

Estimación del riesgo microbiológico asociado al consumo de ostión crudo contaminado con *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*

Microbiological risk assessment associated to raw oyster consumption contaminated with *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus*

Karla María López-Hernández, Violeta Trinidad Pardío-Sedas*, Argel Flores-Primo, David Itzcoatl-Martínez Herrera y Roxana Uscanga-Serrano

Laboratorio de Seguridad Agroalimentaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Av. Miguel Ángel de Quevedo s/n esq. Yáñez, Col. Unidad Veracruzana, C.P. 91710, Veracruz, México

RESUMEN

El objetivo del estudio fue predecir el riesgo potencial de exposición a *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* asociado al consumo de ostión americano (*Crassostrea virginica*) crudo colectado del Sistema Lagunar Mandinga (SLM), en restaurantes, coctelerías y puestos ambulantes. El riesgo se estimó como casos esperados/100,000 porciones con el modelo de la FDA. En ostiones del SLM el riesgo estimado por consumir ostiones contaminados con *V. cholerae* noO1/noO139 *ctxA+* sin refrigerar 10 h en verano fue bajo (99×10^{-5} casos); *V. parahaemolyticus* *tdh+* y *tdh+/trh+* representaron un riesgo estimado alto en primavera ($2,200 \times 10^{-5}$ y $4,000 \times 10^{-5}$ casos, respectivamente) y la cepa pandémica *orf8+* un riesgo medio (110×10^{-5} casos) en invierno. El consumo de ostión crudo sin refrigerar 10 h contaminado con *V. cholerae* noO1/noO139 *ctxA+* representó un riesgo promedio bajo (0.87×10^{-5} y 0.44×10^{-5} casos) para restaurantes y coctelerías, respectivamente, alto para cocteles expendidos en puestos ambulantes a temperatura ambiente 24 h ($2,500 \times 10^{-5}$ casos) y bajo a *V. parahaemolyticus* *tdh+* en restaurantes (0.21×10^{-5} casos) y coctelerías (1.1×10^{-5} casos). El porcentaje patogénico, el sitio de venta y el tiempo sin refrigerar fueron las variables que incrementaron el riesgo de enfermar, siendo primavera la estación con el mayor riesgo para el consumidor.

Palabras clave: Consumo humano, *Crassostrea virginica*, riesgo de salud, cólera, bacterias patógenas

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the potential risk of exposure to *V. cholerae* and *V. parahaemolyticus* associated to raw American oyster (*Crassostrea virginica*) consumption collected from the Mandinga Lagoon System (MLS), in restaurants, oyster bars, and street vendors. Risk was estimated as number of cases/100,000 servings with FDA model. The risk of oyster consumption from MLS contaminated with *V. cholerae* noO1/noO139 *ctxA+* and unrefrigerated 10-h was low (99×10^{-5} cases) in summer; *V. parahaemolyticus* *tdh+* y *tdh+/trh+* estimated risk was high in spring ($2,200 \times 10^{-5}$ y $4,000 \times 10^{-5}$ cases, respectively) and the pandemic strain *orf8+* risk was medium in winter (110×10^{-5} cases). Oyster cocktail consumption unrefrigerated for 10 h and contaminated with *V. cholerae* noO1/noO139 *ctxA+*, represented a low mean risk (0.87×10^{-5} and 0.44×10^{-5} cases) for oyster cocktails from

restaurants and oyster bars, respectively, a high mean risk for street vendor cocktails stored at ambient temperature 24-h ($2,500 \times 10^{-5}$ cases), and a low mean risk for *V. parahaemolyticus* *tdh+* in restaurants (0.21×10^{-5} cases) and oyster bar (1.1×10^{-5} cases) cocktails. Risk assessment results indicated that pathogenic percentage, type of establishment, and unrefrigerated storage time were variables that most increased the probability of illness, and spring the season with the highest risk for consumers.

Key words: Human consumption, *Crassostrea virginica*, health risk, cholera, pathogenic bacteria.

INTRODUCCIÓN

Los ostiones pueden bioacumular por filtración bacterias patógenas del agua como *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*, causantes de enfermedades gastrointestinales graves por la presencia de factores toxigénicos (*ctxA* y *ctxA*; *tdh* y *trh*, respectivamente) (Jiang *et al.*, 2018), ocasionadas por el consumo de ostión crudo o mal cocido (Guin *et al.*, 2019; Yoon y Waters, 2019). Actualmente se han registrado más de 200 serogrupos de *V. cholerae* de los cuales, O1/O139 *ctxA+*, son los agentes causales del cólera, enfermedad diarreica infecciosa aguda, epidémica y con alta tasa de mortalidad, mientras que los demás serogrupos han sido tipificados como noO1/noO139 (Boore *et al.*, 2011). Reportes recientes señalan que cepas de *V. cholerae* noO1/noO139 pueden causar diarrea con un incremento de casos de bacteremias y defunciones por septicemia y fascitis necrozante (Zhang *et al.*, 2020). En contraste, la gastroenteritis causada por *V. parahaemolyticus*, aguda o subaguda, ocurre en las primeras 24 h después de la ingestión, acompañada de vómito y diarrea, pudiendo causar shock y muerte especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Guillod *et al.*, 2019). La dosis infectiva de ambos patógenos es de $> 10^8$ y $> 10^5$ organismos, respectivamente (Baker-Austin *et al.*, 2018). En México, se confirmaron 339 casos de cólera en diferentes estados de 2015 al 2019 (SSA, 2019). Con respecto a *V. parahaemolyticus*, en 2014 se reportaron 2 casos en el Puerto de Veracruz y en 2015 el 27.7 % de los casos estatales ocurrieron en la zona metropolitana de Veracruz-Boca del Río (SSA, 2016). Diversos estudios señalan que, en regiones costeras, los casos de infecciones por el consumo de mariscos muestran un patrón estacional debido a la influencia de la época

del año en la abundancia y patogenicidad de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* (Pardío, 2007; Baddam *et al.*, 2020; Ndraha y Hsiao, 2021), particularmente en verano y en invierno, reportado en nuestros estudios anteriores (López-Hernández *et al.*, 2015a,b).

Debido al crecimiento dinámico de ambos patógenos en el ostión sin refrigeración (Gooch *et al.*, 2002), la estimación del riesgo es necesaria para asegurar la inocuidad del alimento y la salud del consumidor. La aproximación sistemática para cuantificar el riesgo asociado con la probabilidad de exposición a microorganismos patógenos y su impacto en la salud humana se denomina evaluación del riesgo microbiológico (ERM) y es utilizado para examinar los peligros ocultos en los alimentos, la probabilidad de exposición a éstos y su impacto en la salud pública (Pardío *et al.*, 2016), proporcionando un enfoque para mejorar la seguridad del consumo de mariscos, especialmente crudos. En México, Ortiz-Jiménez (2018) estimó que el riesgo incrementa con el tiempo de postcosecha del ostión, ya que el crecimiento de *V. parahaemolyticus* incrementó hasta las 36 h, por lo que el riesgo fue 5 veces mayor al de las 0 h en ostiones (*Crassostrea corteziensis*) adquiridos en Tepic y cultivados en Boca de Camichín.

