

Contaminación por Bacterias Patógenas en Tilapia (*Oreochromis spp*) en Mercados y Supermercados de la Ciudad de Puebla

Jessica Y. Cornejo-Huerta¹, Edith A. Marín-Ramos², Dra. Lydia María Pérez-Díaz³, Dr. Elie Girgir El Kassis⁴, Dra. Laura Contreras-Mioni⁵, Dra. Verónica Rodríguez-Soria⁶

Resumen: La acuicultura según la FAO, se define como el cultivo de organismos acuáticos, incluyendo peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas que implica la intervención del hombre en el proceso de cría. La tilapia (*Oreochromis spp*) es una de las especies más cultivadas en México, las buenas prácticas implementadas en los productos pesqueros en cuestión de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria son factores importantes que se deben aplicar para garantizar la calidad de los productos que se consumen en el país, sin embargo pueden llegar a contaminarse por una mala manipulación o condiciones higiénicas defectuosas, que contribuyen en los casos de intoxicación alimentaria bacteriana en todo el territorio nacional. En este trabajo se realizó un estudio microbiológico para determinar la presencia de carga bacteriana en muestras de tilapia utilizando el método de Kirby-Bauer e identificar las especies aisladas por espectrometría de masas MALDI-TOF. Se emplearon 20 filetes de tilapia sellados al alto vacío provenientes de 3 mercados locales y 2 sucursales de cadenas comerciales alrededor de la ciudad de Puebla. Se realizó el aislamiento de microorganismos mediante el cultivo en medios selectivos y diferenciales MacConkey (Mc) y sal manitol (SM), medio de enriquecimiento gelosa sangre de carnero (GSC) y medio selectivo (hongos) agar papa dextrosa (PDA), obteniendo el aislamiento de bacilos Gram negativos, cocos Gram positivos, bacterias de crecimiento fastidioso, así como hongos y levaduras. Se lograron identificar 13 especies bacterias de las cuales el 15.4% representan bacterias no patógenas, 46.2% bacterias patógenas de importancia clínica incluyendo un patógeno zoonótico y el 38.5% son bacterias que se consideran patógenas oportunistas y de rara aparición en el aislamiento clínico. A pesar de que las bacterias identificadas son consideradas patógenas, la carga bacteriana en la que se encontraron no representa un peligro para el consumidor, por lo que la industria de la tilapia presenta buenas prácticas de manipulación y condiciones higiénicas adecuadas asegurando la salud de los consumidores.

Palabras clave: Acuicultura, Tilapia, Aislamiento microbiano, Espectrometría de masas MALDI-TOF.

Introducción

Antecedentes

La acuicultura según la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) se define como el cultivo de organismos acuáticos, incluyendo peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas que implica la intervención del hombre en el proceso de cría para aumentar la producción en operaciones como la siembra, la alimentación, entre otros (FAO, 2018). Las buenas prácticas de producción en productos acuícolas de acuerdo con los manuales del SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad, y Calidad Agroalimentaria) y el Codex Alimentarius se refiere a las condiciones que se deben cumplir en una unidad acuícola para reducir los riesgos de contaminación y garantizar la calidad e inocuidad del producto (Rodríguez et al., 2014). La contaminación de los alimentos ocurre cuando existe la presencia de cualquier materia anormal que produzca una pérdida de la calidad del producto, estos contaminantes se dividen en físicos, químicos y biológicos. Los contaminantes biológicos pueden ser resultado de un mal manejo por parte del personal que manipula los alimentos, y estos errores del manejo pueden encontrarse durante la obtención de los productos, preparación o almacenamiento (Fernández et al., 2021). La tilapia, de acuerdo a los datos proporcionados por la INAPESCA (Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura) es una de las principales especies cultivadas en México: su cultivo se realiza prácticamente en toda la república a excepción de Aguascalientes y la CDMX, esto debido a la facilidad de adaptación a altas densidades, capacidad para sobrevivir a diferentes salinidades

¹ Jessica Y. Cornejo-Huerta es alumna de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México. jessicaycornejoh@gmail.com

² Edith A. Marín-Ramos es alumna de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México. belka.veterinaria@gmail.com

³ La Dra. Lydia María Pérez Díaz es profesora de la Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mex. lidiaperez@correo.buap.mx

⁴ El Dr. Elie Girgir El Kassis es Profesor-Investigador de la Facultad de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México. eliegirgis.elkassis@upaep.mx

⁵ La Dra. Laura Contreras Mioni es decana de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México. laura.contreras@upaep.mx

⁶ La Dra. Verónica Rodríguez-Soria es Profesor-Investigador de la Facultad de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Puebla, Puebla, México, veronica.rodriguez@upaep.mx (autor corresponsal)

y su rápido crecimiento (Hoffmann et al., 2005). Por lo general el pescado está libre de microorganismos patógenos intrínsecos, pero pueden llegar a contaminarse por una mala manipulación o condiciones higiénicas defectuosas (Kumar & Sanjay 2014).

