

## Artículo Original

# Caracterización fenotípica y genotípica de *Vibrio parahaemolyticus* aislados en *Argopecten purpuratus* de la bahía de Sechura (Julio 2017-2018)

## Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from *Argopecten purpuratus* from Sechura Bay (July 2017-2018)

José C. Silva<sup>1,a</sup>, Roxana E. Céspedes<sup>2,b</sup>, Jessica K. Espinoza<sup>3,c</sup>, Julio R. Ruiz<sup>1,d</sup>

Recibido: 20/05/2024 Aceptado: 17/12/2024 Publicado: 30/12/2024

### Resumen

*Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria tipo gram negativa que habita en ambientes marinos y estuarios, conformado por cepas toxigénicas y no toxigénicas. Las cepas virulentas se aíslan principalmente de recursos y productos hidrobiológicos, cuya ingesta puede causar problemas de salud en las personas que las consumen. Objetivo: Caracterizar el fenotipo y genotipo de las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* aislado de zonas de producción de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) de la bahía de Sechura de julio 2017 a julio 2018. Metodología: Se analizaron 203 muestras recolectadas de la bahía de Sechura. La caracterización fenotípica se realizó de acuerdo a la norma ISO 21872-1 y FDA-BAM, en tanto la genotípica según la norma ISO 21872-1. Resultados: De 203 muestras analizadas se aislaron 97 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (45,8%), todos los aislados del medio de cultivos cromogénico confirmaron para el gen *VpToxR*, ninguna cepa confirmó la presencia del gen *tdh*, solo una (1%) cepa confirmó la presencia del gen *trh*. Conclusión: Se evidencia que existe una gran variación en las características fenotípicas, posiblemente se deba por el entorno ambiental, sin embargo, la proporcionalidad entre las diferentes referencias sobre el perfil bioquímico guarda estrechas relaciones con ciertas peculiaridades. El uso de un agar cromogénico detecta con una gran exactitud cepas de *Vibrio parahaemolyticus*, que son validadas mediante la detección del gen *toxR* (*VpTox*). Finalmente existe una baja probabilidad de detectar cepas que contengan el gen *tdh*.

**Palabras clave:** *Vibrio* spp., *Argopecten purpuratus*, genes toxigénicos, bioquímica, fenotípica, genotípica.

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo". Lima, Perú

2 Instituto Tecnológico de la Producción, Laboratorio de Microbiología. Callao, Perú.

3 Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Bacteriología. Trujillo, Perú.

a Autor para correspondencia: [josecarlossilvaaburto@gmail.com](mailto:josecarlossilvaaburto@gmail.com) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6172-186X>

b E-mail: [rcespedes@itp.gob.pe](mailto:rcespedes@itp.gob.pe) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5898-9128>

c E-mail: [jkchavez@gmail.com](mailto:jkchavez@gmail.com) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5685-8693>

d E-mail: [jruizq@unmsm.edu.pe](mailto:jruizq@unmsm.edu.pe) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4176-1618>

### Citar como:

Silva, J., Céspedes, R., Espinoza, J. y Ruiz J. (2024). Caracterización fenotípica y genotípica de *Vibrio parahaemolyticus* aislados en *Argopecten purpuratus* de la bahía de Sechura (Julio 2017-2018). *Ciencia e Investigación*, 26(2):33-41. doi: <https://doi.org/10.15381/ci.v26i2.27498>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.

## Abstract

*Vibrio parahaemolyticus* is a gram-negative bacterium that lives in marine environments and estuaries, made up of toxigenic and non-toxigenic strains. Virulent strains are mainly isolated from hydrobiological resources and products, whose ingestion can cause health problems in people who consume them. Objective: To characterize the phenotype and genotype of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from scallop (*Argopecten purpuratus*) production areas in Sechura Bay from July 2017 to July 2018. Methodology: 203 samples collected from Sechura Bay were analyzed. Phenotypic characterization was carried out according to ISO 21872-1 and FDA-BAM standards, while genotypic characterization was carried out according to ISO 21872-1. Results: 97 strains of *Vibrio parahaemolyticus* (45.8%) were isolated from 203 samples analyzed. All isolates from the chromogenic culture medium confirmed the presence of the *VptoxR* gene, no strain confirmed the presence of the *tdh* gene, and only one strain (1%) confirmed the presence of the *trh* gene. Conclusion: There is evidence of a large variation in phenotypic characteristics, possibly due to the environmental setting. However, the proportionality between the different references on the biochemical profile is closely related to certain peculiarities. The use of a chromogenic agar detects *Vibrio parahaemolyticus* strains with great accuracy, which are validated by detecting the *toxR* gene (*VpTox*). Finally, there is a low probability of detecting strains containing the *tdh* gene.