Crassostrea virginica (ostión americano) se distribuye por las costas del Atlántico de Canadá, Golfo de México, América Central y el Caribe (Betanzos-Vega *et al.*, 2016). En México, la explotación del ostión es una de las actividades pesqueras más importantes, es capturado desde los años 50 logrando mantenerse entre los ocho primeros recursos pesqueros, por su volumen y precio. Este molusco se desarrolla en áreas cercanas a la costa, dentro de la zona intermareal y en los esteros, asociados generalmente a las raíces del mangle o adheridos a sustratos duros como rocas, en fondos someros o directamente sobre el fango y en áreas de influencia estuarina (Mayorga *et al.*, 2021). Actualmente en el país se cultiva ostión americano, ostión de mangle, ostión japonés, ostión de roca, ostión de placer y Kumamoto. Los principales productores de estos moluscos son Veracruz, Tabasco, Baja California Sur y Nayarit (SADR, 2021). El Golfo de México genera el 90 % de la producción nacional ostrícola, compuesta en su mayor parte por ostión americano. *C. virginica* es capturado tradicionalmente en Veracruz, Tabasco, Tamaulipas y Campeche, a nivel de pesquerías artesanales (Mayorga *et al.*, 2021). Sin embargo, proviene principalmente de las granjas de cultivo de Tabasco y Veracruz. 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 (Hernández-Mendoza *et al.*, 2021).

Por su sabor y valor nutritivo, el consumo de ostión presenta una gran demanda y está disponible para su consumo la mayor parte del año, gracias a la acuicultura. Por lo que, las mejores temporadas para consumirlo van de junio a agosto (verano) y de noviembre a marzo (otoño, invierno, primavera), aunque está disponible para el consumo humano en las cuatro estaciones del año. De acuerdo con su comercialización, el 96.20 % es destinado para consumo humano directo y 1.13 % para indirecto, mientras que el 2.60 % es para

uso industrial (SADR, 2021). En México, el consumo nacional aparente de ostión fue de 20,286.77 ton y un consumo *per cápita* de 0.16 kg (CONAPESCA, 2021), con una producción ostrícola nacional de 53,443 ton, ocupando el estado de Veracruz el primer lugar con 22,798 ton (43 %) (CONAPESCA, 2018). Sin embargo, los estudios de estimación del riesgo asociado al consumo de ostión crudo consumido recién extraído y en los restaurantes son escasos debido a la falta de monitoreo continuo en las áreas de extracción y distribución. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el riesgo microbiológico para estimar el riesgo a enfermar por el consumo de ostión contaminado con *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* colectado de bancos del SLM y cocteles de ostión crudo de venta al público en la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río y Mandinga, Veracruz, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos fases:

Fase 1: Abundancia estacional de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ostión cosechado del SLM

Las muestras de ostión (*C. virginica*) se recolectaron en bancos ostrícolas en producción del Sistema Lagunar Mandinga (SLM) (19° 00-06' N, 96° 06' W), localizado a 30 km del Puerto de Veracruz (Figura 1a), en el ciclo anual de enero a diciembre de 2018 durante las cuatro estaciones del año: invierno (enero-marzo), primavera (abril-junio), verano (julio-septiembre) y otoño (octubre-diciembre) debido a la disponibilidad, accesibilidad y preferencias de consumo. Con base al muestreo no probabilístico por cuotas, se recolectaron mensualmente 3 muestras cada una de 40 ostiones de tamaño medio legal (7-8 cm de largo) según lo establecido en la Norma Mexicana NMX-FF-001-SCFI-2011 (NMX-FF-001-SCFI, 2011) y se transportaron inmediatamente en hieleras a 4 °C al laboratorio de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Salud NOM-242-SSA1-2009 (NOM-242-SSA1, 2009). Los ostiones muertos se descartaron y los restantes se lavaron y enjuagaron con agua corriente fría para eliminar lodos, algas, balanos o cualquier otra incrustación y se analizaron en un lapso de 2 h después de su recolección.

Fase 2: Densidad de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ostión de venta al público

Se recolectaron un total de 36 muestras, 12 en cada tipo de establecimiento (restaurantes, coctelerías y puestos ambulantes) de la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río y en la localidad de Mandinga, Veracruz (Figura 1b) en el período de mayo a diciembre de 2019 que correspondió a las épocas con las densidades más altas de ambos patógenos en ostiones cosechados de los bancos del SLM durante la primera fase del estudio. La muestra correspondió a la porción de un coctel de ostión (12 ostiones, 200 g de carne + líquido intravalvar) sin condimentos ni especias. Las muestras colectadas se trasvasaron en bolsas de plástico estériles identificadas que se transportaron en hielera al laboratorio en un lapso ≤ 2 h. Los sitios de muestreo se seleccionaron de un censo actualizado de los restaurantes de mariscos, coctelerías y



Figura 1. Localización del área de estudio. A. Zona metropolitana Veracruz-Boca del Río, Mandinga y el Sistema Lagunar Mandinga, Veracruz, México. B. Establecimientos minoristas especializados en servir ostiones: restaurantes, coctelerías y puestos ambulantes en los que se consume cocteles de ostión crudo colectado del SLM [Mapa satelital]. (INEGI, 2022).

Figure 1. Location of the study area. A. Metropolitan area Veracruz-Boca del Río and Mandinga and Mandinga Lagoon System, Veracruz, México. B. Retail establishments specializing in serving oysters: restaurants, oyster bars, and street vendors where raw oyster cocktails collected from the MLS are consumed [Satellite map]. (INEGI, 2022).

vendedores ambulantes en la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río y Mandinga, Veracruz, realizado a partir del registro público de la Dirección de Comercio, Espectáculos y Mercados de los municipios de Veracruz y Boca del Río. La muestra representativa de los sitios de venta de cada zona se estableció con las tablas de Cannon y Roe (1982) mediante un muestreo probabilístico estratificado con asignación proporcional de la muestra.

Cuantificación de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*

En las dos fases del estudio, las densidades de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y de *V. parahaemolyticus* no patogénicas (*ompW* y *tlh+*, respectivamente) y patogénicas (*ctxA*, *chxA* y *tdh+*, *trh+*, *tdh+/trh+*, *orf8+*, respectivamente) se cuantificaron según la metodología NMP-PCR reportada previamente (López-Hernández *et al.*, 2015a,b). El conteo del número de colonias se realizó a través del método de NMP con la serie de pruebas de tres tubos (95 % de límites de confianza). Los resultados se expresaron como NMP/g (USDA, 2008).

