

BACTERIAS VIBRIONACEAE AISLADAS EN ESPECIES MARINAS PERUANAS DURANTE FEBRERO A NOVIEMBRE 2004

VIBRIONACEAE BACTERIA ISOLATED FROM PERUVIAN MARINE SPECIES DURING FEBRUARY TO NOVEMBER 2004

María E. Ayala Martín Gavilán De la Cruz

Dirección de Investigación, Instituto Tecnológico Pesquero del Perú.
Carretera a Ventanilla km 5,200 Callao. mestela@itp.org.pe

RESUMEN

AYALA ME, GAVILÁN M. 2004. Bacterias Vibrionaceae aisladas en especies marinas peruanas durante febrero a noviembre 2004. *Bol. investig. Inst. tecnol. pesq. Perú* 6: 23-26. La detección de bacterias Vibrionaceae fue realizada en el contenido estomacal de 640 especímenes de ocho recursos marinos (caballa, pejerrey, cachema, lisa, machete, jurel, concha de abanico, y choro) adquiridos en el terminal pesquero de Ventanilla, Callao. Se lograron identificar 77 cepas del género *Vibrio* (*V. alginolyticus*, 14,29 %), 34 del género *Aeromonas* (*A. verona*, 29,87%) y 3 cepas de *Plesiomonas*. La cachema y el choro fueron las especies marinas que albergaron la mayor diversidad de especies de estas bacterias. Se aislaron 4 cepas de *V. cholerae* no toxígenas.

PALABRA CLAVE: *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, especies marinas peruanas.

ABSTRACT

AYALA ME, GAVILÁN M. 2004. Vibrionaceae bacteria isolated from Peruvian marine species during February to November 2004. *Bol. investig. Inst. tecnol. pesq. Perú* 6: 23-26. Vibrionaceae bacteria group was isolated from the stomach content of 640 specimens of eight marine species (club mackerel, silverside, Peruvian weakfish, mullet, Pacific nenhaden, jack mackerel, scallop and mussel), acquired from Ventanilla Fishery Market, Callao. It was possible to identify 77 *Vibrio* strains (*V. alginolyticus*, 14,29 %), 34 *Aeromonas* strains (*A. verona*, 29,87%) and 3 *Plesiomonas* strains. Peruvian weakfish, and mussel harbored the greatest Vibrionaceae species group. Four non toxigenic *V. cholerae* strains were isolated.

KEYWORDS: *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, Peruvian marine species.

INTRODUCCIÓN

La familia Vibrionaceae, comprende bacterias de forma bacilar, gram negativas y oxidasa positivas, asociadas a enfermedades intestinales humanas, cuyas principales especies son *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* y *Plesiomonas shigelloides*, entre otras^{1,8,13}.

Estos organismos también se encuentran asociados a la flora intestinal de las principales especies marinas¹⁴ peruanas. Su riesgo de transmisión se debe principalmente a la falta de buenas prácticas de higiene, evisceración deficiente, así como a una contaminación directa con el agua de mar. Esto indica la importancia de considerar el riesgo involucrado al consumir

alimentos marinos crudos, parcialmente cocidos o con una deficiente refrigeración, factores que favorecen la sobrevivencia y multiplicación bacteriana³.

Por estas razones, se hace necesario investigar para incrementar la información sobre la distribución y posible asociación de dichos patógenos a las principales especies de consumo directo en nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de muestras.- Las especies marinas adquiridas en el mercado del terminal pesquero de Ventanilla fueron diez: ocho peces: *Scomber japonicus*, "caballa"; *Cynoscion analis*, "cachema"; *Trachurus murphyi*, "jurel"; *Mugil cephalus*, "lisa"; *Ethmidium maculatum*, "machete"; *Odontesthes regia regia*, "pejerrey"; y dos moluscos bentónicos: *Aulacomya ater*, "choro"; *Argopecten purpuratus*, "concha de abanico".

