente la presencia de *V. cholerae* en época de invierno, unicamente en ostiones obtenidos de la cooperativa de la laguna de Tamiahua, indicando un posible proceso de adaptación ante las bajas temperaturas y recolonización bacteriana post-recolección. Importantemente, no se detectaron unidades formadoras de colonias de *Vibrio spp.* en ostiones *C. virginica* obtenidos de los restaurantes de ambas lagunas, cumpliendo con el límite máximo permisible de acuerdo con la NOM-242-SSA1-2009, que establece las especificaciones sanitarias para productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. En México el PMSMB tiene como objetivo mejorar la calidad sanitaria de los moluscos destinados al consumo humano. Sin embargo, los datos obtenidos muestran que es importante incrementar la regulación, vigilancia y monitoreos periódicos en las áreas de extracción y distribución para garantizar la inocuidad de estos bivalvos en todas las fases de comercialización.

REFERENCIAS

- Amako, K., Shimodori, S., Imoto, T., Miake, S., Umeda, A., 1987. Effects of chitin and its soluble derivatives on survival of *Vibrio cholerae* O1 at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 603–605. <https://doi.org/10.1128/AEM.53.3.603-605.1987>
- Aranda, D.A., Díaz, M.E., Reynoso, F.L., Brulé, T., Montero, J., Cárdenas, E.B., 2014. Reproductive strategies of the Eastern Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791) in tropical lagoons of the Mexican Gulf of Mexico. *J. Shellfish Res.* 33, 145–152. <https://doi.org/10.2983/035.033.0114>
- Avilés-Quevedo, S., Vázquez-Hurtado, M., 2006. Fortalezas y debilidades de la acuicultura en México., in:

- Guzmán, P., Fuentes, D. (Eds.), Pesca, Acuicultura e Investigación En México. Comisión Nacional de Pesca, Ciudad de México, pp. 69–86.
- Barrera-Escorcia, G., Wong-Chang, I., Fernández-Rendón, C.L., Botello, A.V., Gómez-Gil, B., Lizárraga-Partida, M.L., 2016. Quantification of *Vibrio* species in oysters from the Gulf of Mexico with two procedures based on MPN and PCR. *Environ. Monit. Assess.* 188, 602. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5620-9>
- Castro-Rosas, J., Escartín, E.F., 2005. Increased tolerance of *Vibrio cholerae* O1 to temperature, pH, or drying associated with colonization of shrimp carapaces. *Int. J. Food Microbiol.* 102, 195–201. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.015>
- Castro-Rosas, J., Escartín, E.F., 2002. Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces. *J. Food Prot.* 65, 492–498. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.3.492>
- Ceccarelli, D., Colwell, R.R., 2014. *Vibrio* ecology, pathogenesis, and evolution. *Front. Microbiol.* 5, 256. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00256>
- Cofepris, 2009. Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos. Guía técnica para el control sanitario de moluscos bivalvos.
- Conapesca, C.N. de A. y P., 2018. Ostión, la perla de la corona del sector pesquero y acuícola nacional [WWW Document]. Article.
- DePaola, A., Nordstrom, J.L., Bowers, J.C., Wells, J.G., Cook, D.W., 2003. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1521–1526. <https://doi.org/10.1128/aem.69.3.1521-1526.2003>
- Di Pinto, A., Terio, V., Novello, L., Tantillo, G., 2011. Comparison between thiosulphate-citrate-bile salt sucrose (TCBS) agar and CHROMagar *Vibrio* for isolating *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control* 22, 124–127. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.06.013>
- FAO, 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad futura en América Latina., Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad futura en América Latina.FAO Actas de Pesca y Acuicultura 12. Puerto Montt, ChileF.
- FDA, U.S.F. and D.A., SSA, S. de salud, COFEPRIS, C.F. para la P. contra R.S., 2018. Safety and sanitary quality of refrigerated fresh and frozen aquacultured molluscan shellfish exported from the United Mexican States to the United States of America [WWW Document]. <https://doi.org/https://www.fda.gov/international-programs/cooperative-arrangements/fda-cofepris-mexico-statement-cooperation-regarding-molluscan-shellfish>
- Froelich, B.A., Noble, R.T., 2016. *Vibrio* bacteria in raw oysters: managing risks to human health. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B, Biol. Sci.* 371. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0209>
- Galaviz-Villa, I., Castaneda-Chavez, M.R., Lango-Reynoso, F., Amaro-Espejo, I.A., Romero-Gonzalez, L.,