Se han descrito casos de intoxicaciones alimentarias causadas por microorganismos como resultado de malas prácticas en el manejo del pescado. De acuerdo con Leyva-López (2020) se tiende a encontrar con frecuencia intoxicaciones alimentarias de tipo bacterianas por el consumo de pescado con una cocción parcial como son tradicionales en las zonas de Mazatlán; en Mazatlán se reportó que en un hospital privado durante el periodo de semana santa entre los años 2014-2018 los pacientes que consumieron pescados y mariscos el 84,6% se diagnosticaron con gastroenteritis bacteriana aguda atribuyendo los resultados obtenidos a la falta de regulaciones y prácticas sanitarias efectivas. Hace falta estudios que fundamenten, documenten y demuestren las consecuencias negativas para el consumidor de las malas prácticas de higiene en este tipo de pescado.

En el diario oficial de la federación se encuentran dos normas que marcan los parámetros de sanidad de los productos pesqueros para el consumo humano: la NOM-027-SSA1-1993: Productos y servicios; Productos de pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados; Especificaciones sanitarias y métodos de prueba; y NOM-242-SSA1-2009: Bienes y servicios; productos de la pesca; Pescados fresco-refrigerados y congelados; Especificaciones sanitarias. Ambas normas cuentan con un apartado microbiológico donde se marcan los límites máximos permitidos para coliformes fecales y/o *Escherichia coli* 400 UFC/g, *Staphylococcus aureus* 1000 UFC/g, *Vibrio parahaemolyticus* 10⁴ UFC/g y las demás bacterias patógenas *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* y *Salmonella spp* deben estar ausentes de los productos frescos, refrigerados y congelados. Estas normas se aplican en establecimientos que se dedican a la captura de moluscos, embarcaciones de pesca y recolección, así como establecimientos donde se procesan los peces frescos, refrigerados y congelados (SEGOB, 1994), (SEGOB, 2011).

En el anuario de morbilidad nacional del 2021 se reportó que durante el año hubo 21,865 casos nuevos de “intoxicación alimentaria bacteriana” en todo el territorio nacional de los cuales el estado de Puebla presentó 214. En este mismo anuario se encuentra que las “infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas” se presentan como el segundo lugar de las 20 principales causas de enfermedad en la población general de México con 429,948 casos reportados durante el año (Secretaría de salud, 1984-2019). Estos datos resaltan la presencia de un grave problema de salud pública que se puede prevenir con la implementación de buenas prácticas de higiene. Considerando que la tilapia es uno de los principales pescados consumidos en México es importante investigar la presencia de bacterias patógenas y su posible relación con las buenas prácticas de manipulación dependientes de la cadena de distribución en mercados y supermercados.

Objetivo

El objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia de bacterias patógenas en filetes de *Oreochromis spp* (tilapia) obtenidas de los mercados y supermercados de la ciudad de Puebla por medio de cultivos bacteriológicos y espectrometría de masas, para conocer la inocuidad de este producto.

Metodología

Participantes y muestreo

La investigación realizada fue de tipo experimental, prospectivo con un diseño descriptivo transversal. Se evaluaron 5 sucursales de las cuales 2 son supermercados y 3 mercados locales de cadenas comerciales alrededor de la ciudad de Puebla. La población evaluada son 20 filetes de tilapia (*Oreochromis spp*) sellados al alto vacío (cuatro filetes de cada mercado). Estos mercados se localizan en las colonias del Centro Histórico de Puebla (Mercado A y B) y Bugambilias (Mercado C) mientras que los supermercados en el Barrio Santiago (Supermercado A) y en La Paz (Supermercado B).

Materiales

Se requirieron 20 filetes de tilapia sellados al alto vacío, medios de cultivo gelosa sangre de carnero (GSC) catalogo 211728, MacConkey (Mc) catalogo 210900, Sal y manitol (SM) catálogo 214600 y Agar papa dextrosa (PDA) catálogo 211900, todos de la marca Bioxon, cajas petri estéril de poliestireno 100X15mm, agua destilada; como equipo de laboratorio se utilizaron, balanza digital Nimbus ADAM NBL 214i, un agitador magnético Hotplate Stirrer LabTech, campana de flujo laminar Abecmua, horno con doble función de secado e incubadora ECOSHEL modelo 9065 y equipo IVD MALDI Biotyper Becton Dickinson-Bruker.

Procedimiento

La elaboración de los distintos medios de cultivo sólidos con agar se realizó de acuerdo al instructivo del fabricante.

Para la preparación del medio agar sangre se utilizó 40 g del medio en un litro de agua destilada, dejándolo en reposo por 10 min, posteriormente se dejó hervir por 1 min. El medio se esterilizó en autoclave por 15 min a 121 °C, se dejó enfriar y se añadió sangre desfibrinada estéril, se dejó homogeneizar, por último, se vació en cajas Petri estériles (Gutiérrez, Falcon, A. I, 2021). Para el agar de MacConkey se rehidrata 50 g del medio en un litro de agua destilada, posteriormente se dejó reposar durante 10 a 15 min. Se calentó hasta el punto de ebullición durante 1 min para disolverlo por completo. El medio se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min, y se dejó enfriar aproximadamente a 45 °C antes de vaciar en cajas de Petri estériles (Gutiérrez, Falcon, A. I, 2021).