**Keywords:** *Vibrio* spp., *Argopecten purpuratus*, toxigenic genes, biochemistry, phenotypic, genotypic.

## INTRODUCCIÓN

*Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria que pertenece a la familia Vibrionaceae, su ambiente son zonas marinas, costeras y esturinas de medios templados y tropicales alrededor del planeta<sup>1,2</sup>. Sin embargo, también están presentes en los recursos hidrobiológicos ya sea en forma avirulenta o virulenta<sup>2</sup>. Algunas cepas de este microorganismo producen infecciones intestinales o entéricas en seres humanos, las cuales están muy enfocadas al consumo de moluscos sin cocinar y productos marinos cocinados inadecuadamente<sup>1</sup>.

*V. parahaemolyticus* puede influir negativamente en la calidad sanitaria de los recursos y productos hidrobiológicos con presencia frecuente en moluscos bivalvos asociado al mecanismo de alimentación que tienen estos organismos, conocido como filtración, que les permite capturar micronutrientes y nutrientes del agua, además de favorecer la acumulación y concentración de contaminantes naturales y antropogénicos, siendo estos retenidos en sus órganos. En tanto, su consumo, puede ocasionar serios problemas de salud<sup>3</sup>.

Orozco et al. (2017), llevaron a cabo el rastreo de factores de virulencia como la hemolisina directa termoestable (*tdh*) y, hemolisina relacionados con *tdh*, (*trh*) en *Vibrio parahaemolyticus*, investigación que se realizó entre los años 2010 y 2014 en la ciudad de Pisco, permitió encontrar en el 2011 una cepa positiva, detección relacionada a las altas temperaturas del verano. Este resultado muestra la imperante necesidad de realizar una inspección continua de los recursos y productos hidrobiológicos, para manejar sus efectos sobre la calidad del medio ambiente acuático y recursos y prevenir los efectos malhadados sobre la salud de los consumidores<sup>6</sup>.

En 1991, *V. cholerae* fue causante de la séptima pandemia al arribar inopinadamente en costas peruanas. Ello, marcó el inicio de infecciones en la totalidad del continente americano. Su génesis y las rutas de propagación son un ignoto. Una epidemia de *Vibrio* inició en 1997 en el norte de Chile, siendo detectada por primera vez fuera del continente asiático el clon

pandémico de *Vibrio parahaemolyticus*. Estos 2 casos coincidieron con 2 episodios de El Niño<sup>16</sup>.

El Laboratorio de Referencia Nacional de Enteropatógenos de Perú en marzo del 2009, detectó y confirmó cepas bacterianas de aislamientos clínicos, sobre un brote asociado a *V. parahaemolyticus* en la ciudad de Cajamarca, que estuvo relacionado al consumo de pescados procedentes del puerto de Santa Rosa en la ciudad de Lambayeque<sup>17</sup>.

La concha de abanico de Perú o vieira peruana *Argopecten purpuratus*, uno de los bivalvos más importantes en la maricultura peruana, se distribuye en toda la zona costera, ubicable en aguas con una baja profundidad. Es tanto su impacto económico en el Perú, que está en función del Programa de Control Oficial de Moluscos Bivalvos que contiene la fiscalización de áreas clasificadas para su cultivo tanto suspendido como banco natural a cargo del Organismo Nacional de Sanidad Pesquera – SANIPES.

