

CARGA BACTERIANA EN ALIMENTOS BALANCEADOS Y NO CONVENCIONALES USADOS EN EL CULTIVO DE ORGANISMOS ACUÁTICOS

PILAR NEGRETE R.,¹ JORGE ROMERO J.²
Y GABRIELA VILLEGAS R.³

¹ Departamento de El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana, México

² Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México



Resumen / Abstract / Résumé

Se llevó a cabo el análisis bacteriológico cuantitativo y cualitativo de diferentes tipos de alimentos: balanceado; pellet y escama y no convencionales: *Tubifex spp* y *Artemia spp*, usados en la industria acuícola, para alimentar organismos acuáticos en cultivo. Se aislaron muestras en diferentes medios selectivos y se identificaron usando el API-20-E y API-20NE. Se encontraron bacterias patógenas, de alto riesgo en la acuicultura y de importancia para la salud pública, de las familias: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae*, *Aeromonaceae* y *Vibrionaceae*. La industria acuícola corre grandes riesgos de epizootas bacterianas al tener que recurrir a dietas vivas, por la carga bacteriana de estos organismos, debido al ambiente y las condiciones de cultivo y extracción. Por tal razón la producción, extracción y comercialización de tales insumos deben ser contemplados dentro de las normas para la sanidad acuícola. ©2001, UAM

Palabras clave:
carga bacteriana
alimento balanceado
acuicultura

The quantitative and qualitative bacteriological analysis of different types of food was realized: balanced, pellet and flake, and unconventional: Tubifex spp and Artemia spp used in agricultural industry to feed aquatic organisms in culturing. Samples of different selective environments were isolated and identified by API-20E and API-20NE. The following families of pathogenic bacteria of high risk in agriculture and of great importance for public health were found: Enterobacteriaceae, Pseudomonadeaceae, Aeromonaceae and Vibrionaceae. Agricultural industry runs great risks of bacterial epizootic diseases because it has to use living food, for the bacterial responsibility of these organisms due to the environment and conditions of culturing and extracting. For this reason the production, extraction and marketing of these consumables should be considered within the norms for aquatic healthiness.

Key words:
bacterial load
balance food
aquaculture

On a fait l'analyse bactériologique quantitative et qualitative de différentes sortes d'aliments: aliments équilibrés, pellet et espèces à écailles et vivantes: Tubifex spp, et Artemia spp utilisés dans l'industrie aquicole pour nourrir des organismes aquatiques en vivier. On a isolé des échantillons dans de différents milieux sélectifs et on les a identifiés en utilisant l'API-20E et l'API-20NE. Des bactéries pathogènes des familles suivantes: Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae, Aeromonaceae et Vibrionaceae de grand risque pour l'aquaculture et assez importantes pour la santé ont été trouvées. L'industrie agricole court de grands risques des maladies epizootiques bactériennes en devant avoir recours aux aliments vifs à cause du chargement bactérien de ces organismes du fait de l'environnement et des conditions de culture et d'extraction. Pour cette raison la production, extraction et commercialisation de ces produits de consommation doivent être considérées dans les normes pour la santé agricole.

Mots clefs:
charge bacterienne
aliment équilibré
aquaculture

Introducción

En la acuicultura es importante producir mayor cantidad de organismos en el mínimo lapso de tiempo y espacio en condiciones económicas ventajosas con el objeto de obtener proteína de origen animal para consumo humano a precios accesibles y elaborar harinas de pescado para alimento de especies animales, incluyendo las mismas especies acuáticas y la producción de peces de ornato. Esto último para esparcimiento humano, pero sobre todo como fuente de ingreso de divisas extranjeras; actividad que en los últimos años ha venido a desplazar a la acuicultura de autoconsumo en muchas de las granjas rurales de México, que al ser empresas familiares carecen de la infraestructura necesaria para mantener bajo control sanitario sus instalaciones y se encuentran en constante riesgo de contraer infecciones que provocan graves pérdidas económicas. Si bien existen instituciones gubernamentales que apoyan estas actividades mediante la donación de los alevines para su cultivo, estas empresas no cuentan con ningún otro apoyo técnico, por lo tanto, es importante generar tecnología apropiada que apoye la actividad acuícola a este nivel, de manera que el mismo productor implemente las estrategias sanitarias preventivas y de control necesarias como técnicas de higiene y limpieza, inmunización y control químico y biológico de plagas y patógenos.

La determinación de los factores bióticos y abióticos, pero sobre todo de los bióticos, entre estos las más relevantes son las enfermedades de origen infeccioso que influyen en las marcadas fluctuaciones de las poblaciones de especies en cautiverio, para disminuir las pérdidas y optimizar el rendimiento, constituyen el rubro más importante, sobre todo en las poblaciones cultivadas, en las que la densidad es elevada.