El agar sal y manitol se preparó suspendiendo 111 g del medio en 1 L de agua destilada, se mezcló de forma manual y se dejó hervir durante 1 min, posteriormente se dejó en autoclave por 15 min a 121°C y se vació en cajas Petri estériles (Goh, KC, 2020). Por último, para el agar papa dextrosa se suspendió 39 g del medio en un litro de agua destilada el cual se dejó 15 min en reposo antes de hervirlo a 121°C durante otros 15 min, se dejó enfriar a 45 °C y se vació el contenido en cajas de Petri estériles (Gutiérrez, Falcon, A. I, 2021).

Los filetes de tilapia, durante su exhibición en los aparadores de las tiendas se mantienen en un estado de congelación para evitar que el producto se descomponga de manera temprana, se transportaron en una hielera manteniendo una temperatura de 0 °C que es la temperatura óptima para los productos pesqueros según la página web de la FAO y mantenidos en bolsas separadas por sucursal para su marcado, evitando riesgos de contaminación. Previo a la manipulación de los filetes se dejaron descongelar a temperatura ambiente, hasta que tuvieran la consistencia adecuada para la toma de muestra. Se realizó un aislamiento de microorganismos en los medios antes mencionados, utilizando asa bacteriológica esterilizada con el mechero, se tomó una muestra de la superficie, el hielo y el agua resultante de la condensación al descongelar los filetes, la extensión de la muestra sobre el agar se realizó con trazos en forma de estría cruzada. Las cajas Petri se colocaron en la incubadora para su lectura a las 24, 48 y 72 horas después del procedimiento a una temperatura de 37.5 °C.

La identificación de los microorganismos se llevó a cabo mediante espectrometría de masas, utilizando la técnica matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF), muestra de las colonias bacterianas se depositan en una placa de metal, a la cual se adiciona un microlitro de matrix cristalizada (ácido α -ciano-4-hidroxicinámico). El espectrómetro de masas trabaja con un software IVD MALDI Biotyper el cual incluye su biblioteca de referencia para la comparación de los datos obtenidos. Procedimientos estándar de operación IVD MALDI Biotyper (SOPs).

Resultados

Para el registro de resultados, se realizó lecturas de 24 h para agar MacConkey, a las 24 y 48 h para el medio de cultivo gelosa sangre de carnero (GSC) y sal manitol (SM), solo para el caso de agar papa dextrosa (PDA) se realizó a las 72 h. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Aislamiento de bacterias patógenos utilizando medios de cultivo.

Muestra	GSC	McK	SM	PDA
MA1	-	-	-	-
MA2	-	-	-	-
MA3	-	-	-	-
MA4	-	-	-	-
MB1	1 UFC	1 UFC grande 1 UFC pequeña	-	-
MB2	-	-	-	-
MB3	15 UFC CGP	-	-	-
MB4	1 UFC CGP blanca 2 UFC CGP gris	-	-	-

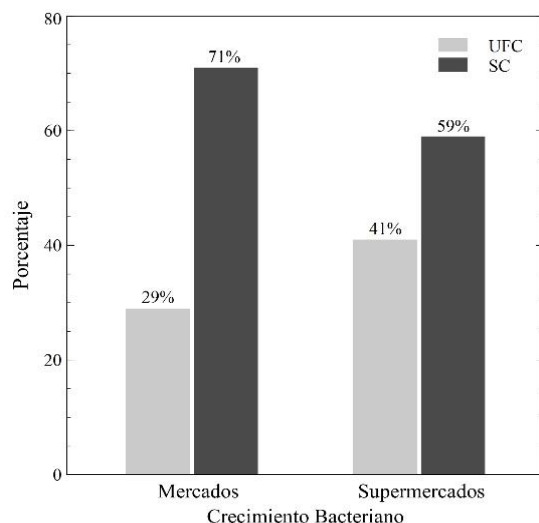
MC1	-	1 UFC pequeña	-	-
MC2	-	-	-	-
MC3	4 UFC CGP grande 1 UFC CGP blanca	-	-	-
MC4	12 UFC CGP	-	-	-
SA1	-	1 UFC Lactosa (+) 1 UFC Lactosa (-)	-	-
SA2	-	-	-	-
SA3	-	-	-	-
SA4	1 UFC γ -hemolítica 5 UFC α hemolítica	-	-	-
SB1	-	1 UFC BGN Lactosa (-) 1 UFC BGN Lactosa (+)	-	-
SB2	-	-	-	-
SB3	1 UFC CGP	-	-	-
SB4	1 UFC CGP pequeña 2 UFC CGP grande	-	-	-

Nota: UFC (Unidad formadora de colonias) - (Sin crecimiento) CGP (Coco Gram Positivo) BGN (Bacilo Gram Negativo).