Estimación del riesgo

Para la ERM se determinaron inicialmente las preferencias del consumo de ostión en comensales de restaurantes, coctelerías y puestos ambulantes del área metropolitana Veracruz-Boca del Río y Mandinga, Veracruz mediante un muestreo aleatorio simple. El tamaño de la muestra se calculó mediante el método de la FAO a nivel de confiabilidad

de 95 %, una prevalencia estimada de la zoonosis en la zona del 50 % y m = margen de error de 5 % (FAO, 1990). La ERM promedio por consumo de ostión crudo contaminado con *V. parahaemolyticus* y aplicable a *V. cholerae* se estimó con el modelo de la FDA v.2005 (FDA, 2005) que expresa el riesgo cuantitativo como número de casos esperados/100,000 porciones (cocteles), considerando el consumo de 12 ostiones por persona como tamaño de porción. La predicción del riesgo promedio por porción (IC95 %) se calculó en base a la densidad media normalizada (\log_{10} NMP/g) de *V. cholerae ompW+* y *V. parahaemolyticus tlh+*, la temperatura media del aire o de refrigeración y el tiempo sin refrigeración del ostión (10 y 24 h), así como el porcentaje patogénico de *V. cholerae ctxA+* y *V. parahaemolyticus tdh+*, *trh+*, *tdh+/trh+* y *orf8+*. Para la estimación del riesgo se contempló el consumo de 12 ostiones por persona como tamaño de porción y el riesgo cuantitativo se expresó como el número de casos esperados/100,000 porciones o cocteles (FDA, 2005). Los resultados del riesgo cuantitativo se clasificaron mediante un sistema de puntuación logarítmica semicuantitativa (FAO/WHO, 2009); de acuerdo con este sistema establecido para la clasificación de la probabilidad, un riesgo alto (puntuación = 2) corresponde a la probabilidad de 10^{-1} a 10^{-2} , el riesgo medio (puntuación = 3) de 10^{-2} a 10^{-3} , un riesgo bajo (puntuación = 4) de 10^{-3} a 10^{-4} , y cuando es riesgo imposible (puntuación = NA) es considerado como 0.

De acuerdo con las prácticas locales de los ostricultores, al término de la extracción los ostiones son clasificados en las instalaciones de las cooperativas y almacenados a temperatura ambiente en costales para su posterior distribución desde las cooperativas hacia los diferentes sitios de venta como centrales de abasto, mercados, restaurantes y coctelerías. Los puestos ambulantes adquieren directamente el producto en las cooperativas, en centrales de abasto o en los mercados de pescadería en el área. Por ello, se estimó un tiempo de 10 h sin refrigeración para la cadena de distribución desde la cosecha y transportación hasta los restaurantes y coctelerías y de 24 h para puestos ambulantes, considerando la distancia desde el SLM hacia los puntos de venta seleccionados. Se consideró una temperatura de refrigeración de 7 °C para el ostión en restaurantes y coctelerías, señalada en la Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009 (NOM-242-SSA1, 2009) y una temperatura ambiente promedio de 25.3 °C para los consumidos en puestos ambulantes durante el período de estudio, mientras que para estimar el riesgo por consumir ostiones crudos cosechados del SLM durante el invierno, primavera, verano y otoño, se consideraron las temperaturas ambientales medias de 21.03, 25.56, 25.50 y 21.73 °C, respectivamente (CONAGUA, 2019).

Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre las densidades medias patogénicas y no patogénicas normalizadas a log₁₀ NMP/g de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en ostión fresco de la laguna y los cocteles de ostión colectados de los sitios de venta se evaluaron mediante análisis de varianza de una vía (*p* < 0.05), utilizando el programa estadístico Minitab v.19

(Minitab, Inc., State College PA). Las densidades de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* < 0.30 NMP/g (no detectable) fueron consideradas como 0.15 NMP/g para fines estadísticos. La frecuencia (%) de las respuestas de la encuesta aplicada se calculó con intervalo de confianza del 95 % con el programa en línea VassarStats.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidades de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en ostión del SLM y en cocteles de ostión de venta al público

Los ostiones colectados de los bancos del SLM presentaron densidades medias de *V. cholerae* no-O1/no-O139 no patogénicas (*ompW+*) y patogénicas (*chxA+*) altas (*p* > 0.5) durante el verano y el otoño, mientras que las densidades elevadas (*p* > 0.5) de *V. parahaemolyticus* no patogénicas (*tlh+*) y patogénicas (*tdh+*, *trh+*, *tdh+/trh+*) ocurrieron en primavera, verano y otoño y las de *orf8+* en invierno. En la venta al público, las densidades medias no patogénicas (*ompW+*) y patogénicas (*chxA+*) de *V. cholerae* no-O1/no-O139 en los cocteles de ostión crudo fueron más altas (*p* > 0.5) en los puestos ambulantes (0.69 NMP/g) y en los restaurantes (0.60 NMP/g), mientras que las de *V. parahaemolyticus* *tlh+* fueron altas (22.10 NMP/g) (*p* > 0.5) en restaurantes y las de *V. parahaemolyticus* *tdh+* fueron significativamente (*p* < 0.5) más altas (0.74 NMP/g) en coctelerías (Tabla 1).

Las densidades observadas en el ostión fresco procedente del SLM fueron más bajas que las encontradas en nuestros estudios anteriores en ostión recién cosechado del mismo sistema lagunar, con densidades de *V. cholerae* *ompW+* 1.45 log₁₀ NMP/g y de *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* 1.18 log₁₀ NMP/g durante el verano y otoño, respec-

Tabla 1. Densidades medias de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y *V. parahaemolyticus* no patogénicas (*ompW+* y *tlh+*) y patogénicas (*chxA+*, *tdh+*, *trh+*, *tdh+/trh+* y *orf8+*) en ostión fresco procedente del Sistema Lagunar Mandinga, Veracruz y en ostión crudo a la venta en la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río y Mandinga, Veracruz.

Table 1. Mean densities of *V. cholerae* no-O1/no-O139 and *V. parahaemolyticus* nonpathogenic (*ompW+* y *tlh+*) and pathogenic (*chxA+*, *tdh+*, *trh+*, *tdh+/trh+* y *orf8+*) in fresh oyster from Manding Lagoon System, Veracruz, and in raw oyster sold in the Metropolitan area Veracruz-Boca del Río and Mandinga, Veracruz.

Época/ Sitios de venta	<i>V. cholerae</i> NMP/g (log ₁₀ NMP/g)		<i>V. parahaemolyticus</i> NMP/g (log ₁₀ NMP/g)				
	<i>ompW+</i>	<i>chxA+</i>	<i>tlh+</i>	<i>tdh+</i>	<i>trh+</i>	<i>tdh+/trh+</i>	<i>orf8+</i>
Sistema Laguna Mandinga							
Invierno	1.13 (0.05)	1.13(0.05)	29.97 (1.48)	15.48 (1.19)	< 0.30 (- 0.82)	< 0.30 (- 0.82)	5.93 (0.77)
Primavera	1.41 (0.15)	< 0.30 (- 0.82)	187.17 (2.27)	27.58 (1.44)	1.32 (0.12)	0.50 (- 0.30)	0.23 (- 0.64)
Verano	2.77 (1.34)	1.15 (0.06)	52.88 (.72)	0.20 (- 0.70)	<0.30 (- 0.82)	< 0.30 (- 0.82)	0.20 (- 0.70)
Otoño	49.38 (1.69)	3.1 (0.49)	38.58 (1.59)	0.27 (- 0.57)	0.40 (- 0.40)	< 0.30 (- 0.82)	< 0.30 (- 0.82)
Zona metropolitana Veracruz-Boca del Río							
Restaurantes	0.60 (- 0.22)	0.60 (- 0.22)	22.10 (1.34)	< 0.30 (- 0.82)	ND	ND	ND
Coctelerías	0.30 (- 0.52)	0.30 (- 0.52)	0.74 (- 0.13)	0.74 (- 0.13)*	ND	ND	ND
Ambulantes	0.69 (- 0.16)	0.69 (- 0.16)	ND	ND	ND	ND	ND