Perú es un país con una inmensa y amplia gastronomía en especial la marina y tiene como plato bandera el privilegiado ceviche, por tanto, es importante los anuncios, juntas y campañas donde se dé a conocer a la población sobre el gran riesgo de contraer enfermedades diarreicas por la ingesta de recursos y productos marinos crudos o semicrudos inclusive adobado con limón en los que a pesar del pH bajo, *V. parahaemolyticus* ha sido aislado de pescados como de mariscos<sup>3,5</sup>. Divulgar y enseñar a la población sobre este microorganismo es de vital importancia, debido a que puede provocar, desarrollar y dañar en gran medida a las poblaciones débiles y vulnerables<sup>4</sup>.

El control que se aplica en diferentes países está basado en el recuento total indiferenciado de *V. parahaemolyticus* como el indicador de la contaminación de recursos o productos hidrobiológicos dirigido a la prevención de infecciones gastrointestinales; sin embargo, esta medida ha sido escasa para la prevención de los brotes, sería entonces necesario no sólo determinar la concentración sino también evaluar cada cierto tiempo o con una periodicidad que la autoridad sanitaria establezca, el potencial patógeno de las cepas colonizantes<sup>3</sup>.

Con el desarrollo del presente estudio, se tendría bases para plantear la necesidad de una evaluación de riesgo anual de *Vibrio parahaemolyticus* en recursos hidrobiológicos de consumo humano por parte de los organismos de salud pública, así como continuar con la investigación en búsqueda de otros miembros del ahora llamado clon pandémico y el estudio molecular de los genes *tdh* y *trh*, para así tener un perfil genético de las cepas que colonizan nuestros recursos y conocer su potencial patógeno<sup>3</sup>.

Por lo expuesto, se tuvo como objetivo la caracterización fenotípica (características morfológicas, de cultivo, bioquímicas) y genotípica (determinar la presencia de genes de toxicidad) de *Vibrio parahaemolyticus* aislados de zonas de producción de concha de abanico

(*Argopecten purpuratus*) de la bahía de Sechura de julio 2017 a julio 2018.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### Colecta del material biológico

Los moluscos bivalvos concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) fueron colectados del puerto de la Bahía de Sechura – Piura. De cada punto de muestreo (Figura 1 y 2) se seleccionó un aproximado de 15 conchas de