Un requisito previo indispensable para obtener una producción satisfactoria es cubrir todas los requerimientos metabólicos de los organismos, así la alimentación de los organismos en cultivo no solamente es importante por los costos que implican, sino también por las repercusiones en el estado de salud de los animales y de su producción.

Para cubrir las necesidades nutricionales de las especies en cultivo, los productores utilizan diferentes estrategias alimenticias, como dietas comer-

ciales en diferentes presentaciones como el pellet o en escama y las no convencionales, como alimento vivo, las cuales además deben cubrir todas las normas de calidad en cuanto a nutrimentos, y de calidad microbiológica (Norma Mexicana NOM-021-PESC, 1994). Esta norma regula a los alimentos balanceados, los ingredientes para su elaboración y los productos alimenticios no convencionales utilizados en la acuicultura y el ornato, importados y nacionales, para su comercialización y consumo en la República Mexicana. En su punto 6 de la misma norma se especifica que los alimentos procesados, así como los ingredientes que se usan en su elaboración, los alimentos vivos o en otras presentaciones, deben contener los nutrientes esenciales para el buen desarrollo de las especies acuícolas y de ornato y no contener sustancias tóxicas como metales pesados, pesticidas, micotoxinas y microorganismos, que afecten su crecimiento, buen desarrollo o causen mortalidades por este motivo. En el punto 4.6 de esta norma se indica que los límites bacteriológicos para alimentos sus ingredientes y alimentos, no convencionales, serán de menos de 10,000 aerobios/g, sin coliformes, mientras que para harina de hueso deberán tener menos de 1,000 aerobios /g y sin *Escherichia coli*.

Como parte de la dieta para las especies cultivadas los acuicultores incluyen alimento vivo sobretodo en las primeras etapas del desarrollo de los individuos, por el alto contenido nutrimental que cubre sus demandas nutricionales. Así, por ejemplo *Tubifex* y *Artemia*, son dos especies que se usan ampliamente con estos fines, sobre todo en cultivos de crustáceos y peces de ornato.

Artemia se ha considerado como fuente sospechosa de contaminantes de patógenos por algunos autores como: (Dehasque et al., 1991, Tanasomwang and Muroga, 1990, Nicolas et al., 1989 y Muroga et al., 1987) y específicamente de *Vibrio* y *Pseudomonas* (Murchelano and Bishop, 1975). Sin embargo, algunas bacterias oportunistas son reportadas como aporte de mayor cantidad de proteína y amino ácidos, con la intención de incrementar el valor nutricional de *Artemia* (Gorospe and Nakamura, 1996).

Tubifex sp. o lombriz acuática, es tradicionalmente usada en acuarística, debido a los evidentes resultados en el crecimiento y desarrollo de especies de alto valor económico, además de constituir una forma de obtención de divisas, ya que gran parte de

la producción es exportada como materia prima para la elaboración de alimento de peces de ornato. Estos anélidos viven en aguas contaminadas y carentes de oxígeno, enterrados en lodo y alimentándose principalmente de bacterias, hongos y residuos orgánicos en descomposición, ingiriendo grandes cantidades de sedimento. Hasta el momento, la obtención de estos anélidos se había limitado a la recolecta, sin embargo, en México se ha considerado la posibilidad de su cultivo, efectuándose en lodos activados, estiércol caprino y lechuga en descomposición (Acuavisión, 1988).

La presencia de bacterias en dietas administradas a especies destinadas para consumo humano, como los peces y los crustáceos, constituyen un vector de bacterias patógenas también para los humanos (Bowner, 1964; Thatcher and Clark, 1968; Janseen, 1970; Trust, 1971), implicando un problema de salud pública.

Consideramos importante establecer cuantitativa y cualitativamente la carga bacteriana presente en: alimento balanceado; pellet y escama y no convencionales; *Artemia* y *Tubifex*, mas comúnmente utilizados en la industria acuícola de México.

Metodología

Se obtuvieron cuatro muestras de dos tipos de alimento balanceado para peces de diferentes marcas comerciales: uno en pellet y el otro en escama. De igual forma, se estudiaron dos tipos de alimento no convencional: *Artemia spp* y *Tubifex spp*, de este último se procesaron dos muestras diferentes: la primera se proceso directamente del sitio de colecta, la segunda pasó por un proceso de depuración con agua descontaminada. Todos los tipos de alimento se procesaron de la misma forma siguiendo los criterios de la American Public Health Association (1994).