- Salcedo-Garduno, M.G., Sanchez-Chavez, A., 2017. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* (th) and virulence factors in Oyster *Crassostrea virginica* in the Gulf of Mexico. *Rev. Bio Ciencias* 4. <https://doi.org/10.15741/revbio.04.06.03>
- Gamazo, C., Lopeéz- Goñi, I., Díaz, R., 2010. Manual práctico de microbiología. Masson.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., 2006. Isolation, Enumeration, and Preservation of the Vibrionaceae, in: *The Biology of Vibrios*. American Society of Microbiology, pp. 15–26.
- Gomez-Gil, B., Thompson, C.C., Matsumura, Y., Sawabe, T., Iida, T., Christen, R., Thompson, F., Tomoo, S., 2014. The prokaryotes: gammaproteobacteria. *The Prokaryotes: Gammaproteobacteria*. Springer-Verlag.
- Greenfield, D.I., Gooch Moore, J., Stewart, J.R., Hilborn, E.D., George, B.J., Li, Q., Dickerson, J., Keppler, C.K., Sandifer, P.A., 2017. Temporal and environmental factors driving *Vibrio vulnificus* and *V. Parahaemolyticus* populations and their associations with Harmful algal blooms in South Carolina detention ponds and receiving tidal creeks. *GeoHealth* 1, 306–317. <https://doi.org/10.1002/2017GH000094>
- Gutiérrez- Vivanco, J., 2010. Variación espacio-temporal de los parámetros físico-químicos, clorofila-a y nutrientes en la Laguna de Tampamachoco-Veracruz (Golfo de México Occidental). Universidad Veracruzana. <https://doi.org/https://www.uv.mx/pozarica/mmcmc/files/2012/10/TESIS-JORDAN-GTZ.pdf>
- Hernández-Herrera, I., Jiménez-Torres, A.C., San Martín-Del Ángel, P., 2015. Bacterias del género *Vibrio* presentes en el ostión americano, in: Caba, M., Zepeda, R.C., Meza, E., Juárez Portilla, C. (Eds.), *Avances En La Investigación Biomédica En El Estado de Veracruz*. Xalapa, Veracruz, pp. 93–100.
- Herrera-Silveira, J.A., Morales-Ojeda, S.M., Cortes-Balan, T.O., 2011. Eutrofización en los ecosistemas costeros del Golfo de México: VI. México.
- Hood, M.A., Winter, P.A., 1997. Attachment of *Vibrio cholerae* under various environmental conditions and to selected substrates. *FEMS Microbiol. Ecol.* 22, 215–223. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(96\)00092-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-6496(96)00092-X)
- Jones, J.L., 2017. *Vibrio*, in: Dodd, C.E.R., Aldsworth, T., Stein, R.A., Cliver, D.O., Riemann, H.P. (Eds.), *Foodborne Diseases (Third Edition)*. Academic Press, pp. 243–252. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00011-5>
- Jones, J.L., 2014. *Vibrio*. Introduction, including *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, and Other *Vibrio* Species, in: Batt, C.A., Tortorello, M. Lou (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 691–698. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00345-1>
- Kingsley, D.H., 2014. Shellfish (Molluscs and crustacea). Shellfish contamination and spoilage, in: Batt, C.A., Tortorello, M. Lou (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*. Academic Press,