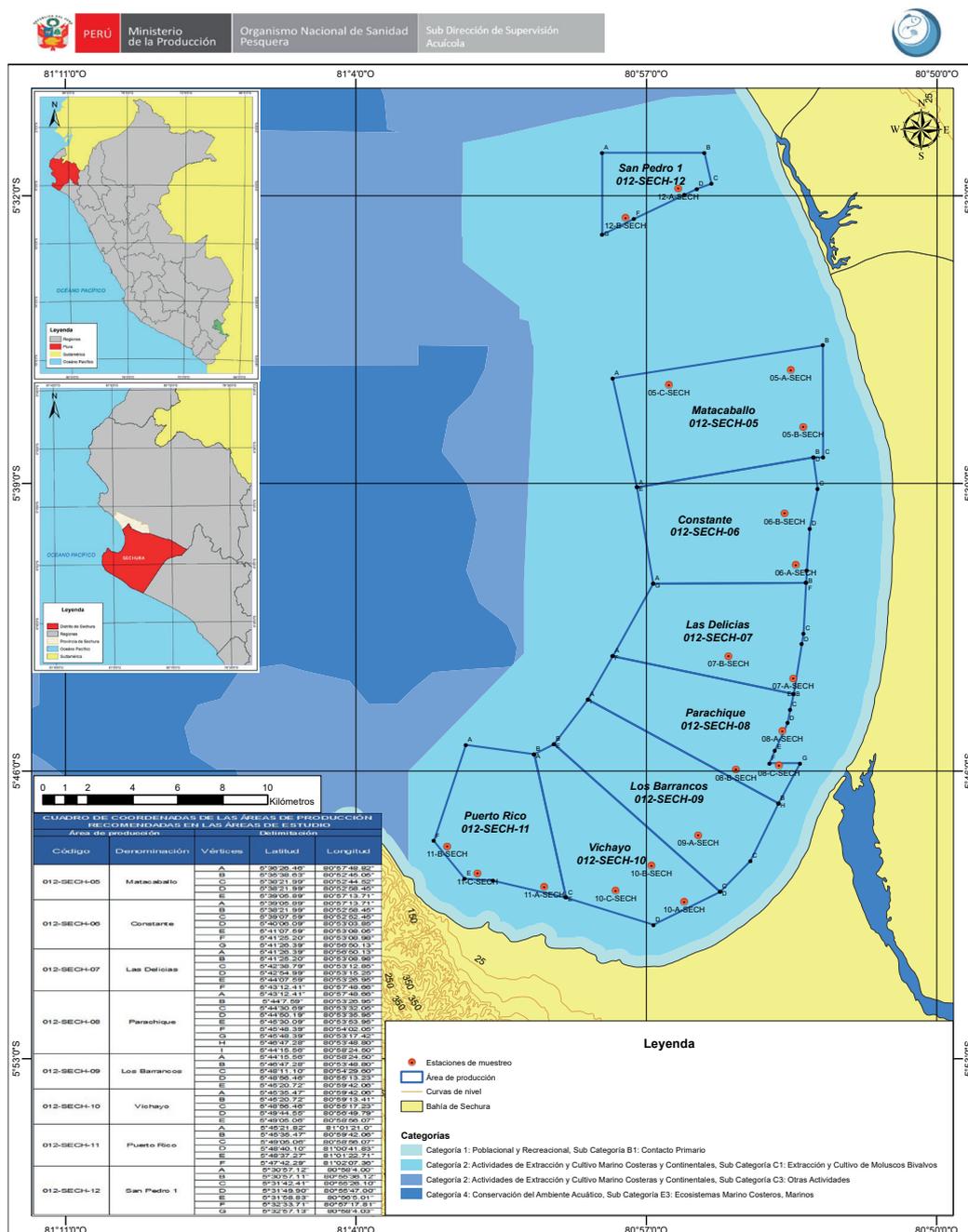


Figura 1. Puntos de nuestros en la Bahía de Sechura.