Con una balanza digital, se pesaron 10 gramos del alimento y se disolvieron en 90 ml de agua destilada estéril. Una vez disuelto el alimento, (en los casos de *Artemia* y *Tubifex* se homogeneizó durante 3 min) se efectuaron seis diluciones progresivas a la décima, en sendos tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril cada uno.

Para la determinación de *Escherichia coli*, se extrajo 0.1 ml, de cada una de las diluciones, y se sembraron, con una varilla de vidrio acodada, en placas de Eosina Azul de Metileno (EMB), se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 24 hrs, las colonias que presentaron brillo metálico se sembraron en tubos Caldo Lactosado con campana de Durham, se dejaron incubar a 35.5°C durante 18 hrs, de los tubos en los que se manifestó producción de gas, se tomo una muestra con asa bacteriológica y se sembró por estría en tubos inclinados con Agar Nutritivo, se incubaron nuevamente a 35.5°C durante 24 hrs, posteriormente se efectuó tinción de Gram, se seleccionaron las cepas G (-) y se procedió a confirmar la pureza de éstas por observación de la morfología celular mediante microscopio óptico, finalmente se identificaron las cepas utilizando la técnica de Analytical Profile Index (API-20E, 1997; API-20NE, 1992).

55

Para determinar la presencia de *Aeromonas* en las diferentes muestras de alimento, 0.1 ml de las mezclas anteriores se sembraron en placas de Agar de *Aeromonas*, con una varilla de vidrio acodada, se incubo a temperatura ambiente durante 24 hrs, las colonias con crecimiento color café se extrajeron con un asa bacteriológica y se sembraron en placas de Agar de Infusión Cerebro Corazón (BHI), se incubaron a temperatura ambiente durante 24 hrs, se purificaron por resiembras sucesivas en el mismo agar, se confirmo la pureza de las cepas observando la homogeneidad celular, mediante la observación de una preparación en fresco por microscopio óptico, una vez puras se efectuó Gram, todas las cepas (-), fueron identificadas usando el Analytical Profile Index (API-20E, 1997; API-20NE, 1992).

La determinación de la presencia de *Salmonella-Shigella*, se efectuó mezclando 1 gr de las muestras de alimento, en tubos de ensayo con 20 ml de Caldo de Tetrionato, a los que se les agregaron 1 ml de solución de Yodo Yoduro, después de incubarse a temperatura ambiente durante 24 hrs, 0.1ml de esta mezcla se sembró por duplicado en placas de Agar de *Salmonella-Shigella*, se dejó incubar a 37°C, las colonias con crecimiento de caja transparente con punto central negro se sembraron por estría en tubos de Agar Nutritivo y se incubaron nuevamente a 35.5°C por 24 hrs, las colonias que crecieron se tiñeron de Gram, las colonias G (-) se observaron con microscopio óptico para confirmar la pureza de

estas, después de lo cual se confirmó la identificación usando el Analytical Profile Index (API-20 E, 1977; API-20 NE, 1992).

La determinación de la presencia de Vibrios se efectuó disolviendo 10 grs de alimento en un frasco lechero con 90 ml de agua peptonada alcalina, pH 8. Se dejó incubar a temperatura ambiente durante 24 hrs, después 0.1 ml de esta mezcla se sembró en placas de Agar de Tiosulfato- Citrato Sales de Bismuto (TCBS) con una varilla de vidrio acodada y se dejó incubar a 36 C° durante 24 hrs. Las cepas con crecimiento amarillo, de diferentes tamaños, verde y verde-azul, se sembraron con una asa bacteriológica estéril, por estría en placas de BHI, se comprobó su pureza mediante su observación en un frotis fresco por microscopio óptico, se efectuó tinción de Gram, las cepas G (-) se identificaron utilizando el Analytical Profile Index (API-20E, 1997; API-20NE, 1992).

La determinación de presencia de Enterobacterias y Pseudomonas de efectuó sembrando 0.1 ml de los frascos de diluciones previamente descritos, con una varilla de vidrio acodada en placas de agar de BHI y de Mc Conkey, se dejaron incubar a 35.5 C durante 24 hrs, posteriormente se purificaron por resiembras sucesivas en el mismo agar hasta confirmarse la pureza de las cepas, homogeneidad de la

morfología celular, por observación de una preparación en fresco al microscopio óptico, se efectuó la tinció de Gram, todas las cepas G (-), se identificaron usando el Analytical Profile Index (API-20E, 1977; API-20NE, 1992).

El conteo de unidades formadoras de colonias (ufc/ml) se llevó a cabo utilizando un contador de colonias tipo Quebec.