Se observó las características morfológicas de las colonias en los medios de cultivo, por lo que la baja carga bacteriana permitió contabilizar las unidades formadoras de colonias (UFC). Se realizó la resiembra de las colonias para promoción a crecimiento para contar con una muestra suficiente para su identificación utilizando el espectrómetro de masas MALDI-TOF.

En la figura 1 representan los resultados de los cultivos en los cuales se representa en porcentajes la cantidad de placas que obtuvieron crecimiento bacteriano en comparación con los que no tuvieron crecimiento de los mercados y los supermercados.

Figura 1. Porcentaje de muestras con crecimiento bacteriano de mercados y supermercados.



Nota: UFC: Con crecimiento de colonias, SC: Sin crecimiento de colonias

Al sembrar las muestras de tilapia en los medios de cultivo, se observó una baja carga bacteriana, que no permite la identificación de las especies utilizando la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF. Las muestras se sembraron en los mismos medios de cultivo con el fin de obtener un crecimiento suficiente para su identificación.

En la tabla 2 se muestran los resultados de identificación por espectrometría de masas según la base de datos del equipo IVD MALDI Biotyper. Varias colonias no fueron identificadas (N/I), ya que no hay coincidencia con la base de espectros del IVD MALDI Biotyper lo que implica que esta bacteria que no haya sido identificada previamente o su importancia clínica no es relevante.

Tabla 2: Bacterias identificadas por espectrometría de masas MALDI-TOF.

Nombre	Microorganismo (más compatible)	Puntuación	Nivel de confianza	Microorganismo (segundo más compatible)	Puntuación
MB1#3	<i>Psychrobacter sanguinis</i>	<u>1.796</u>	(+)(B)	<i>Psychrobacter sanguinis</i>	<u>1.75</u>
MB2#1	<i>Kocuria rhizophila</i>	<u>1.812</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.573</u>
MB3#3	<i>Lactococcus garvieae</i>	<u>2.045</u>	(+)(A)	<i>Lactococcus garvieae</i>	<u>1.953</u>
MB4#2	<i>Vagococcus fluvialis</i>	<u>2.072</u>	(+)(A)	<i>Vagococcus fluvialis</i>	<u>2.005</u>
MC3#1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.779</u>	(+)(B)	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<u>1.768</u>
MC4#1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<u>1.89</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.563</u>
MC4#2	<i>Staphylococcus epidermis</i>	<u>1.866</u>	(+)(B)	<i>Staphylococcus epidermis</i>	<u>1.774</u>
SA1#2	<i>Rothia endophytica</i>	<u>2.325</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.219</u>

Nombre	Microorganismo (más compatible)	Puntuación	Nivel de confianza	Microorganismo (segundo más compatible)	Puntuación
MB1#3	<i>Psychrobacter sanguinis</i>	<u>1.796</u>	(+)(B)	<i>Psychrobacter sanguinis</i>	<u>1.75</u>
SA4#2	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	<u>1.817</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.39</u>
SB1#1	<i>Enterobacter kobei</i>	<u>2.153</u>	(+)(C)	<i>Enterobacter cloacae</i>	<u>2.701</u>
SB2	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	<u>1.817</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.663</u>
SB3	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<u>1.702</u>	(+)(B)	N/I	<u>1.428</u>
SB4#2	<i>Lactococcus garvieae</i>	<u>1.932</u>	(+)(B)	<i>Lactococcus garvieae</i>	<u>1.74</u>

Nota: N/I (No identificado).

En la tabla 2 se observa el puntaje que utiliza el equipo para determinar el nivel de confianza de la identificación. El equipo reporta la puntuación de la identificación y el nivel de confianza correspondiente: desde un signo de negativo (-) que implica poca confianza hasta un signo positivo de tres cruces (+++) que implica alta confianza; la letra indica estos niveles, donde (A) representa alta confianza y (C) de poca confianza. En relación con la puntuación donde una cifra menor a 1 es de poca compatibilidad y 2 es una alta compatibilidad del espectro. Cuando el puntaje es más bajo que el recomendado por el fabricante, es factible la validación de la identificación del microorganismo por espectrometría de masas mediante la correspondencia de la morfología colonial en placa del medio de cultivo.

Análisis

En cuanto a las bacterias patógenas aisladas es importante resaltar la baja carga bacteriana lo que no representa un riesgo de transmisión de enfermedad; para el caso del medio gelosa sangre de carnero, presentó crecimiento en 8 de 20 muestras y en el medio de MacConkey, 4 de 20 muestras tuvieron crecimiento. Como se observa en la tabla 1 la mayoría de los medios de cultivo utilizados se observó un crecimiento de 1 a 6 UFC, únicamente en gelosa sangre de carnero se hallaron 15 y 16 UFC, respectivamente.