Cuatro individuos de cada especie se analizaron mensualmente, exceptuando pejerrey y los moluscos, cuyo número de muestra mensual fue de 20 y 12 individuos respectivamente. El estudio fue conducido entre febrero y noviembre del 2004.

Ensayos microbiológicos.- Para el aislamiento y la identificación de las cepas, se siguieron las metodologías de HARRIGAN (1979), ROBERTS (2000) y PASCUAL (2000)^{6, 14, 15}.

Los ensayos fueron realizados en el contenido visceral de pescado y en individuos desvalvados en el caso de moluscos. Las muestras fueron homogeneizadas con agua peptonada alcalina (APA). La incubación fue realizada por un período de 8 h a 30 °C para el aislamiento de *V. cholerae* y de 24 h para el aislamiento de otros Vibrionáceos.

Culminado el tiempo de incubación cada muestra fue sembrada por estría en agares selectivos: TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose) para el aislamiento de Vibrios y en IBBR (Inositol-Bilis-Verde Brillante-Rojo de Fenol) para el aisla-

miento de *Aeromonas* y *Plesiomonas*, incubando por 48 h a 35 °C.

Cada aislamiento típico fue sometido a las siguientes pruebas bioquímicas: coloración gram, prueba de la oxidasa, prueba de citrato, TSI, indol, motilidad, prueba de Voges-Proskauer, descarboxilación de la lisina, ornitina y arginina; y prueba de fermentación en sacarosa, manosa, manitol, lactosa, arabinosa, salicina, esculina e inositol ^{1,2,7,8,9,12,15}, considerando una concentración del 2% de NaCl en todas las pruebas bioquímicas.

Las cepas positivas para *V. cholerae* fueron sometidas a pruebas serológicas con el antisuero polivalente O y a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la presencia del gen de la toxina colérica (ct x AB)⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 640 individuos analizados, se lograron aislar e identificar 77 cepas de la familia Vibrionaceae: 40 cepas pertenecen al género Vibrio, 34 al género *Aeromonas* y 3 al género *Plesiomonas* (Tabla 1).

El bajo porcentaje de aislamiento del género *Plesiomonas* coincide con lo descrito por JAGGER y OLSVIK ^{8,13} quienes afirman que en la mayoría de casos las especies de *Plesiomonas* se encuentran relacionadas a aguas dulces; aunque REED¹⁵ menciona la existencia de algunas cepas este género, aisladas de ambientes marinos.

La especie de mayor distribución durante el año 2004, en las especies pesqueras analizadas, fue *A. veronii* (29,87%) (Figura 1 y Tabla 1). La asociación de este patógeno a las principales especies marinas de consumo masivo, entre ellas la especie *Ethmidium maculatum* (machete) y *Argopecten purpuratus* (concha de abanico), en ambas con una presencia del 6,49%, muestra una posible causa de riesgo sanitario de los consumidores, puesto que dicho patógeno además de afectar directamente a especies marinas y dulceacuícolas, en muchos casos bajo factores de stress^{4,5}, es considerado también

un patógeno humano oportunista asociado principalmente a enfermedades gastroentéricas¹.

Tomando en cuenta que la captura o extracción de machete y concha de abanico se realizó en la zona del departamento de Lima, se puede sugerir una posible relación entre la incidencia de *A. veronii* y las probabilidades de ETA por el consumo de estas especies, razón por la cual se recomienda que su consumo se realice en forma cocida.

En la Tabla 1 se puede apreciar que entre las especies *Vibrio*, la de mayor distribución fue *V. alginolyticus* (14,29%), resultado concordante con lo referido por MONTENEGRO y col. (2003)¹¹; y entre *Aeromonas* fue *A. verona* (29,87%). La mayor di-

versidad de especies Vibrionáceas, se halló en cachema (9) y choro (8); y la menor, con solo 4 especies, se halló en machete y concha de abanico (Figura 2).