Resultados

Se identificaron y contaron las siguientes especies bacterianas:

En *Artemia* sembrada en TCBS se contó 1.5×10^5 ufc/ml con crecimiento de colonias de 2-3 mm amarillas correspondiendo a *Vibrio cholerae*; colonias pequeñas amarillas con viraje del medio a amarillo: *Vibrio fluvialis*; colonias azules: *Aeromonas* y *Pseudomonas*. Crecieron en EMB 5.9×10^5 ufc/ml con brillo metálico correspondiendo a *Escherichia coli*; colonias rosas con centro oscuro: *Klebsiella oxytoca* o *Enterobacter agglomerans*; colonias incoloras transparentes: *Salmonellas spp*. En el medio de *Aeromonas* crecieron 8.9×10^5 ufc/ml con colonias verde oscuro y azules indicando la presencia de

56

CUADRO 1. CONTEO TOTAL VIABLE EN DIFERENTES MEDIOS SELECTIVOS DE BACTERIAS (UFC/ML) EN ALIMENTO BALANCEADO Y NO CONVENCIONAL PARA ORGANISMOS ACUÁTICOS

	ARTEMIA			TUBIFEX 1			TUBIFEX 2			PELLET			ESCAMA		
Medio Selectivo	10 ⁺	10 ²	10 ³	10 ⁺	10 ²	10 ³	10 ⁺	10 ²	10 ³	10 ⁺	10 ²	10 ³	10 ⁺	10 ²	10 ³
TCBS	INC	15	0	INC	33	0	INC	259	0	0	0	0	0	0	0
Eosina Azul de Metileno	INC	39	0	INC	INC	30	INC	INC	20	0	0	0	0	0	0
Aeromonas	INC	89	0	INC	INC	178	INC	18	0	INC	15	0	INC	7	0
Cerebro-Corazón	INC	INC	88	INC	INC	383	INC	154	5	INC	141	2	INC	31	0
Salmonella-Shigella	INC	55	0	INC	INC	0	INC	28	0	0	0	0	0	0	0
MC Conkey	INC	INC	30	INC	INC	0	INC	INC	0	INC	0	0	INC	32	0

TCBS tiosulfato-citrato sales de bismuto
 INC incontables
 NC no crecimiento

diferentes especies de *Aeromonas* y *Pseudomonas*. En BHI se contaron 8.8×10^7 ufc/ml con crecimiento inespecífico por lo que fueron sembradas purificadas, teñidas con Gram e identificadas con los API 20E (1997) y API -20NE (1992), se obtuvieron algunos géneros diferentes a los ya obtenidos en los medios específicos (Cuadro 2). En el medio selectivo para S-S se contó 5.5×10^5 ufc/ml transparentes con centro negro correspondiendo a especies de *Salmonella* y de *Proteus*, colonias rosas-rojas a *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*. En el último medio selectivo Mc Conkey, se contaron 30×10^6 ufc/ml de diferentes formas coloniales.

Tubifex 1 y 2, en T CBS registró el crecimiento de 3.3×10^5 y 2.5×10^5 ufc/ml respectivamente, con crecimientos correspondientes a *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio fluvialis*. En EMB se contaron 3×10^7 y 2×10^7 ufc/ml respectivamente correspondiendo a *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter agglomerans* (cuadro 1).

En el medio de *Aeromonas* se registró la cantidad de 178×10^7 y 1.8×10^5 ufc/ml de colonias verde oscuro y azules. En BHI crecieron 8.3×10^7 y 5×10^6 ufc/ml respectivamente de gran variedad de formas coloniales por lo que se procedió de igual forma que con la muestra anterior (cuadro 2). En S-S se obtuvo 1.3×10^7 y 2.8×10^5 ufc/ml de *Salmonella*, *Proteus* y *E. coli*. En Mc Conkey se contó 1×10^3 y 7×10^7 ufc/ml en cada muestra de colonias rosas, púrpuras, blancas, y transparentes.

El pellet en los medios de TCBS, EMB y S-S, no registró crecimiento bacteriano. Sin embargo, en el medio de *Aeromonas* se contó 1.5×10^5 ufc/ml con formas coloniales características al crecimiento en este medio. En BHI se registró 1.4×10^5 ufc/ml de diversas colonias, que fueron identificadas de la misma forma que en las muestras anteriores (cuadro 2), y en Mc Conkey: 1×10^7 ufc/ml con la diversa morfología colonial típica de este medio.

Escama tampoco registró crecimiento en los medios selectivos TCBS, EMB y S-S. En los medios para *Aeromonas*, BHI y Mc Conkey se contaron: 7×10^4 ufc/ml, 3.1×10^5 ufc/ml y 3.2×10^5 ufc/ml respectivamente con las formas de las colonias registradas en las muestras anteriores.