* Medias estadísticamente diferentes (*p* < 0.05) entre épocas para Sistema Laguna Mandinga y entre sitios de venta para la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río; ND: No detectado.

tivamente, el cual representó el primer reporte en ostión del Golfo de México (López-Hernández *et al.*, 2015a), lo que indica que ya son re-emergentes de la zona. Similarmente, las densidades de *V. parahaemolyticus* *tlh+* y *tdh+* del presente estudio también fueron inferiores a las observadas en primavera (3.04 y 2.20 log₁₀ NMP/g, respectivamente) en el ostión fresco cosechado del SLM (López-Hernández *et al.*, 2015b). En diversas regiones costeras del mundo se ha reportado la influencia de la variación estacional en la densidad total y patogénica de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* relacionada con factores ambientales (temperatura, salinidad, clorofila *a*) (Martínez-Urtaza, 2016; Jutla *et al.*, 2011), lo cual podría explicar la estacionalidad de las infecciones, siendo más abundantes en los meses más cálidos.

En el presente estudio se observó que *V. cholerae* no-O1/no-O139 *ompW+* registró altas densidades ($p > 0.05$) en verano y otoño y *V. parahaemolyticus* *tlh+* en primavera y verano. La NOM-242-SSA1-2009 señala que *V. cholerae* O1 y no-O1 deben estar ausentes en 50 g de parte comestible de moluscos bivalvos, pero permite 10⁴ NMP/g de *V. parahaemolyticus* sin especificar toxinas. Cabe destacar que la presencia de cepas patogénicas detectadas en los ostiones en el presente estudio representa un riesgo a la salud para las personas sanas, pero principalmente para las inmunocomprometidas o con padecimientos crónico-degenerativos (diabetes, cirrosis, hipertensión) por el riesgo a contraer gastroenteritis grave o desarrollar septicemia. La edad, los problemas hepáticos y la inmunocompetencia, son los tres principales factores de riesgo de *V. parahaemolyticus* (Jiang *et al.*, 2018; Suresh *et al.*, 2019). La toxina termoestable directa (TDH), codificada por el gen *tdh* de *V. parahaemolyticus* es considerada, con la hemolisina TDH-relacionada (TRH), los factores de virulencia más importantes de este patógeno que presentan varias actividades biológicas, como hemolítica, enterotoxicidad, citotoxicidad y cardiotoxicidad (Jiang *et al.*, 2018). La abundancia del gen *chxA* encontrado en este estudio (100 % en invierno) es significativo, ya que codifica a la toxina Cholix A (ChxA), un factor de virulencia identificado principalmente en cepas no pandémicas, necesario para la virulencia del patógeno en la colonización, señalización bacteria-animal y supervivencia en el medio acuático (Jørgense *et al.*, 2008). Esta potente citotoxina con actividad específica ADP-ribosiltransferasa produce muerte celular y apoptosis en las células HeLa. Se ha reportado que *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* desarrolló septicemia, coagulación intravascular y fallo orgánico múltiple en un paciente infectado (Awasthi *et al.*, 2013).

En este contexto, es importante señalar que la variación en el número de cepas patogénicas de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y *V. parahaemolyticus* en el ostión debería determinarse antes de la cosecha debido a que representan un riesgo para la salud humana, especialmente porque no están contempladas en la regulación actual, por lo que la significancia epidemiológica de estos patógenos pudiera estar subestimada. De ahí la importancia de evaluar la relación *Vibrio* spp. -ambiente-ostión-salud para asegurar la inocuidad del alimento y reducir el riesgo a la salud por consumo del ostión.

Estimación del riesgo

Perfil del consumidor y preferencias de consumo

El análisis de las encuestas (403) indicó que la preferencia del consumo de ostión fue similar en las tres zonas de estudio: Veracruz 35.37 %, Boca del Río 35.37 % y Mandinga 29.27 %. El 94.39 % del ostión de venta en los restaurantes, coctelerías y puestos ambulantes muestreados procede del SLM. La mayor frecuencia de consumo de cocteles (12 ostiones) es de 1 a 2 veces al mes (88.78 %), en crudo (95.37 %) y principalmente durante primavera (37.56 %) y verano (56.83 %). El 21 % de los consumidores señaló haber contraído hepatitis o padecer de hipertensión y diabetes.

Estimación del riesgo por consumo de ostión crudo del SLM

El riesgo promedio por consumir ostión crudo del SLM sin refrigerar 10 h y contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* se estimó de 99 casos/100,000 porciones en verano, 1.5-6.6 veces mayor al calculado para las otras estaciones. Sin embargo, el riesgo promedio es clasificado como bajo. En contraste, el riesgo en ostiones con 24 h sin refrigeración durante el verano fue 42.4 veces mayor al calculado con 10 h sin refrigeración. No obstante, el riesgo por consumir ostiones con 24 h sin refrigeración en las estaciones de invierno, primavera y otoño se consideraría medio, mientras que en verano sería alto, ya que se esperarían 4.2 casos/100 porciones o cocteles de ostión consumidos. Respecto a *V. parahaemolyticus* (Tabla 3), el riesgo de enfermar por el consumo de ostión crudo sin refrigerar 10 h, fue alto en primavera para *tdh+* y para *tdh+/trh+* (4 casos/100 porciones), comparados al riesgo medio para *orf8+* (1.1×10^{-3} casos) en invierno. Similarmente, el riesgo promedio por consumir ostiones contaminados con *V. parahaemolyticus* *tdh+*, *trh+* y *tdh+/trh+* con 24 h sin refrigeración fue mayor en primavera, representando un riesgo alto con un estimado de 4 a 9 casos/100 porciones y para la cepa pandémica (*orf8+*) en invierno con 1 caso/100 porciones, riesgo 10 veces mayor al calculado con 10 h sin refrigeración en ambos casos (Tabla 2).

El riesgo promedio estimado por porción de 12 ostiones asociado con el consumo de ostión fresco del SLM con 10 horas sin refrigeración y contaminado con *V. parahaemolyticus* *tdh+* (2.20×10^{-2} casos) fue mayor al reportado en ostiones recién cosechados procedentes de la Costa del Golfo (Louisiana) (2.10×10^{-6}) en invierno por la FDA (2005), al de Brasil (3.6×10^{-3}) (Costa *et al.*, 2014) y del Golfo de México en primavera (1.45×10^{-4}) (WHO/FAO, 2011). Asimismo, fue mayor al reciente estudio de Cooksey (2021) que estimó el riesgo a enfermar por *V. parahaemolyticus* por el consumo de ostiones colectados por recreación en California, E.U.A. mediante un modelo de estimación del riesgo cuantitativo por la vía pre- y post- "del mar a la mesa", obteniendo un riesgo medio a enfermar por ración de ostiones recién cosechados contaminados con *V. parahaemolyticus* de 5.61×10^{-5} . El análisis resaltó el impacto en el riesgo de la concentración inicial de *V. parahaemolyticus* en los ostiones, el número de ostiones consumidos y la concentración de *V. parahaemolyti-*

Tabla 3. Predicción del Riesgo promedio (IC_{95%}) asociado con el consumo de ostión fresco del Sistema Lagunar Mandinga, Veracruz contaminado con *V. parahaemolyticus* *tdh+*, *tdh+/trh+* y *orf8+*.