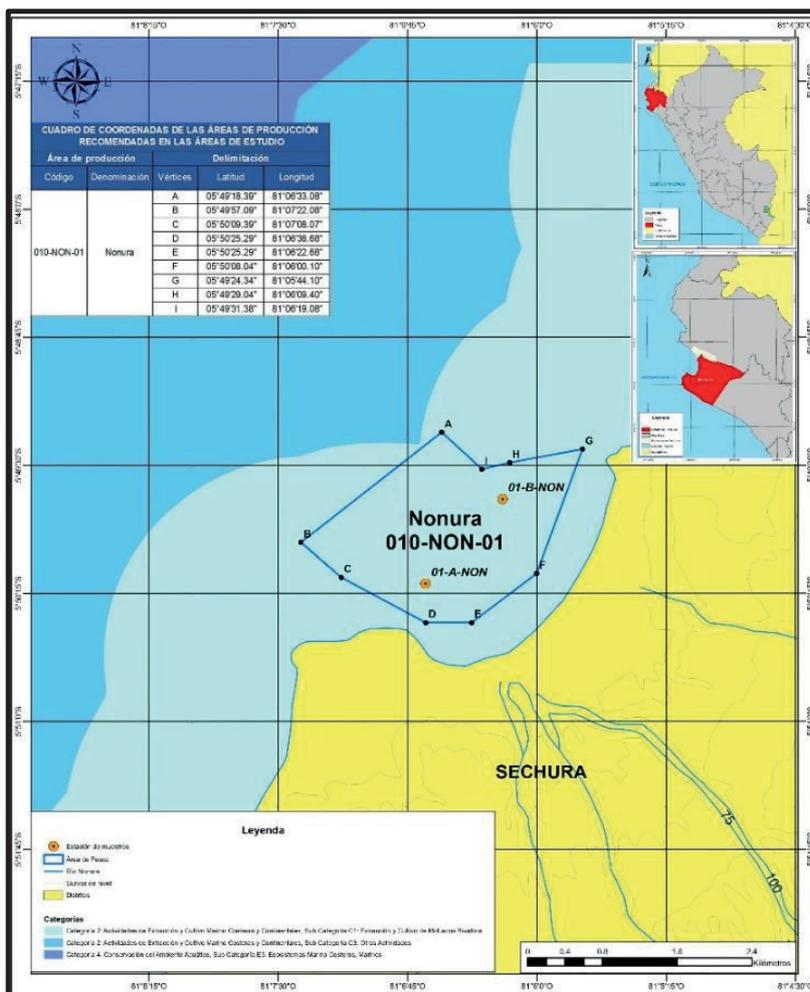


Figura 2. Puntos de nuestros al sur de la Bahía de Sechura.

Fuente: Información obtenida por SANIPES.

abanico, luego fueron colocadas en bolsas de primer uso y trasladadas al laboratorio en condiciones < 10 °C de acuerdo a lo indicado en la ISO 6887-3:2017<sup>7</sup>.

**Preparación de la unidad analítica**

Se seleccionaron 10 unidades, considerando el volumen de carne más líquido intervalvar. Se limpió los moluscos uno a uno bajo el grifo de agua potable y con un cepillo se quitó algas, tierra y otras sustancias, se escurrió y dejó secar en papel absorbente. Después se abrieron las valvas con tijeras y pinzas estériles. Al abrir las valvas, se recogió la carne y el agua intervalvar en un recipiente estéril para luego mezclarlo en un homogeneizador de paletas por 1 min a 230 rpm<sup>7</sup>.

**Análisis de las muestras**

Para la caracterización fenotípica se utilizó el método ISO 21872-1<sup>8</sup> y FDA-BAM<sup>9</sup>, mientras que para la caracterización genotípica se utilizó el método ISO 21872-1<sup>8</sup>.

**Caracterización fenotípica**

Del preparado de la unidad analítica se pesó 25 g con 225 mL de agua peptonada alcalina (APA), se homogeneizó por 1 min a 230 rpm, se incubó a 41,5 °C ± 1 °C por 6 h ± 1 h<sup>8</sup>. Transcurrido el tiempo de incubación,

se transfirió 1 mL a 10 mL de APA, seguido se incubó a 41,5 °C ± 1 °C por 18 h ± 1 h<sup>8</sup>. Posteriormente, se sembró con un asa de 1 µL en agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS-Merck) y agar cromogénico para Vibrio (CHROMagar), ambas placas se incubaron a 37 °C ± 1 °C por 24 h ± 3 h<sup>8</sup>.

Se aislaron colonias sospechosas, en TCBS colonias verdes<sup>8</sup> y en CHROMagar Vibrio™ colonias malvas (púrpuras). Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas<sup>9</sup>: Tinción Gram, oxidasa, L-lisina y ornitina descarboxilasa, arginina dihidrolasa, agar arginina glucosa, agar urea, Voges-Proskauer, beta-galactosidasa, indol, halotolerancia (0 %, 2 %, 6 %, 8 %, 10 %), manitol, arabinosa, lactosa, celobiosa, manosa. Todas las pruebas bioquímicas se incubaron a 37 °C ± 1 °C por 24 h ± 3 h<sup>8</sup>. Como control positivo se utilizó Vibrio parahaemolyticus WDCM 00185<sup>8</sup>.

**Caracterización molecular**

En un microtubo de centrifuga de 1,5 mL se preparó una suspensión bacteriana, inoculando de 3 a 4 asadas de los aislados en agar nutritivo salino de 18 h a 24 h en 1000 µL en agua libre de nucleasas (Himedia). La extracción del ADN se realizó siguiendo las instrucciones del Kit Presto™ Mini gDNA Bacteria. El ADN purificado