Se confirmaron las identificaciones realizadas con los medios selectivos. Además, se identificaron con el API-20E (1997) las especies: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*. *Erwinia spp.*, *Providencia spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Pantoea spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis* y *Vibrio cholerae* y con el API-20NE (1992) las especies: *Pseudomonas cepaciae*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas salmonicida salmonicida*, *Aeromonas sal. achromogenes*, *Aeromonas sal. masoucida*, *Escherichia coli*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio fluvialis*.

Discusión

Se aislaron 18 especies diferentes pertenecientes a cuatro familias bacterianas: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae* y *Aeromonadaceae*. En los cuatro tipos de alimentos predominó la identificación de géneros de la familia *Enterobacteriaceae* al hacer uso del API-20E (1997), o *Aeromonas*, *Vibrio* y *Pseudomonas* con el uso del API-20NE (1992) (cuadro 2).

Como parte de las Enterobacterias se identificaron nueve especies diferentes; los géneros de la tribu *Proteae* son importantes en la descomposición de materia orgánica, se les localiza en aguas contaminadas; *Proteus mirabilis* ha sido aislada de: ratones, ratas, changos perros, gatos y puercos (Phillips. 1955), como patógeno de humanos se le asocia a las vías urinarias. (Penner, 1981); *Proteus rettgeri* fue aislada de órganos internos y lesiones de carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) en estanques en Israel (Bejerano et al., 1979); *providencia spp.*, está asociada a infecciones de carácter nosocomial (Penner, 1981).

Citrobacter freundii fue reportada como causante de diarreas en el humano (Swiderski and Jedrzejowska, 1976) y aislada del tubo respiratorio y sistema urinario del hombre, causando ocasionalmente bacteremias (Farmer, 1981). Edwards and Ewing (1972) la reportan en animales: mascotas, animales salvajes y marinos, pájaros e insectos. Asimismo, Sato y Kawamura, (1982) y Hansen et al., (1990) la relacionan como patógenos de peces basa-

CUADRO 2. BACTERIAS AISLADAS DE ALIMENTO BALANCEADO Y NO CONVENCIONAL PARA ORGANISMOS ACUÁTICOS

BACTERIAS	ARTEMIA		TUBIFEX 1		TUBIFEX 2		PELLET		ESCAMA	
	API-20E	API-20NE	API-20E	API-20NE	API-20E	API-20NE	API-20E	API-20NE	API-20E	API-20NE
<i>Aeromonas hydrophila</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Aeromonas caviae</i>		X		X		X		X		X
<i>Aeromonas salmonicida salmonicida</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Aeromonas salmonicida achromogenes masousida</i>		X		X		X		X		X
<i>Citrobacter freundii</i>	X		X		X					
<i>Enterobacter agglomerans</i>	X		X		X		X		X	
<i>Erwinia spp.</i>	X									
<i>Escherichia coli</i>		X		X		X				
<i>Klebsiella pneumonidae</i>	X		X		X		X		X	
<i>Pantoea spp</i>	X		X		X		X		X	
<i>Proteus mirabilis</i>	X									
<i>Proteus retggeri</i>	X									
<i>Providencia spp</i>	X									
<i>Pseudomonas cepaciae</i>				X		X		X		X
<i>Salmonella spp</i>	X		X		X		X		X	
<i>Vibrio alginolyticus</i>	X	X		X		X		X		X
<i>Vibrio cholerae</i>		X								
<i>Vibrio fluvialis</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Total de especies identificadas	12	8	7	8	8	8	7	7	7	7

dos en su aislamiento de individuos infectados en graves mortalidades. Ciertas enfermedades de plantas han sido atribuidas a miembros del género *Erwinia herbicola*, la cual es llamada *Enterobacter agglomerans* por los bacteriólogos médicos (Erwin and Fife, 1972). Es posible que otros géneros de *Erwinia* causen enfermedades en animales, pero no son reconocidos como tal, como puede ser el caso de la llamada *Klebsiella oxytoca* por los médicos y ambientalistas y que puede ser referida como *Erwinia* por los fitopatólogos (Starr, 1981). El género *Pantoea*, frecuentemente referida por sus sinónimos (*Enterobacter agglomerans*, *Erwinia herbicola* o *Erwinia milletiae*) está compuesta por dos especies: *Pantoea agglomerans* y *Pantoea dispersa* requiere de mayores evidencias para sustentar a esta especie como más que un patógeno incidental (Gavin et al., 1994).

Las diferentes especies del género *Salmonella* son asociadas con infecciones intestinales en el humano y en diferentes especies de animales es la causa serias pérdidas económicas provocando abortos en vacas y borregos. Le Minor (1981) reporta aislamientos de *Salmonella* de peces extraídos de aguas contaminadas, pero sin signos de salmonellosis, asimismo reporta la contaminación por *Salmonella* en alimento enriquecido con proteína de origen animal, debido probablemente a condiciones deficientes en la elaboración de este producto.