Table 3. Average risk assessment (IC_{95%}) associated with consumption of fresh oyster from Mandinga Lagoon System, Veracruz, contaminated with *V. parahaemolyticus* *tdh+*, *tdh+/trh+* y *orf8+*.

Época	Media log NMP/g	Casos esperados por c/100.000 porciones* (IC _{95%})			
		<i>tdh+</i>	<i>trh+</i>	<i>tdh+/trh+</i>	<i>orf8+</i>
Riesgo calculado para ostiones con 10 h sin refrigeración					
Invierno	1.48	280 (22 - 3,500)	0.96 (0.076 - 12)	0.96 (0.076 - 12)	110 (8.4 - 130)
Primavera	2.27	2,200 (180 - 28,000)	110 (8.5 - 1,300)	4,000 (320 - 51,000)	18 (1.5 - 230)
Verano	1.72	7.9 (0.24 - 38)	7.9 (0.62 - 99)	7.9 (0.62 - 99)	16 (1.3 - 200)
Otoño	1.59	5.9 (0.47 - 74)	8.8 (0.7 - 110)	1.5 (0.12 - 19)	1.5 (0.12 - 19)
Riesgo calculado para ostiones con 24 h sin refrigeración					
Invierno	1.48	2,800 (220 - 35,000)	9.8 (0.77 - 120)	9.8 (0.77 - 120)	1,100 (84 - 13,000)
Primavera	2.27	8,600 (690 - 110,000)	4,600 (370 - 59,000)	9,100 (730 - 120,000)	790 (64 - 10,000)
Verano	1.72	330 (10 - 1,600)	330 (26 - 4,200)	330 (26 - 4,200)	690 (54 - 8,600)
Otoño	1.59	74 (5.8 - 920)	110 (8.7 - 1,400)	19 (1.5 - 240)	19 (1.5 - 240)

* Porción: 12 ostiones (200 g de carne + líquido intravalvar).

Tabla 2. Predicción del Riesgo promedio (IC_{95%}) asociado con el consumo de ostión fresco del Sistema Lagunar Mandinga, Veracruz, contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+*.

Table 2. Average risk assessment (IC_{95%}) associated with consumption of fresh oyster from Mandinga Lagoon System, Veracruz, contaminated with *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+*.

Época	Media log NMP/g	Casos esperados por c/100.000 porciones* (IC _{95%})	
		Ostiones con 10 h sin refrigeración	Ostiones con 24 h sin refrigeración
Invierno	0.05	22 (1.7 - 270)	220 (17 - 2,700)
Primavera	0.15	15 (1.2 - 190)	630 (52 - 8,200)
Verano	1.34	99 (7.9 - 1,200)	4,200 (330 - 53,000)
Otoño	1.69	67 (5.3 - 840)	850 (66 - 10,000)

* Porción: 12 ostiones (200 g de carne + líquido intravalvar).

cus patógenicos, comparable a lo encontrado en el presente estudio. El modelo de la FDA establece como riesgo aceptable estándar un caso/100,000 porciones (1 × 10⁻⁵). Se observa en el Golfo de México un riesgo promedio bajo, pero alto para las costas de Veracruz, México, probablemente debido a la diferencia del porcentaje patógeno y las condiciones ambientales locales.

Ndraha y Hsiao (2019) estimaron el riesgo por *V. parahaemolyticus* asociado con el consumo de ostión crudo en Taiwán y encontraron que el riesgo en verano era 0.5, 1.0 y 3.1 veces mayor que en otoño, primavera e invierno, respectivamente. Lo anterior difiere a lo observado en el presente estudio, ya que el riesgo por consumo de ostión fresco de la laguna durante la primavera fue 278.48 veces mayor que en verano (Tabla 3). Estos resultados son comparables a los encontrados por Jong-Kyung *et al.* (2018) quienes estimaron un riesgo promedio de enfermar por consumo de una ración

de ostión crudo recién extraído y contaminado con *V. parahaemolyticus* de 5.71 × 10⁻⁵ durante los meses de primavera. Los principales factores que influyeron en el riesgo estimado fueron la concentración inicial de *V. parahaemolyticus* (log NPM/g), la cantidad de ostiones consumidos, prevalencia de las cepas patógenicas, la temperatura y el tiempo de exposición.

Estimación del riesgo por consumo de cocteles de ostión crudo de venta al público

El riesgo promedio asociado con el consumo de cocteles de ostión crudo con 10 h sin refrigeración de venta en restaurantes y coctelerías contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* fue menor a 1 caso/100,000 porciones; sin embargo, el riesgo por consumir cocteles en puestos ambulantes sería alto (2.5 casos/100 cocteles). De igual forma, el consumo de 24 ostiones por porción representaría un riesgo alto (8.20 × 10⁻²). Cabe mencionar que si bien el 100 % de las muestras presentó *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* en los tres sitios de venta (100 % de porcentaje patógeno), el riesgo promedio sería mayor para las personas que consumen en puestos ambulantes debido a la temperatura ambiente promedio considerada en el modelo. *V. parahaemolyticus* *tdh+* se detectó en los cocteles de venta en restaurantes y coctelerías con un porcentaje patógeno de 0.68 y 100 %, respectivamente, estimándose un riesgo promedio de 0.21 y 1.10 × 10⁻⁵ casos con 12 ostiones por porción, respectivamente y de 0.43 y 2.10 × 10⁻⁵, respectivamente, con una porción de 24 ostiones, representando ambos un riesgo bajo. *V. parahaemolyticus* no se detectó en ostiones de puestos ambulantes, considerado como riesgo imposible (Tabla 4).

El riesgo estimado en el presente estudio fue mayor al reportado por Ding *et al.* (2022), cuyos resultados mostraron que el riesgo a enfermar por persona por año causado por

Tabla 4. Predicción del Riesgo promedio por porción ($IC_{95\%}$) asociado con el consumo de *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* y *V. parahaemolyticus* *tdh+* en ostión crudo vendido en restaurantes, coctelerías y vendedores ambulantes en la zona metropolitana Veracruz-Boca del Río y Mandinga, Veracruz.

Table 4. Average risk assessment ($IC_{95\%}$) associated with consumption of *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* y *V. parahaemolyticus* *tdh+* in raw oyster sold in restaurants, cocktail bars, and street vendors in the Metropolitan area Veracruz-Boca del Río and Mandinga, Veracruz.