Cabe destacar que el medio de cultivo gelosa sangre de carnero es un medio enriquecido, en otras palabras, este otorga un ambiente nutritivo y promueve el crecimiento de microorganismos; al tener 16 UFC en la placa, este se considera un crecimiento escaso. Por otro lado, el medio de MacConkey es un medio selectivo y diferencial, en este se observan bacterias Gram negativas de fácil desarrollo aerobios y anaerobios facultativos, y es factible observar bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, los resultados de las placas presentaron un crecimiento entre 1 y 2 UFC en las 4 placas.

El metaanálisis presentado en la tabla 3 muestra las características de las bacterias identificadas con el software IVD del equipo MALDI Biotyper, de un total de 11 bacterias, *Lactococcus garvieae* y *Staphylococcus sciuri* se hallaron más de 1 vez en las muestras; Siendo que *L. garvieae* se encontró en 2 muestras; una muestra del mercado B y en una muestra del supermercado B. En el caso de *S. sciuri* se encontró en una muestra del mercado C y en una muestra del supermercado B.

Acorde con la literatura (Castro Ortiz, Ángela, 2020) *L. garvieae* junto con varias cepas de *Streptococcus spp* y *Flavobacterium spp* son bacterias que se encuentran en estanques de tilapia con deficiencias de manejo de la inocuidad, durante un estudio en Guerrero se realizaron muestreos de tilapias provenientes de una producción acuícola sin ningún tipo de procesamiento, las bacterias que aislaron principalmente fueron *Aeromonas veronii*, *Vibrio cholerae* y cepas de *Streptococcus spp*. En comparación con las bacterias identificadas durante este estudio podemos observar que la variedad de cepas halladas son distintas, en este estudio los filetes de tilapia que se emplearon se encontraban empaquetados al alto vacío, que es una técnica de conservación.

Tabla 3. Metaanálisis de bacterias identificadas con espectrometría de masas MALDI-TOF.

Microorganismo	Tinción de Gram	Características	Importancia clínica	Autor
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	BGN	Aerobio, no formador de esporas presente en el agua, plantas y suelo de forma natural. Puede producir bacteriemia, infecciones de vías urinarias y meningitis.	Patógeno oportunista	(Izaguirre-Anarriba y Sivapalan, 2020)
<i>Enterobacter cloacae</i>	BGN	Anaerobio facultativo, principal bacteria del Complejo <i>Enterobacter cloacae</i> (ECC).	Patógeno	(Paauw, 2008)
<i>Enterobacter kobei</i>	BGN	Aerobio que forma parte del Complejo <i>Enterobacter cloacae</i> (ECC). aislada en bacteriemias, abscesos e infecciones de vías respiratorias y urinarias.	Patógeno	(Yang ji, 2021) (Hoffman, 2005)
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	BGP	Anaerobio facultativo, no produce esporas, puede crecer en pH alcalinos de 8-10 y en temperaturas de 5 °C. Presente en la flora natural de la piel humana, puede producir infecciones leves en pacientes inmunosuprimidos.	Rara vez patógeno	(Pitt, 2007), (Chen 2017), (Strahsburger, 2018)
<i>Kocuria rhizophila</i>	CGP	Aerobio estricto presente en el suelo, agua, plantas y piel de los mamíferos, puede producir bacteriemia en humanos con inmunosupresión y produce infecciones en peces salmónidos.	Patógeno oportunista	(Takarada, 2008), (Becker, 2008), (Pečala-Safińska, 2018).
<i>Lactococcus garvieae</i>	CGP	Anaerobia facultativa, no produce esporas, crece en un rango de 4 - 45°C, puede habitar en agua dulce y salada, relacionado a endocarditis bacterianas en humanos, produce septicemias hemorrágicas en peces.	Zoonótico Patógeno	(Meyburgh, 2017), (Ortega, 2020).
<i>Psychrobacter sanguinis</i>	CGN	Aerobio estricto resistente a las bajas temperaturas y se relaciona con ambientes marinos. Puede producir bacteriemia en humanos.	Patógeno oportunista	(Goh, 2020), (Wirth, 2012), (Bonwitt, 2018)
<i>Rothia endophytica</i>	BGP	Aerobio facultativo, mesófilo y no produce esporas. Presente en el ambiente y orofaringe de los mamíferos.	No patógeno	(Franconieri, 2020)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CGP	Anaerobio facultativo integrante de la flora normal de la piel humana, puede causar daño en bazo y riñones en tilapias.	Rara vez patógeno	(Kubilay & Ulukoy, 2004)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	CGP	Anaerobio facultativo agente causal de infecciones en tracto urinario, es el segundo agente causal de cistitis en humanos	Patógeno	(Fariña N, 2005)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	CGP	Anaerobio facultativo que produce afecciones a nivel del endocardio, shock séptico e infecciones del tracto urinario	Patógeno	(Orozco, 2018)
<i>Vagococcus fluvialis</i>	CGP	Anaerobio facultativo presente en agua y heces de diversos animales, usado como probiótico en peces, produce infecciones leves en humanos.	Rara vez patógeno	(Gutierrez, 2021), (Giannattasio, 2021)

Nota: CGP (Coco Gram positivo), CGN (Coco Gram negativo), BGP (Bacilo Gram positivo), BGN (Bacilo Gram negativo).