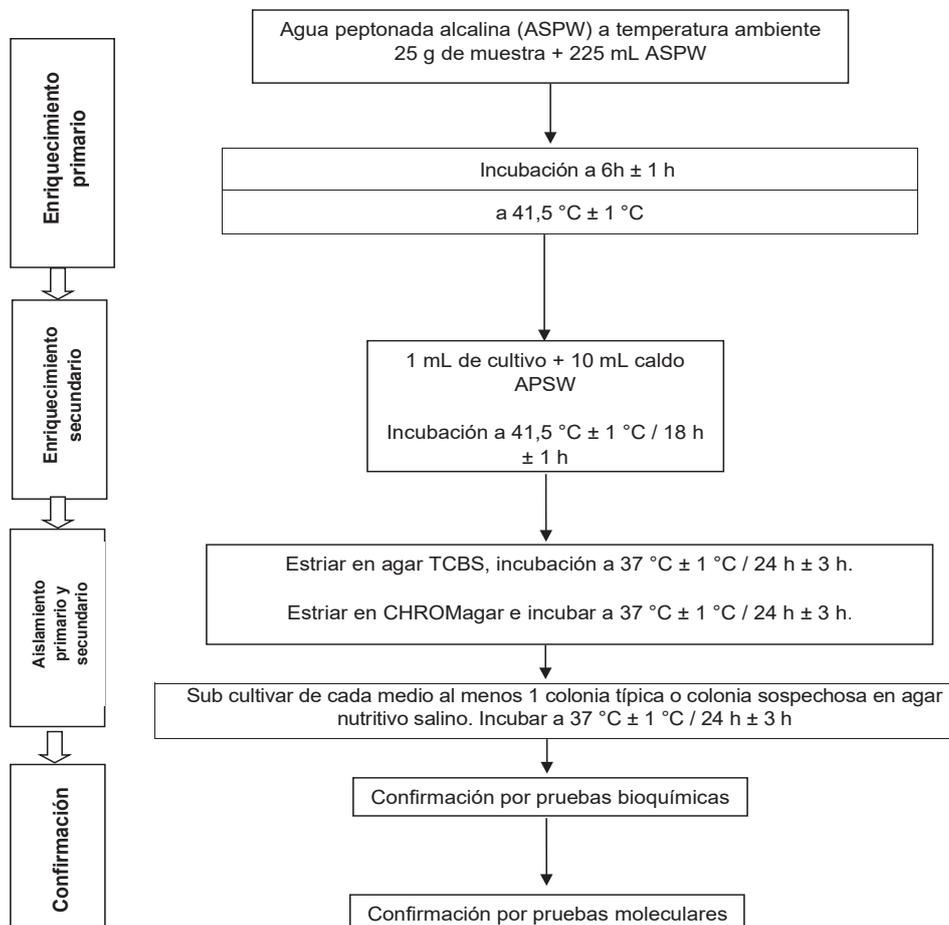
se almacenó a  $< -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>8</sup>. La amplificación por PCR para 2,5  $\mu\text{L}$  de ADN extraído, contenía la siguiente mezcla de reacción: 10  $\mu\text{L}$  de buffer de reacción, 5  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 0,625  $\mu\text{L}$  de dNTPs (20 mM), 0,5  $\mu\text{L}$  de cada cebador 100  $\mu\text{M}$  (forward y reverse), 0,25  $\mu\text{L}$  de enzima Taq polimerasa y 30,625  $\mu\text{L}$  de agua libre de nucleasas<sup>8</sup>. Para la detección del gen *VpToxR* se siguieron los parámetros de: desnaturalización inicial a  $96\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 5 min y extensión final a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 7 min. Se realizó 30 ciclos en la etapa de amplificación mediante los siguientes parámetros: desnaturalización a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1 min, alineamiento de los cebadores a  $63\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1,5 min y la extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1,5 min. Para la detección de los genes *tdh* y *trh* se siguió los parámetros de: desnaturalización

inicial a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 3 min y extensión final a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 5 min. Se realizó 30 ciclos en la etapa de amplificación mediante los siguientes parámetros: desnaturalización a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1 min, alineamiento de los cebadores a  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1 min y la extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  / 1 min<sup>8</sup>. Para el control del *toxR* se usó el *Vibrio parahaemolyticus* WDCM 00185, *tdh* *Vibrio parahaemolyticus* NCTC 10884 y *trh* *Vibrio parahaemolyticus* WDCM 00037<sup>8</sup>.