De la familia *Aeromonadaceae* se aislaron: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. salmonicida*, *A. salmonicida achromogenes*, y *A. sal. masoucida*, todas ellas en todos los tipos de alimento.

A. hydrophila se ha reportado como patógena de ranas (Gibbs, 1963); lagartos (Shotts et al., 1972); serpientes (Mead, 1969); camarones (De Figueredo and Plumb, 1971), y de peces como agente causal de septicemia bacteriana al igual que *A. sobria* y *A. caviae* (Hjeltness and Roberts 1994) esta última fue aislada por Toranzo et al., (1989) en *Dorosoma cepedianum*, durante epizootias y comprueba su patogenicidad en laboratorio.

A. salmonicida son cepas típicamente derivadas de peces salmonidos particularmente, *A. sal. achromogenes* y *masoucida* están asociadas con síndromes y con enfermedades ulcerativas en salmónidos (Sniesko et al., 1950; Austin and Aust, 1987).

Fueron aisladas tres especies diferentes de *Vibrio*: *Vibrio alginolyticus*, es patógeno marino de peces asociado con cuadros agudos de septicemia bacteriana y con lesiones focales crónicas (Colorni, 1981; Hjeltnes and Roberts, 1994); *Vibrio cholera* es conocido como enteropatógenos de humanos (Sakazaki and Balows, 1981); y *Vibrio fluvialis* aislado por Negrete y Romero (1998 a) de lesiones de diferentes especies de peces cultivadas en México, y comprueban su capacidad infecciosa experimentalmente (Negrete y Romero, 1998b).

Pseudomonas cepaciae fue el único representante de la familia *Pseudomonadaceae* que se aisló en ambas muestras de Tubifex 1 y 2, pellet y escamas. Las *Pseudomonas* se aislan de muestras de agua y suelo, algunos géneros pueden llegar a ser patógenos de plantas, animales y humanos, en el caso de *P. cepaciae* fue reportada como la causante de la enfermedad soft-red en cebollas (Ballard et al., 1970). Se ha reportado como causante de ligeras fiebres que desaparecen espontáneamente, en humanos (Speller et al., 1971; Weitein et al., 1976) también se ha aislado de diferentes fluidos humanos como saliva, sangre y orina (Bergaman, 1981).

Conclusiones

Los cuatro diferentes tipos de alimentos para organismos acuáticos; tanto balanceado como no convencionales, mostraron en menor o mayor grado estar altamente contaminados (el intervalo menor en ufc/ml fue diez veces mayor al límite superior de la norma: NOM-021-PESC-1994, el intervalo superior encontrado fue mil veces más alto que el límite superior marcado en la misma norma) con bacterias patógenas, tanto para los organismos en cultivo, como para el ser humano, quien está en riesgo de contaminarse directamente al trabajar con estos organismos en su extracción, elaboración, procesamiento, comercialización y en su consumo como fuente importante de proteína de origen animal. Constituyendo no solamente en un problema para la acuicultura, sino también en un problema de sanidad pública.

La presencia de este tipo de patógenos en los alimentos balanceados, nos indica que existe deficiencia en el control de calidad en la producción, tanto en el procesado y cocción del mismo ya que

patógenos como *Aeromonas* y *Vibrio* (que pudieran venir incorporadas como parte de las harinas de pescado usadas para elaborar estos productos) son destruidos a temperaturas y tiempos de cocción adecuados; como en el manejo y comercialización, pues la existencia de enterobacterias indica contaminación fecal de organismos de sangre caliente que bien puede ser de origen humano o animal.

La presencia de Enterobacterias patógenas como *Proteus mirabilis* y *Providencia*, alertan con respecto a las zonas de extracción de la *Artemia* y del agua en donde se cultiva, ya que al contener bacterias de origen nosocomial, como las anteriormente mencionadas, indica un contacto cercano con áreas urbanas, que vierten sus desechos al ambiente. Un riesgo adicional en este alimento es además la presencia de patógenos de peces importantes como *Citobacter freundii* y las diferentes especie de *Aeromonas* y *Vibrios*, que lo describen como el alimento analizado con mayor carga bacteriológica y de mayor riesgo ictiopatólogico.

El proceso de pasar por diferentes lavados de agua limpia al *Tubifex*, si bien disminuyó la ufc/ml de algunas bacterias, superó por mucho los niveles permitidos por la norma. La presencia de *Salmonella* y *Ecoli* en estas muestras, describe la misma problemática sanitaria en la producción y comercialización de la *Artemia*.