En el caso de las baterías que no son consideradas patógenos estrictos, en la literatura y en las normas oficiales mexicanas, no se ha establecido un rango de carga bacteriana asociado a los límites de UFC permitidos. Es importante considerar que el crecimiento bacteriano se observó a las 48 horas. Por lo general en las primeras 24 horas el crecimiento debería ser evidente, sin embargo, por los bajos números de UFC que se reportan en las placas de GSC, podemos concluir que los filetes no poseen una carga bacteriana peligrosa al consumirla.

Conclusiones

Debido al notable crecimiento de la población, la producción de tilapia (*Oreochromis spp*) se ha incrementado por ser uno de los pescados con mayor aporte nutrimental y de menor costo. La implementación de buenas prácticas sanitarias en el manejo de los alimentos se refleja en la calidad e inocuidad de los productos. La responsabilidad que tienen los establecimientos destinados a la distribución de este tipo de productos es fundamental para mantener la inocuidad. Se ha demostrado que el pescado suele ser de los principales factores causantes de intoxicaciones alimentarias, debido a las malas condiciones de manipulación y conservación. Las alergias alimentarias por pescado suelen ocupar el 40% de las intoxicaciones, sin embargo, no todos los casos son reportados, debido a la corta duración de la sintomatología. (Álvarez Rivero et al., 2018). La creencia de la población sobre la calidad del producto ofrecido en mercados y supermercados genera una desventaja comercial, por lo que es necesario investigar la inocuidad de los filetes de tilapia en estos dos tipos de establecimientos.

La carga microbiológica de las muestras de tilapia obtenidas de mercados y supermercados, fue determinada en cultivos bacterianos en los medios seleccionados selectivos para grupos microbianos patógenos. Se observó una baja carga bacteriana patógena dentro de los parámetros establecidos en la NOM-242-SSA-2009 lo que sugiere la implementación de buenas prácticas de manipulación y conservación en mercados y supermercados. La identificación de las bacterias que mostraron crecimiento fue realizada por el método de espectrometría de masas utilizando el equipo MALDI-TOF. Se encontró crecimiento de bacterias consideradas patógenos oportunistas que pueden causar infecciones en los seres humanos en condiciones de alguna inmunosupresión o inmunocompromiso en cuyo caso puede representar un riesgo para la salud, no así para las personas incompetentes que son la mayoría.

De acuerdo con los resultados se logró aislar e identificar 13 bacterias de 20 muestras: el 15.38% son bacterias no patógenas, el 46.2% son patógenas de importancia clínica incluyendo un patógeno zoonótico y el 38.5% son bacterias que se consideran patógenas oportunistas y de rara aparición en la clínica. A pesar de que las bacterias sean mayoritariamente considerados patógenos, es necesario resaltar que la carga bacteriana en la que se encontraron no representa un peligro para el consumidor, ya que al implicar el tracto urinario el sitio anatómico del tropismo de estas bacterias no tiene como mecanismo de transmisión el consumo de alimentos contaminados.

Por otro lado podemos observar que a pesar de que los filetes de tilapia son conservados mediante sellado al alto vacío el 38.5% son bacterias aerobias, a pesar que algunos de estos tienen la característica de poder sobrevivir en ambientes anaerobios, en los casos de *Kocuria rhizophila* y *Psychrobacter sanguinis* son aerobias estrictas, ambas bacterias se asocian a medios marinos, *K. rhizophila* es un patógeno que se reporta con frecuencia en la acuicultura en estanques de salmónidos y tilapia, por otro lado *P. sanguinis* es un patógeno que se ha aislado de muestras de sangre humana y en la piel de peces del género *Lutjanus*. *Staphylococcus epidermis* es una bacteria presente en la piel de los humanos al igual que en los estanques de tilapia bajo condiciones de estrés, debido a estas características se pueden utilizar como un marcador de inocuidad, *Staphylococcus aureus* se puede encontrar en el agua y se relaciona en casos de inmunosupresión y es difícil relacionarlo con unas deficiencias en el manejo de la inocuidad de los alimentos. Bacterias como *Exiguobacterium aurantiacum* y *Psychrobacter sanguinis* son patógenos oportunistas que solo son posible identificar mediante una técnica con alta sensibilidad como la espectrometría de masas MALDI-TOF o la secuenciación del ARNr 16S. El empleo de métodos convencionales basados en la bioquímica microbiana es factible que no se pueda identificar la especie, inclusive el género; en la NOM-242-SSA1-2009 el principal método de identificación, es por medio de diluciones, de forma manual o en algunos laboratorios con un equipo API VITEK 2 compact system que es un método de identificación similar al utilizado en la bioquímicas tradicionales con la diferencia de que en la interpretación elimina el factor humano y el equipo realiza la interpretación, mientras que el IVD MALDI biotyper analiza las proteínas ribosomales de los microorganismos. La tecnología de la espectrometría de masas MALDI-TOF es usada con el propósito de contar con una base de datos muy amplia para asegurar la identificación de los microorganismos aislados.