Vibrio en ostión/ sitios de venta	Media del \log_{10} (NMP/g)	% Patogénico	Temperatura de refrigeración (°C)	Tiempo máximo sin refrigerar (h)	Casos esperados por c/100,000 porciones * ($IC_{95\%}$)	Casos esperados por c/100,000 porciones** ($IC_{95\%}$)
<i>V. cholerae</i> (<i>chxA+</i>)						
Restaurantes	- 0.22	100.00	7.0	10	0.87 (0.069 - 11)	1.70 (0.13 - 21)
Coctelerías	- 0.52	100.00	7.0	10	0.44 (0.035 - 5.5)	0.87 (0.069 - 11)
Ambulantes	- 0.16	100.00	25.3	24	2,500.00 (200 - 31,000)	8,200.00 (650 - 100,000)
<i>V. parahaemolyticus</i> (<i>tdh+</i>)						
Restaurantes	1.34	0.68	7.0	10	0.21 (0.017 - 2.7)	0.43 (0.034 - 5.4)
Coctelerías	- 0.13	100.00	7.0	10	1.10 (0.085 - 13)	2.10 (0.17 - 27)
Ambulantes	ND	ND	7.0	24	ND	ND

ND: No detectado; * Porción: 12 ostiones (200 g de carne + líquido intravalvar); ** Porción: 24 ostiones (400 g de carne + líquido intravalvar).

V. parahaemolyticus debido al consumo de mariscos crudos comprados y cocidos en casa en una ciudad costera del este de China era de 3.49×10^{-5} . Cabe señalar que observaron diferencias estacionales ya que el máximo riesgo ocurrió en verano (4.81×10^{-6}) y el mínimo en invierno (2.27×10^{-7}), mientras que en el presente estudio el máximo riesgo se presentó en primavera (2.20×10^{-2}) y en invierno (2.80×10^{-3}). Costa *et al.* (2014), reportaron que la densidad de *V. parahaemolyticus* en ostiones crudos es mayor en el punto de consumo que en el de cosecha, lo cual difiere de lo reportado en el presente estudio, ya que las densidades de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en los ostiones de venta al público fueron menores a las observadas en los ostiones frescos de la laguna, excepto para *V. parahaemolyticus* *tlh+* (22.10 NMP/g), estos valores pudieran deberse al efecto de la temperatura de refrigeración en los restaurantes y coctelerías como reporta Gooch *et al.* (2002). Sin embargo, en verano, el riesgo promedio por porción por consumir ostión fresco del SLM contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* (10 h sin refrigeración) sería bajo (9.9×10^{-4}), pero alto en puestos ambulantes (2.5×10^{-2}), posiblemente debido al porcentaje patogénico (5.28 y 100 %, respectivamente) y a la temperatura ambiente promedio de distribución y conservación del ostión durante el estudio. En contraste, en el caso de *V. parahaemolyticus* *tdh+*, se presentaría un riesgo alto en primavera (2.2×10^{-2}) por consumir ostiones crudos frescos del SLM, mientras que el riesgo sería bajo por consumir ostiones crudos en las coctelerías (1.1×10^{-5}) a pesar de los porcentajes patogénicos de 14.74 y 100 %, respectivamente. No se encontró en la literatura consultada evaluaciones de riesgo del consumo de cocteles de ostión en sitios de venta para *V. cholerae* no-O1/no-O139 *chxA+* y *V. parahaemolyticus* *tdh+*.

Desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria, la presencia de cepas de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y *V. parahaemolyticus* con genes patogénicos plantea importantes

problemas de salud. Nuestros resultados son preocupantes debido a que el porcentaje patogénico en otras áreas ambientales raramente excede el 3 % (Rehnstam-Holm *et al.*, 2014). Es importante señalar que la predicción del riesgo a la salud asociado al consumo de ostión crudo contaminado con cepas patogénicas es de naturaleza dinámica por estar influenciado por diversas variables, entre ellas el origen de la muestra, las densidades, el porcentaje de cepas patogénicas, el consumo y el consumidor (Dickinson *et al.*, 2013; Love *et al.*, 2020). Asimismo, puede diferir con el método de producción y las prácticas de manejo de los productores. De ahí la importancia de estimar el riesgo a la salud para identificar las posibles intervenciones y reducir o eliminar el riesgo (Pardío *et al.*, 2016). En este sentido, anualmente se consumen aproximadamente 22,162 t de ostión crudo en el estado de Veracruz, con un consumo *per cápita* de 0.43 kg (CONAPESCA, 2018). El SLM es una de las lagunas estuarinas costeras económicamente importante por la mayor producción de ostión, consumo y recreación. El problema más grave que presenta es la cantidad de descargas de drenaje provenientes de los asentamientos humanos a su alrededor, el incremento en la densidad de la población y la creciente actividad turística (Lara-Domínguez *et al.*, 2009). Los ostiones del SLM se distribuyen a hoteles, restaurantes, coctelerías y mercados en la zona Metropolitana Veracruz – Boca del Río y enviados a Cancún, Monterrey y la Ciudad de México al Mercado de la Viga. De acuerdo a la encuesta, el 95.37 % de los consumidores acostumbra a consumir un coctel de ostiones 1 a 2 veces al mes (88.78 %), principalmente en primavera y verano, que correspondieron a los meses donde se estimó un mayor riesgo. Si el consumir ≥ 2 cocteles al mes es considerado un riesgo (Jutla *et al.*, 2011), el riesgo a enfermar de la población es alto.

Cabe mencionar que la mayor frecuencia de consumo se encontró en hombres (65.1 %), cercano al 73.6 % encontra-

do en Trinidad y Tobago (Laloo *et al.*, 2000). Desde la perspectiva de salud pública, el consumo de estos ostiones debería ser considerado como un peligro potencial a la salud. En México y varios países de Latinoamérica, la diarrea aguda de etiología infecciosa, fundamentalmente de origen por exposición a alimentos y agua contaminados, es un problema de salud pública debido a las altas tasas reportadas anualmente de morbilidad y mortalidad. En México, *Vibrio* spp. (1 %) se ha aislado en materia fecal de pacientes ambulatorios (614 muestras), niños, adolescentes y adultos, con diarrea aguda en Veracruz, Villahermosa, Mérida y Tuxtla Gutiérrez. Se ha asociado con factores como condiciones climáticas y socioeconómicas, así como el entorno sanitario, especialmente para la población vulnerable (Novoa-Farias *et al.*, 2017).

No se encontraron reportes de evaluaciones del riesgo en sitios de venta ya que la mayoría de las investigaciones reportadas tienen un enfoque sanitario y epidemiológico, lo que destaca la importancia y aporte del presente estudio que sería el primer reporte en México. Los hallazgos de esta investigación representan un punto de referencia para aplicar las medidas de control apropiadas y/o reglamentarias tales como la vigilancia de la cadena fría y la normalización de los procesos de desinfección avanzada del ostión después de su extracción. Si las medidas para mitigar estos patógenos no conducen a la reducción del riesgo y el escenario del cambio climático empeora, las predicciones del riesgo a enfermar podrían incrementarse. En consecuencia, es necesario que el consumidor sea concientizado de que una enfermedad de origen alimentario no debe ser considerada como una enfermedad menor debido a la presencia de patógenos en el alimento.