La industria acuícola corre grandes riesgos de epizootias bacterianas al tener que recurrir a dietas vivas, por la carga bacteriana de estos organismos, debido al ambiente y las condiciones de cultivo y extracción. Por tal razón la producción, extracción y comercialización de tales insumos deben ser contemplados dentro de las normas para la sanidad acuícola.

Es necesario desarrollar técnicas de purificación de este tipo de alimentos. Así como también definir la relación huésped-parásito entre patógenos de origen entérico como *Salmonella*, que hasta el momento se les ha considerado sin riesgo desde el punto de vista de la patobiología.

Referencias

- ACUAVISIÓN. 1988. Explotación del gusano de fango en Hidalgo. *Acuavisión*. 13(14):19-23
- ANALYTICAL PROFILE INDEX. 1992. *Enterobacteriaceae and other Gram negative Bacteria*. 9th edition, U. S. A. 13 p.
- ANALYTICAL PROFILE INDEX. 1997. *Enterobacteriaceae and other Gram negative Bactiris*. 9th edition U. S. A. 13 p.
- AUSTIN, B. AND AUSTIN, A. 1987. *Bacterial fish pathogen diseases in farmed and wild fish*. Ellis Horwood. Ltd. England, pp. 196-224.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1994. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th. Ed. American Public Health Association, Washington, D. C. pp. 853-859.
- BALLARD, W. PALLERONI, J. DOUDOROFF, M. AND STANIER, 1970. Taxonomy of the aerobic pseudomonas: *Pseudomonas cepaace*, *P. marginata*, *P. alliiicola* and *P. caryophylli*. *Journal of General Microbiology* 60:199-124.
- BEJERANO, Y. SARIG, S. HORNE, T. AND ROBERTS, J., 1979. Mass mortalities in silver carp *Hypophthalmichthys motrix* (Valencienses) associated with bacterial infection following handling. *Journal of Fish Diseases*, 2:49-56.
- BERGMAN, T. 1981. Human and animal pathogenic members of the genus *Pseudomonas*, In Starr, P., Stolp, H., Truper, G., Balows, A., and Schlegel, H.G: (eds) *The prokaryotes*. Berlin: Springer-Berlag. pp. 66-70.
- BOWNER, J. 1964. The challenge of Salmonellosis: major health problem. *Amer. J. Med.Sci.* 247: 467-501.
- COLORNI, A.; PAPERNA, I.; AND GORDIN, H.; 1981. Bacterial infections in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cultured at Elat. *Aquaculture*, 23:257-267.
- DEHASQUE, M. VERONCH, L. SORGELOOS, P. SWINGS, J. LEGER, PH., AND KERSTERS, K.; 1991. Determination of the bacterial contamination in live food production systems in marine fish hatcheries in southern europe. Larci In P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers and F. Ollevier (eds.). *Fish & Crustacean Larvicultures Symposium*. European Aquaculture Society, Special Publications No 15. Belgium.
- DE FIGUEREIDO, J. AND PLUMB, J. 1971. Virulence of different isolates of *Aeromonas hydrophils* in channel catfish. *Aquaculture* 11:349-354.
- EDWARDS, R., AND ERWING, H. 1972. *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd -Ed. Mineapolis. Burgess Publishing Co.
- ERWIN, H., AND FIFE, A. 1972. *Enterobacter agglomerans* (Bjeijerinck) *comb.nov.* (the herbicola-lathyri bacteria). *International Journal of Systematic Bacteriology* 22:4-11.
- FARMER, F. 1981. *The Genus Citrobacter. Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. Berlin, springer, Verlag. 91(II):1140-1147.
- GAVINI, J. KRIEG, N. SNEATH, H. STANLEY J. AND SATANLEY. W. 1994. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Ed. Williams and Wilkins. p. 289
- GIBBS L. 1963. An effective treatment for red-leg diseases in *Rana pipiens*. *Laboratory Animal Care*. 13:781-783.
- GOROSPE, J. AND NAKAMURA, K., 1996. Associated bacterial microflora in *Artemia*-rice brack culture. *Isr. Aquacult. Bamidgeh* 48:99-107.
- HANSEN, H. RAA, K. AND A. OLAFSEN, 1990. Isolation of *Enterobacter agglomerans* from dolphin fish, *Coryphaena hippurus* L. *Journal of Fish diseases*, 13: 93-6.
- HJELTNES, B. AND ROBERTS, J. 1994. Vibriosis. *Bacterial Diseases of Fish*. (eds), In Inglis, V., Roberts, J., and Bromage. R., Institute of Aquaculture. John Wiley & Sons, Inc. New York. Cap. 6 pp. 109-122.
- JANSEEN, A. 1970. Fish as potential vectors of human bacterial diseases, In S.F. Snieszko (eds.), *A symposium on diseases of fishes and shellfishes*. Amer. Fish. Soc. Spec. Publ. pp. 284-290.
- LE MINOR, 1981. The Genus *Salmonella*. In Starr, M., Stolp, H., Truper, H., Balows A. and Schlegel, G., (eds.). *The Prokaryotes. A Handbook of habitats, isolation, and identification of bacteria*. Springer-Verlag. New York. II(92):1149-1159.
- MEAD, R. 1969. *Aeromonas hydrophila* in the leukoderma syndrome of *Achatina fulica*. *Malacologia* 9:43.
- MUROGA, K. HIGASHI, M. AND KEITOKU, H. 1987. The isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*Pagrus major*) and black seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) at larval and juvenile stages. *Aquaculture*. 65:79-88.
- NEGRETE, P. Y ROMERO M. 1998a. Estudio cualitativo de las condiciones sanitarias de producción y manejo de granjas acuicolas en los Estados de México y Morelos. *Hidrobiológica* 8(1):43-54.