En la fase de identificación se logró aislar 4 cepas de *V. cholerae*, de las cuales 2 resultaron ser serotipo No O1 y las otras aglutinaron con el antisuero Polivalente O resultando ser *V. cholerae* serotipo O1. Sin embargo, al someter dichas cepas a la prueba de PCR, utilizando primers de la toxina colérica y haciendo uso de la cepa O1-INS como control positivo, no se obtuvo amplificación positiva para una cepa patógena O1. Esto concuerda con lo descrito por NAIR (1988), quien afirma que frecuentemente los serotipos O1 aislados de ambientes acuáticos, no presentan la toxina colérica¹².

Tabla 1. Número de cepas aisladas y porcentajes de distribución de las especies Vibrionáceas por cada especie comercial durante el periodo Febrero-Noviembre del 2004

	Caballa	Pejerrey	Cachema	Lisa	Machete	Jurel	Concha de abanico	Choro	Total	%
<i>V. cholerae</i>	0	2	2	0	0	0	0	0	4	5,19
<i>V. mimicus</i>	1	3	0	1	0	0	0	2	7	9,09
<i>V. parahaemolyticus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1,30
<i>V. alginolyticus</i>	2	1	3	1	2	0	1	1	11	14,29
<i>V. anguillarum</i>	0	0	1	0	1	0	0	1	3	3,90
<i>V. cincinnatiensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1,30
<i>V. frunci</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1,30
<i>V. hollisae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1,30
<i>V. spp.</i>	1	3	2	1	0	1	2	1	11	14,29
<i>A. veronii</i>	1	3	3	1	5	2	5	3	23	29,87
<i>A. media</i>	0	0	2	1	0	2	0	1	6	7,79
<i>A. spp.</i>	0	0	1	0	0	2	0	1	4	5,19
<i>A. caviae</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1,30
<i>P. spp.</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	3	3,90
Total especies	5	6	9	5	4	5	4	8		
Total cepas	6	13	16	5	9	8	9	11	77	100
% especies	35,71	42,85	64,28	35,71	28,57	35,71	28,57	57,14		

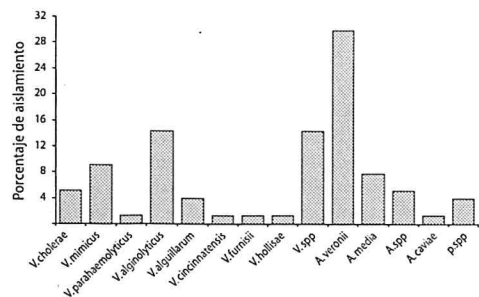


Figura 1. Porcentajes totales de especies de bacterias Vibrionáceas aisladas de ocho especies marinas, durante el periodo Febrero - Noviembre del 2004

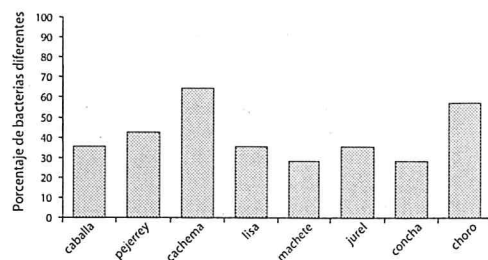


Figura 2. Porcentajes de especies de bacterias Vibrionáceas halladas por especie de recurso marino, durante el periodo febrero - noviembre del 2004