- Oxford, pp. 389–396. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00306-2>
- Kumar, P., Shankar, U., Paul, P., 2016. Identification the presence of *Vibrio* Species by TCBS media in different water samples collected from different locations. *Int. J. Sci. Res.* 5, 812–816. <https://doi.org/10.21275/v5i3.nov161779>
- Labbate, M., Seymour, J.R., Lauro, F., Brown, M. V, 2016. Editorial: Anthropogenic Impacts on the Microbial Ecology and Function of Aquatic Environments. *Front. Microbiol.* 7, 1044. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01044>
- Lango- Reynoso, F., Landeros- Sanchez, C., Castañeda- Cháves, M. del R., 2010. Bioaccumulation of cadmium (CD), lead (PB) and arsenic (AS) in *Crassostrea virginica* (GMELIN, 1791), from Tamiahua lagoon system, Veracruz, Mexico. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 26, 201–210.
- León Robles, A., Acedo Félix, E., Gomez-Gil, B., Quiñones Ramírez, E.I., Nevárez-Martínez, M., Noriega-Orozco, L., 2013. Relationship of aquatic environmental factors with the abundance of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio mimicus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal area of Guaymas, Sonora, Mexico. *J. Water Health* 11, 700–712. <https://doi.org/10.2166/wh.2013.160>
- López-Ortega, M., Pulido-Flores, G., Serrano-Solís, A., Gaytán-Oyarzún, J.C., Monks Sheets, W.S., López-Jiménez, M.A., 2012. Evaluación estacional de las variables físicoquímicas del agua de la laguna de Tampamachoco, Veracruz ,México. *Rev. Cient. UDO Agric.* 12, 713–719.
- Martínez-Urtaza, J., Blanco-Abad, V., Rodríguez-Castro, A., Ansedo-Bermejo, J., Miranda, A., Rodríguez-Alvarez, M.X., 2012. Ecological determinants of the occurrence and dynamics of *Vibrio parahaemolyticus* in offshore areas. *ISME J.* 6, 994–1006. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.156>
- Martínez, J.F., 2011. Ocurrencia estacional de *Vibrio* spp. en moluscos bivalvos (*Crassostrea virginica*) procedentes de Mandinga, Veracruz. Universidad Veracruzana.
- Negrete- Redondo, P., Romero- Jarero, J., 2010. Carga bacteriana en ostión (*crassostrea virginica*), desde su recolecta hasta su consumo. *Soc. Rural. Prod. y medio Ambient.* 10, 75–102.
- NOAA, 2007. Status review of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*) report to the national marine fisheries service , northeast regional office, NOAA Tech. Memo. NMFS F/SPO. E.U.A.
- Ocaña-Luna, A., Sánchez-Ramírez, M., 2016. Estructura de la comunidad ictioplanctónica en la laguna de Tamiahua, Veracruz, México. *Rev. Mex. Biodivers.* 87, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.018>
- Parveen, S., Hettiarachchi, K.A., Bowers, J.C., Jones, J.L., Tamplin, M.L., McKay, R., Beatty, W., Brohawn, K., Dasilva, L. V, Depaola, A., 2008. Seasonal distribution of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay oysters and waters. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 354–361. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.09.019>
- Ramírez-Ayala, E., Arguello-Pérez, M.A., Tintos-Gómez, A., Pérez-Rodríguez, R.Y., Díaz-Gómez, J.A., Borja-Gómez, I., Sepúlveda-Quiroz, C.A., Patiño-Barragán, M., Lezama-Cervantes, C., Salomé-Baylón, J.,

2020. Review of the biomonitoring of persistent, bioaccumulative, and toxic substances in aquatic ecosystems of Mexico: 2001-2016. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 48, 705–738. <https://doi.org/10.3856/vol48-issue5-fulltext-2461>
- Reyes-velázquez, C., Castañeda-chávez, M.R., Landeros-sánchez, C., Galaviz-villa, I., Lango-reynoso, F., Minguez-rodríguez, M.M., 2010. Pathogenic vibrios in the oyster *Crassostrea virginica* in the lagoon system of Mandinga, Veracruz, Mexico. *Vibrios patogénicos en el ostión Crassostrea virginica en el sistema lagunar de Mandinga, Veracruz, México* 20, 238–245.
- SSA, S. de S., 2012. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de Cólera.
- SSA, S. de S., 1994. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México.
- SSA, S. de salud, 2009. NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.
- SSA, S. de salud, 1993. NOM-031-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. México.
- Vezzulli, L., Grande, C., Reid, P.C., Hélaouët, P., Edwards, M., Höfle, M.G., Brettar, I., Colwell, R.R., Pruzzo, C., 2016. Climate influence on *Vibrio* and associated human diseases during the past half-century in the coastal North Atlantic. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E5062–71. <https://doi.org/10.1073/pnas.1609157113>
- Vidal-Briseño, C.I., Hernández-Herrera, R.I., Galindo-Cortés, G., San Martín-del Ángel, P., Vidal-Briseño, C.I., Hernández-Herrera, R.I., Galindo-Cortés, G., San Martín-del Ángel, P., 2015. Estructura poblacional de la captura del ostión *Crassostrea virginica* en las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco, Veracruz, México. *Hidrobiológica* 25, 265–273.
- West, P.A., 1989. The human pathogenic vibrios--a public health update with environmental perspectives. *Epidemiol. Infect.* 103, 1–34. <https://doi.org/10.1017/s0950268800030326>
- Wietz, M., Gram, L., Jørgensen, B., Schramm, A., 2010. Latitudinal patterns in the abundance of major marine bacterioplankton groups. *Aquat. Microb. Ecol.* 61, 179–189.

Copyright (c) 2021 Dulce Maripaz Hernández-Mendoza, Pablo San Martín-del Ángel, Catya Jiménez-Torres y Rosa Idalia Hernández-Herrera.



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumendelicencia](#) - [Textocompletodelalicencia](#)