CONCLUSIONES

La presencia de cepas patogénicas de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y de *V. parahaemolyticus* en el ostión fresco colectado del SLM se observa principalmente en verano y primavera, así como en cocteles expendidos en sitios de venta de la zona Metropolitana Veracruz – Boca del Río. Consumir un coctel de ostión crudo sin refrigerar (10 h) contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *ctxA+* y *V. parahaemolyticus* *tdh+* en puestos ambulantes y en coctelerías, respectivamente, representa un riesgo mayor.

Las estimaciones del riesgo de consumir ostiones crudos recién cosechados indican que el porcentaje patogénico, el sitio de venta, la época estacional, el tiempo que permanece el ostión sin refrigerar y la temperatura en el almacenamiento postcosecha, influyen en la probabilidad de enfermar. Los valores del riesgo estimado sugieren que el riesgo a enfermar por consumo de ostión contaminado con ambos patógenos estuvo por arriba de la referencia establecida por la FDA. Los hallazgos obtenidos en esta investigación representan un punto de referencia para aplicar medidas de control apropiadas y/o reglamentarias tales como la vigilancia de la cadena fría y la normalización de los procesos de desinfección avanzada del ostión después de su extracción que permitirá prevenir brotes de enfermedades de origen

alimentario. Si las medidas para mitigar estos patógenos no conducen a la reducción del riesgo y el escenario del cambio climático empeora, las predicciones del riesgo a enfermar podrían incrementarse. Por lo anterior, se puede considerar a este alimento como inadecuado para el consumo de la población debido al riesgo potencial a la salud que representan ambos patógenos, por lo que es necesario informar al consumidor a fin de que considere modificar su preferencia de consumo hacia alimentos más seguros.

REFERENCIAS

- Awasthi, S., Asakura, M., Chowdhury, N., Neogi, S.B., Hinenoya, A., Golbar, H.M., Yamate, J., Arakawa, E., Tada, T. y Yamasaki, S. 2013. Novel Cholera toxin variants, ASP-ribosylating toxins in *Vibrio cholerae* non-O1/non-139 strains, and their pathogenicity. *Infection Immunology*. 81(2): 531-541. <https://doi.org/10.1128/IAI.00982-12>
- Baddam, R., Sarker, N., Ahmed, D., Mazumder, R., Abdullah, A., Morshed, R., Hussain, A., Begum, S., Shahrin, L., Khan, A., Islam, S., Ahmed, T., Alam, M., Clemens, J. y Ahmed, N. 2020. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 11(1): e3339-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03339-19>
- Baker-Austin, C., Oliver, J., Alam, M., Ali, A., Waldor, M., Qadri, F. y Martínez-Urtaza, J. 2018. *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*. 4(1): 1-19. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0005-8>
- Boore, A., Iwamoto, M., Mintz, E., Yu, P. y Chaignat, C. 2011. Cólera y otras enfermedades causadas por vibriones. En: El control de las enfermedades transmisibles. D.L. Heymann (ed.), pp 77-91. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Betanzos-Vega, A., Lodeiros, C., Espinosa-Sáez, J. y Mazón-Suástegui, J.M. 2016. Identificación del ostión americano *Crassostrea virginica* (Mollusca: Bivalvia: Ostreidae) como recurso natural en las Antillas Mayores: Cuba. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87(4): 1342-1347. <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/1176/1/PUB-ARTICULO-3490.PDF>
- Cannon, R.M. y Roe, R.T. 1982. *Livestock Disease Surveys: A Field Manual for Veterinarians*. Government Publishing Service. Canberra, Australia.
- Comisión Nacional del Agua. Resúmenes mensuales de temperaturas y lluvias. [Consultado 6 diciembre 2021] 2019. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. [Consultado 6 diciembre 2021] 2018. Disponible en: <http://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuacultura-y-pesca>
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Dirección General de Planeación, Programación y Evaluación. [Consultado 3 enero 2022] 2021. Disponible en: http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_PESCA03_02&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREANIO=*
- Cooksey, E. 2021. The world is your oyster: A multidisciplinary approach to evaluate the spatial distribution, occurrence, and risk of *V. parahaemolyticus* in oysters and water. Tesis Doctoral. The University of Arizona, Tucson.