CONCLUSIONES

1. Existe una amplia distribución del género *Vibrio* y *Aeromonas* en el contenido intestinal de especies marinas de consumo masivo en nuestra capital, lo cual hace riesgoso el consumo de alimentos marinos, recomendándose un monitoreo más detallado para la obtención de datos que ayuden a conocer el comportamiento de las bacterias Vibrionáceas en las principales especies marinas comerciales.
2. *Aeromonas veronii* mostró tener una amplia distribución entre las principales especies marinas comerciales, principalmente sobre machete y concha de abanico, ambas provenientes del mar frente a Lima. Así también, al igual que en anteriores estudios, *Vibrio alginolyticus* resultó ser la especie de mayor distribución.
3. La cachema y el choro fueron las especies marinas que albergaron la mayor diversidad de especies de bacterias Vibrionáceas en su flora intestinal. El machete y la concha de abanico fueron las especies con menor diversidad.
4. Las cuatro cepas aisladas de *V. cholerae* no son cepas cito-toxigénicas; sin embargo, es importante citar su presencia puesto que este grupo puede involucrarse como patógeno oportunista de individuos inmuno-comprometidos.

REFERENCIAS

1. Abbott S, Cheung W, Janda M. 2003. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. J. Clin. Microbiol. 41(6): 2348-2357.
2. Abbott S, Seli L, Catino M, Hartley, M, Janda M. 1998. Misidentification of unusual *Aeromonas* species as members of the genus *Vibrio*: a continuing problem. J. Clin. Microbiol. 36(4): 1103-1104.
3. Bryan F. 1978. Factors that contribute to outbreaks of food-borne disease. J Food Prot 41:816-827.

4. Castro-Escarpulli G, Figueras M, Aguilera-Arreola, G, Soler L, Fernández-Rendon E, Aparicio G, Guarro O, Chacon M. 2003. Phenotypic identification of *Aeromonas* spp. Isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico.
5. Cipriano R. 2001. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. Revision of fish Disease Leaflet 68.
6. Harrigan W. 1979. Métodos de Laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Ed. Academia Leon. España. pp: 232-233.
7. Huss H. 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO Document Técnico de Pesca 334, Laboratorio Tecnológico Ministerio de Pesca Dinamarca On line: www.fao.org/DOCREP/003/11/68S/11/68s03.htm
8. Jagger T. 2000. *Plesiomonas shiguelloides* – a veterinary perspective. Infect. Dis. Rev. 2: 199-210.
9. Koch W, Payne W, Cebula T. 2001. Rapid polymerase chain reaction method for detection of *Vibrio cholerae* in foods. Appl. Environ. Microbiol. 59:556-560.
10. Macían M, Arias C, Aznar R, Garay E, Pujaltre M, 2000. Identification of *Vibrio* spp. (other than *V. vulnificus*) recovered on CPC agar from marine natural samples. Internatl. Microbiol. 3:51-53.
11. Montenegro C, Carvajal M, Rabelo P, Ayala ME 2003. Vibrios patógenos aislados de peces y mariscos peruanos durante el invierno 2001 y el verano 2003. Bol. Inv. Tec. Pes. Perú. 5: 53-56.
12. Nair G. 1988. Ecology of *Vibrio cholerae* in the freshwater environs of Calcutta, India. Microbiol. Ecology. pp. 15: 203-215.
13. Olsvik O, Wachsmuth K, Kay B, Birkness K, Yi A, Sack B, 1990. Laboratory observations on *Plesiomonas shiguelloides* strains isolated from children with diarrhea in Perú. J. Clin. Microbiol. 28: 886-889.
14. Pascual M, Calderón V, 2000. Microbiología alimentaria 2Ed. Ed. Díaz de Santos. Madrid-España. pp: 165-170, 155-164.
15. Reed P, Francis-Floyd R, 2002. *Vibrio* infection of Fish. Fisheries and Aquatic Sciences Department. pp 1-3.
16. Roberts D, Hooper W, Greenwood M, 2000. Microbiología práctica de los alimentos. Ed. Acribia, S.A. España. pp. 142-144, 151-153.
17. Sugita H, Nakamura T, Tanaka K, Deguchi Y. 1994. Identification of *Aeromonas* species isolated from freshwater fish with the microplate hybridisation method. Appl. Environ. Microbiol. 60(8): 3036-3038.