Todos los amplicones fueron analizados mediante el sistema de electroforesis de Bio-Rad con un gel de agarosa (1,5%), con buffer TAE 1X, a 100 V durante 30 minutos. Los cebadores usados son mostrados en la tabla 1. (Fig 3).

**Tabla 1.** Cebadores empleados para la detección *Vibrio parahaemolyticus*, según la ISO 21872-1<sup>8</sup>.

Cebador	Secuencia (5' a 3')	Identificación	Tamaño en pares de base
VpToxF	GTCTTCTGACGCAATCGTTG	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	368
VpToxR	ATACGAGTGGTTGCTATG		
tdhF	GTAAGGTCTCTGACTTTTGGAC	Hemolisina termoestable directa	269
tdhR	TGGAATAGAACCTTCATCTTCACC		
trhF	TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT	Hemolisina relacionada a <i>tdh</i>	500
trhR	CATAACAAACATATGCCCATTTCC		



**Fig. 3.** Flujograma del trabajo y procedimientos desarrollados.

## RESULTADOS

De 203 muestras analizadas se aislaron 97 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (45,8 %).

Los resultados fenotípicos y genotípicos se muestran en la tabla 2 y 3, respectivamente. (Fig 4,5 y 6).

## DISCUSIÓN

*Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria que puede o no contener genes de virulencia y que es posible hallarlas en zonas de la costa, conexiones entre agua continental y marina conocidas como zonas estuarinas y en el ámbito

**Tabla 2.** Características fenotípicas de 97 cepas identificadas de *Vibrio parahaemolyticus*

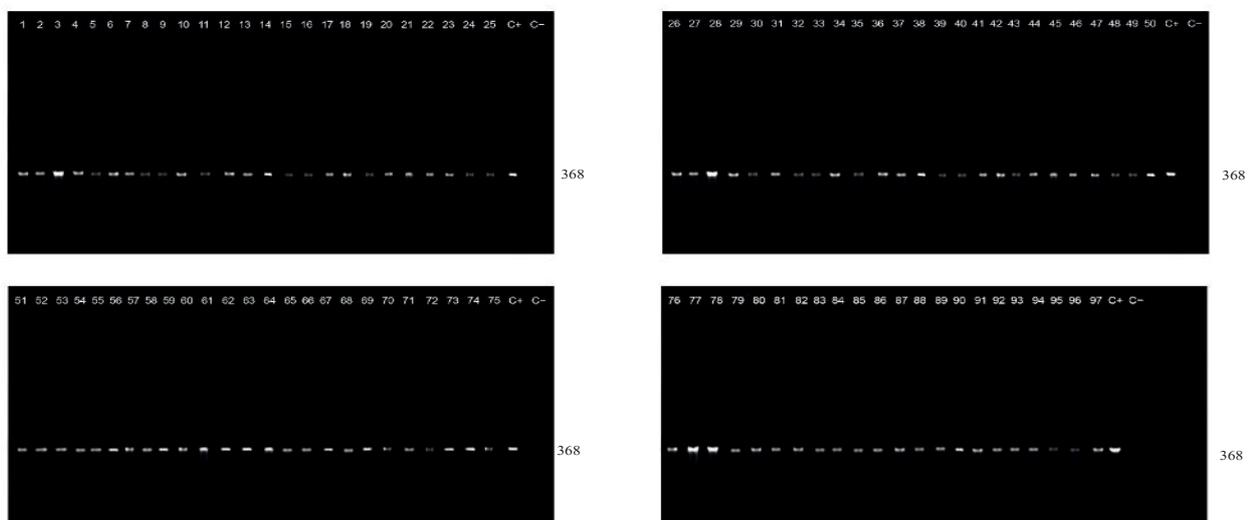
Prueba	Resultado <sup>a</sup>	Prueba	Resultado <sup>a</sup>
Oxidasa	+ (100%)	Manitol	+ (84.5%)
ONPG	+ (3.1%)	Arabinosa	- (100%)
Ornitina	+ (61.9%)	Lactosa	- (100%)
Arginina dihidrolasa	+ (18.6%)	Celobiosa	- (100%)
Lisina descarboxilasa	+ (86.6%)	Manosa	+ (100%)
AGS	K/A (83.5%)		
Agar Urea	+ (53.6%)		
Voges-Proskauer	+ (17.5%)		
Indol	+ (85.6%)		
Halotolerancia:			
0% NaCl	- (100%)		
2% NaCl	+ (98%)		
6% NaCl	+ (93.8%)		
8% NaCl	+ (57.7%)		
10% NaCl	- (100%)		