Cabe destacar que el número de muestras utilizados en este estudio no permite un análisis estadístico robusto debido a los recursos limitados disponibles. Sin embargo, los resultados y las conclusiones del estudio siguen siendo válidos. Además, las especies bacterianas identificadas se limitan a las bacterias capaces de crecer en los medios de cultivo utilizados. Hubiera sido interesante identificar otras bacterias patógenas tal como *Vibrio spp*, sin embargo, estas requieren de medios de cultivo específicos no disponibles para el presente estudio.

Se considera importante la actualización de las técnicas de identificación de microorganismos con equipos de alta tecnología que abarquen una base de datos robusta y que permita evidenciar otros grupos de riesgo bacterianos. Así mismo, si bien la norma establece una carga bacteriana permisible, cuando esta es baja, aseguraría evidenciar un riesgo potencial.

Referencias

- Álvarez Rivero, V., Cervantes Zorrilla, R., Cárdenas-Hernández, ML, González-Chávez, MA, Álvarez Rivero, V., Cervantes Zorrilla, R., Cárdenas-Hernández, ML, & González-Chávez, MA (2018). Escombroidosis. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 16 (1), 63–65. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032018000100063
- BD (Becton Dickinson) Bioxon (2014). Manual BD Bioxon. p28;38;42;58. Recuperado el 2 de febrero de 2023 en: https://www.red-gdl.com/wp-content/uploads/2014/06/Catalogo_Bioxon.pdf
- Bonwitt, J., Tran, M., Droz, A., González, A. y Glover, WA (2018). Infección de heridas por *Psychrobacter sanguinis* asociada con la exposición al ambiente marino, Washington, EE. UU. *Enfermedades infecciosas emergentes*, 24 (10), 1942–1944. <https://doi.org/10.3201/eid2410.171821>
- Castro Ortiz, Ángela. (2020). Identificación y caracterización de patógenos bacterianos aislados de tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas en la presa de El Gallo, Guerrero, México [Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. In *Umich.mx*. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/2834
- Chen, X., Wang, L., Zhou, J., Wu, H., Li, D., Cui, Y. y Lu, B. (2017). *Exiguobacterium* sp. A1b/GX59 aislado de un paciente con neumonía adquirida en la comunidad y bacteriemia: caracterización genómica y revisión de la literatura. *BMC Enfermedades Infecciosas*, 17 (1). <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2616-1>
- Fariña, N., Sanabria, R., Figueredo, L., Ramos, L., Samudio, M. (2005, diciembre). *Staphylococcus saprophyticus* Como Patógeno Urinario. *Mem. Inst. Investig. Científ. Salud*. Vol 3(1).
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Varela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284–2298. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433
- Franconieri, F., Join-Lambert, O., Creveuill, C., Auzou, M., Labombarda, F., Aouba, A., Verdon, R. y de La Blanchardière, A. (2020). *Rothia* spp. endocarditis infecciosa: una revisión sistemática de la literatura. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 51 (51). <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.10.021>
- Giannattasio-Ferraz, S., Ene, A., Maskeri, L., Oliveira, AP, Barbosa-Stancioli, EF, & Putonti, C. (2020). Aislamiento y secuenciación de *Vagococcus fluvialis* a partir de orina de ganado sano. *G3: Genes/Genomas/Genética*, 11 (1), jkaa034. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa034>
- Goh, KC, Cao, DYH, A, RNB, Wee, ILE, Oey, NE, Wong, HM, Nadarajan, K. y Sim, JHC (2020). Un caso de bacteriemia por *Psychrobacter sanguinis* en un hombre de mediana edad. *Patología*, 52 (1), S123. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2020.01.420>
- Gutierrez, Falcon, A. I. (2021). Nuevas Cepas para Acuicultura. Tesis Doctoral. Instituto Universitario de Sanidad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. acceda CRISS.
- Hoffmann, H., Schmoldt, S., Trülsch, K., Stumpf, A., Bengsch, S., Blankenstein, T., Heesemann, J. y Roggenkamp, A. (2005). Urosepsis nosocomial causada por *Enterobacter kobei* con fenotipo aberrante. *Microbiología diagnóstica y enfermedades infecciosas*, 53 (2), 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.06.008>
- Pesca, IN de. (2018). *Acuicultura/tilapia* _ Gob.mx. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-tilapia>
- Izquierre-Anariba, DE, & Sivapalan, V. (2020). *Chryseobacterium indologenes*, una bacteria emergente: informe de un caso y revisión de la literatura. *Cureo*. <https://doi.org/10.7759/cureus.6720>
- Kubilay, A. & Ulukoy, G. (2004, January). First isolation of *Staphylococcus epidermidis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in Turkey. *Researchgate. Bull Eur Ass Fish Pathol*. Vol.24(3):137. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/266213031_First_isolation_of_Staphylococcus_epidermidis_from_cultured_gilthead_sea_bream_Sparus_aurata_in_Turkey
- Kumar, P. & Sanjay, K. (2014). *Aquaculture and fisheries environment*. Discovery publishing house. Págs. 300.
- Leyva-López, N., Mendieta-Vega, R. A., Zazueta-Matías, E., Santiago-Osuna, J., & Grano-Maldonado, M. I. (2020). OCURRENCIA DE ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES EN TURISTAS NACIONALES E INTERNACIONALES ENTRE 2014-2018, EN MAZATLAN, SINALOA, MEXICO. *Biotempo*, 17(1), 127–136. <https://doi.org/10.31381/biotempo.v17i1.3059>
- Meyburgh, CM, et al. "Lactococcus Garvieae: un patógeno bacteriano emergente de los peces". *Enfermedades de los organismos acuáticos*, vol. 123, núm. 1, 8 de febrero de 2017, págs. 67–79, <https://doi.org/10.3354/dao03083>. Consultado el 6 de enero de 2022.
- Orozco Chinome, JE, Picón Jaimes, YA, Garcés-Salamanca, CT, Orozco Chinome, JE, Picón Jaimes, YA, & Garcés-Salamanca, CT (2018). *Staphylococcus sciuri*, una causa infrecuente de sepsis materna. *Revista Chilena de Obstetricia Y Ginecología*, 83 (3), 291–294. <https://doi.org/10.4067/s0717-75262018000300291>
- Ortega, C., Irgang, R., Valladares-Carranza, B., Collarte, C., & Avendaño-Herrera, R. (2020). Primera identificación y caracterización de *Lactococcus garvieae* aislado de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivada en México. *Animales*, 10 (9), 1609. <https://doi.org/10.3390/ani10091609>
- Paauw, A., Caspers, MPM, Schuren, FHJ, Leverstein-van Hall, MA, Delétoile, A., Montijn, RC, Verhoef, J. y Fluit, AC (2008).