- Costa, S., P. del S., Destro, M.T., Franco, B.D.G.M. y Landgraf, M. 2014. A quantitative risk assessment model for *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters in Sao Paulo State, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*. 180: 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.008>
- Dickinson, G., Lim, K. y Jiang, S.C 2013. Quantitative microbial risk assessment of pathogenic *Vibrios* in marine recreational waters of Southern California. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(1): 294-302. <https://doi.org/10.1128/AEM.02674-12>
- Ding, G., Zhao, L., Xu, J., Cheng, J., Cai, Y., Du, H., Xiao, G., y Zhao, F. 2022. Quantitative risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish from retail to consumption in coastal city of East China. *Journal of Food Protection*. 85(9): 1320-1328. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-238>
- FAO. 1990. Conducting small-scale nutrition surveys: A field manual. *Nutrition in Agriculture No. 5. Policy and Nutrition Division*. Rome, Italy.
- FAO/WHO. 2009. Risk Characterization of Microbiological Hazards in Food: Guidelines. *Microbiological Risk Assessment Series 17*. Rome, Italy.
- FDA. 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Department of Health and Human Services, College Park, Maryland, United States.
- Guillod, C., Ghitti, F. y Mainett, C. 2019. *Vibrio parahaemolyticus* induced cellulitis and septic shock after a sea beach holiday in a patient with leg ulcers. *Case Reports in Dermatology*. 11(1): 94-100. <https://doi.org/10.1159/000499478>
- Guin, S., Saravanan, M., Chowdhury, G., Pazhani, G., Ramamurthy, T. y Das, S. 2019. Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in diarrhoeal patients, fish and aquatic environments and their potential for inter-source transmission. *Heliyon*. 5(5): e01743. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01743>
- Gooch, J.A., DePaola, A., Bower, J. y Marshall, D.L. 2002. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oyster. *Journal of Food Protection*. 65(6): 970-974. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.6.970>
- Hernández-Mendoza, D.M., San Martín-del Ángel, P., Jiménez-Torres, C. y Hernández-Herrera, R.I. 2021. Monitoreo de *Vibrio* spp. en ostiones *Crassostrea virginica* de las lagunas de Tamiahua y Tampamachoco, Veracruz, México. *Biológico Agropecuario Tuxpan*. 9(1): 122-141. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v9i1.346>
- Instituto Nacional de Estadística Geografía. Espacio y Datos de México. [Consultado 7 abril 2022] 2022. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/espaciodydatos/default.aspx?ag=18>
- Jiang, F., Bi, R., Deng, L., Kang, H., Gu, B. y Ma, P. 2018. Virulence-associated genes and molecular characteristics of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* isolated from hepatitis B cirrhosis patients in China. *International Journal of Infectious Diseases*. 74: 117-122. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.06.021>
- Jong-Kyung, L., Ki-Sun, Y., Hyang, L. y Hyun-Jung, K. 2018. A risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* for consumption of shucked raw oyster in Korea. *Journal of Food Hygiene and Safety* 33(4): 48-254. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2018.33.4.248>
- Jørgense, R., Purdy, A.E., Fieldhouse, R.J., Kimber, M.S., Bartlett, D.H. y Merrill, A.R. 2008. Cholix toxin, a novel ADP-ribosylating factor from *Vibrio cholerae*. *Journal of Biological Chemistry*. 283(16): 10671-10678. <https://doi.org/10.1074/jbc.M710008200>
- Jutla, A.S., Akanda, A.S., Griffiths, J.K., Colwell, R. y Islam, S. 2011. Warming oceans, phytoplankton, and river discharge: Implications for cholera outbreaks. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 85(2): 303-308. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0181>
- Laloo, S., Rampersad, F.S., La Borde, A., Maharaj, K., Sookhai, L., Teelucksingh, J.D., Reid, S., McDougll, L. y Adesiyun A.A. 2000. Bacteriological quality of raw oysters in Trinidad and the attitudes, knowledge and perceptions of the public about its consumption. *International Journal of Food Microbiology*. 54(1-2): 99-107. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00161-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00161-0)
- Lara-Domínguez, A.L., López-Portillo, J., Martínez-González, R. y Vázquez-Lule, A.D. 2009. Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica: Caracterización del sitio de manglar Mandinga. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México, D.F.
- Love, D.C., Kuehl, L.M., Lane, R.M., Fry, J.P., Harding, J., Davis, B.J.K., Clancy, K. y Hudson, B. 2020. Performance of cold chains and modeled growth of *Vibrio parahaemolyticus* for farmed oysters distributed in the United States and internationally. *International Journal of Food Microbiology*. 313: 108378. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108378>
- López-Hernández, K.M., Pardío-Sedas, V., Lizárraga-Partida, L., Williams, J.J., Martínez-Herrera, D., Flores-Primo, A. y Uscanga-Serrano, R. 2015a. Seasonal abundance of *Vibrio cholerae* non O1/O139 in oysters harvested in a coastal lagoon of Mexico's Gulf coast. *Food Control*. 53: 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.004>
- López-Hernández, K.M., Pardío-Sedas, V.T., Lizárraga-Partida, L., Williams, J.J., Martínez-Herrera, D., Flores-Primo, A., Uscanga-Serrano, R. y Rendón-Castro, K. 2015b. Environmental parameters influence on the dynamics of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in *Crassostrea virginica* harvested from Mexico's Gulf coast. *Marine Pollution Bulletin*. 91(1): 317-329. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.015>
- Martinez-Urtaza, J., Powell, A., Jansa, J., Castro, R.J.L., Paz, M.O., García, C.M., Zamora, López M.J., Pousa, A., Faraldo, V.M.J., Trinanes, J., Hervio-Heath, D., Keay, W., Bayley, A., Hartnell, R. y Baker-Austin, C. 2016. Epidemiological investigation of a foodborne outbreak in Spain associated with U.S. West Coast genotypes of *Vibrio parahaemolyticus*. *SpringerPlus*. 5: 87. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1728-1>
- Mayorga, C.J.C., Brito-Manzano, N.P., Vargas-Falcón, P.M. y Perera, G.M.A. 2021. Aspectos de la dinámica poblacional del ostión del ostión *Crassostrea virginica* en tres lagunas costeras de Tabasco, México. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. 4(4): 6003-6011. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-093>
- Ndraha, N. y Hsiao, H. 2019. The risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters in Taiwan under the seasonal variations, time horizons, and climate scenarios. *Food Control*. 102: 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.020>
- Ndraha, N. y Hsiao H. 2021. Influence of climatic factors on the temporal occurrence and distribution of total and

- pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oyster culture environments in Taiwan. *Food Microbiology* 98: 103765. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103765>
- Novoa-Farías, O., Frati-Murani, A.C., Peredo, M.A., Flores-Juárez, S., Novoa-García, O., Galicia-Tapia, J. y Romero-Carpio, C.E. 2017. Susceptibilidad a la rifaximina y otros antimicrobianos de bacterias aisladas en pacientes con infecciones gastrointestinales agudas en el sureste de México. *Revista de Gastroenterología de México*. 82(3): 226-233. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2016.10.006>
- Ortiz-Jiménez, M.A. 2018. Quantitative evaluation of the risk of *Vibrio parahaemolyticus* through consumption of raw oysters (*Crassostrea corteziensis*) in Tepic, Mexico, under the RCP2.6 and RCP8.5 climate scenarios at different time horizons. *Food Research International*. 111: 111-119. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.012>
- Pardío, S.V.T. 2007. Influence of environmental factors on the presence of *Vibrio cholerae* in the marine environment: a climate link. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 1(3): 224-241. <https://doi.org/10.3855/jidc.359>
- Pardío, S.V.T., López, H.K.M. y Flores, P.A. 2016. Quantitative Risk Assessment in Seafood. En: *Handbook of Seafood: Quality and Safety Maintenance and Applications*. I. Yüksel, E. Esteves y A. Diler (ed.), pp 209-222. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, USA.
- Norma Oficial Mexicana NMX-FF-001-SCFI-2011 Productos de la pesca - ostión en concha vivo, y pulpa envasada - refrigerada (Litoral Atlántico) – Especificaciones. [Consultado 4 diciembre 2021] 2011. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx/>
- Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. [Consultado 4 diciembre 2021] 2009. Disponible en: <http://portal.salud.gob.mx>
- Rehinstam-Holm, A., Atnur, V., y Godhe, A. 2014. Defining the niche of *Vibrio parahaemolyticus* during pre- and post-monsoon seasons in the coastal Arabian Sea. *Microbial Ecology*. 67(1): 57-65. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0311-3>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ostras y ostiones, fuente de vitaminas y minerales que está disponible para su consumo la mayor parte del año. [Consultado 16 agosto 2022] 2021. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/>
- Secretaría de Salud. Listado nominal de resultados. Veracruz, México. [Consultado 4 diciembre 2021] 2016. Disponible en: <https://www.gob.mx/>
- Secretaría de Salud. Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Dirección General de Epidemiología. [Consultado 4 diciembre 2021] 2019. Disponible en: <https://www.gob.mx>
- Suresh, S., Karanth, P.A., Prabbakara, A.P., Akash, S.K., Maiti, B., Karunasagar, I., Karunasagar, I. y Premanath, R. 2019. Diabetic foot ulcer caused by *Vibrio parahaemolyticus*: Two case reports. *Clinical Microbiology Newsletter*. 41(11): 101-102. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2019.01.002>
- United States Department of Agriculture. Laboratory Quality Assurance Division (LQAD). Most Probable Number Procedure and Tables. MLG Appendix 2.03. [Consultado 25 septiembre 2021] 2008. Disponible en: http://www.foodriskhub.com/images/wbans_1268803319/MLG_Appendix_2_03.pdf
- WHO/FAO. 2011. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Interpretative summary and technical report. Rome, Italy.
- Yoon, S.H. y Waters, C.M. 2019. *Vibrio cholerae*. *Trends in Microbiology*. 27(9): 806-807. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.03.005>
- Zhang, X., Lu, Y., Qian, H., Liu, G., Mei, Y., Jin, F., Xia, W. y Ni, F. 2020. Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* (NOVC) bacteremia: case report and literature review, 2015-2019. *Infection and Drug Resistance*. 13: 1009-1016. <https://doi.org/10.2147/IDR.S245806>