- NEGRETE, P. Y ROMERO J. 1998b. Inducción experimental de bacteriosis en peces susceptibles aislados de granjas acuicolas de los estados de México y Morelos. *Hidrobiológica* 8(2):8-15.
- NICOLAS, L. ROBIĆ, E. AND ANSQUER, D. 1989. Bacterial Flora Associated with a trophic chain consisting of microalgae, rotifers and turbot larvae: influence of bacteria on larval survival. *Aquaculture* 83: 237-248.
- PENNER, J. 1981. The tribe Proteaceae. In Starr, M., Stolp, H., Trupe, H., Balows, A., and Schlegel, H., (eds.). *Prokaryotes. A handbook of habitats, isolation and identification of bacteria*. Springer-Verlag. New York. II(98):1204-1224.
- PHILIPS, E. 1955. The experimental pathogenicity in mice of strains of *Proteus* of animal origin. *Journal of Hygiene* 53:212-216.
- SAKAZAKI, R., AND BALOWS, A. 1981. The Genera *Vibrio*, *Plesiomonas* and *Aeromonas*. In Starr, M., P., Stolp, H., Truper, H., Balows, A., and Schlegel, H., (eds.). *The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. New York. Springer-Verlag. II (103):1272-1302.
- SATO, N., AND KAWAMURA, T. 1982. Systematic *Citrobacter freundii* infection among sunfish *Mola mola* in Matsushima Aquarium. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 48:1551-1557.
- SHOTTS, B., GAINES, L., MARTIN, L. AND PRESTWOOD, K. 1972. *Aeromonas* induced death among fish and reptiles in a eutrophic inland lake. *Journal of American Veterinary Medical Association* 161:603-607.
- SNIESZKO, F., GRIFFIN, J., AND FRIDDLE, B. 1950. A new bacterium (*Haemophilus piscium* n sp.) from ulcer diseases of trout. *Journal of Bacteriology* 59:699-710.
- SPELLER, C., STEPHENS, E., AND VIANI, C. 1971. Hospital infection by *Pseudomonas cepaciae*. *Lancet* I :798-799.
- STARR, M. 1981. The Genus *Erwinia*. In Starr, P., M., StTruper, H., Balows, A., and Shlegel, H., (eds.). *The Prokaryote. A handbook of habitats, isolation and identification of bacteria*. Springer-Verlag. New York. II(102):1261-1271.
- SWIDERSKI, M. AND JEDRZEJOWSKI. 1976. Infekcyjna lekoopornose i wirulecia patecczek *Citrobacter* z orgniska intoksykacji prosiat. (with English summary). *Medycyna Weterynaryjna*. 32:665-668.
- TANASOMWANG, V. AND MUROGA, K. 1990. Intestinal microflora of marine fish and their larval and juvenile stages. In Hirano, R., and Hanyu, I., (eds.). *The 2nd Asian fisheries Forum*. Asian Fisheries Society. Manila, Philippines. pp. 647-650.
- TACHTER, S. AND CLARK, D., 1968. *Microorganisms in food: their significance and methods of enumerations*. University of Toronto Press, Toronto.
- TORANZO, E., BAYA, M., RONALDE, L., AND HERICK, F., 1989. Association of *Aeromonas sobria* with mortalities in adult gizzard shark *Dorosoma cepedianum* Lesueur. *Journal of Fish Diseases*. 12:439-448.
- TRUST, J., 1971. Bacterial counts of commercial fish diets. *Journal of Fish. Research*. 28:1185-1189.
- WEITEIN, A., EMORI, G., ANDERSON, R. AND STAMM, E. 1976. Pressure transducers as a source of bacteremia after open heart surgery. *Chest*. 69:338-344.