- Diversidad genómica dentro del complejo *Enterobacter cloacae*. *Plos one*, 3 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003018>
- Pitt, TL, Malnick, H., Shah, J., Chattaway, MA, Keys, CJ, Cooke, FJ y Shah, HN (2007). Caracterización de aislamientos de *Exiguobacterium aurantiacum* a partir de hemocultivos de seis pacientes. *Microbiología clínica e infección*, 13 (9), 946–948. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01779.x>
- Rodríguez, Ferri, Elías F. (2014). Zoonosis Emergentes. Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria. Universidad de León; Volumen 1. P18
- SEGOB. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA-1993, Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. Secretaría de Gobernación. Recuperado el 2 de septiembre de 2021 de: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4677685&fecha=14/03/1994
- SEGOB. (2011). 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. Secretaría de Gobernación. Recuperado el 2 de septiembre de 2021 de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011
- Morbilidad Nacional (Dakota del Norte). Epidemiología. salud. gob.mx. Recuperado el 9 de septiembre de 2021 en: https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/morbilidad_nacional.html
- Strahsburger, Zapata, F., Pedroso, I., Fuentes, D., Tapia, P., Ponce, R., & Valdés, J. (2018). Borrador de secuenciación del genoma de *Exiguobacterium aurantiacum* cepa PN47 aislado de lagunas salinas, conocidas como “Salar del Huasco”, ubicadas en el Altiplano del Norte de Chile. *Revista Brasileña de Microbiología*, 49 (1), 7–9. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.011>
- Takarada, H., Sekine, M., Kosugi, H., Matsuo, Y., Fujisawa, T., Omata, S., Kishi, E., Shimizu, A., Tsukatani, N., Tanikawa, S., Fujita, N. y Harayama, S. (2008). Secuencia completa del genoma del suelo Actinomycete *Kocuria rhizophila*. *Revista de bacteriología*, 190 (12), 4139. <https://doi.org/10.1128/JB.01853-07>
- The state of world fisheries and aquaculture; Meeting the sustainable development goals. (2018). FAO. Volumen 1. P. 227
- Wirth, SE, Ayala-del-Río, HL, Cole, JA, Kohlerschmidt, DJ, Musser, KA, Sepúlveda-Torres, L. del C., Thompson, LM y Wolfgang, WJ (2012). *Psychrobacter sanguinis* sp. nov., recuperado de cuatro especímenes clínicos durante un período de 4 años. *Revista internacional de microbiología sistemática y evolutiva*, 62 (1), 49–54. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.029058-0>
- Yang, J., Peihong, W., Tingting, X., Yanzi, Z., Rongchang, C., Huaiqiu, Z., Kai, Z. (2021, 18 de May). Development of a One-Step Multiplex PCR Assay for Differential Detection of Four Species (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter roggenkampii*, and *Enterobacter kobei*) Belonging to *Enterobacter cloacae* Complex With Clinical Significance. *Frontiers*. DOI:<https://doi.org/10.3389>