<sup>a</sup> Si una o más cepas dieron un resultado variable, entre paréntesis se da el porcentaje de las cepas que dieron el resultado indicado por el signo.

**Tabla 3.** Características genotípicas de 97 cepas identificadas de *Vibrio parahaemolyticus*

Prueba	Resultado <sup>a</sup>
Gen <i>VptoxR</i>	+ (100%)
Gen <i>tdh</i>	- (100%)
Gen <i>trh</i>	+ (1%)

<sup>a</sup> Si una o más cepas dieron un resultado variable, entre paréntesis se da el porcentaje de las cepas que dieron el resultado indicado por el signo.



**Fig. 4.** Gel de electroforesis para el Gen *VptoxR*.

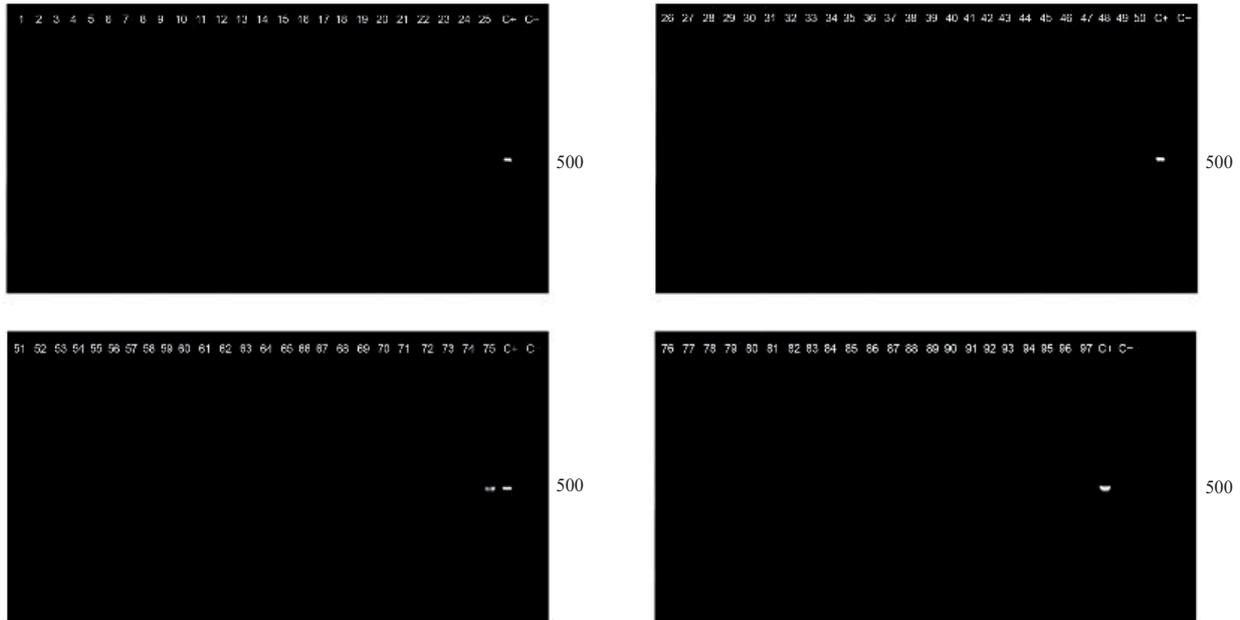


Fig. 5. Gel de electroforesis para el Gen *trh*.

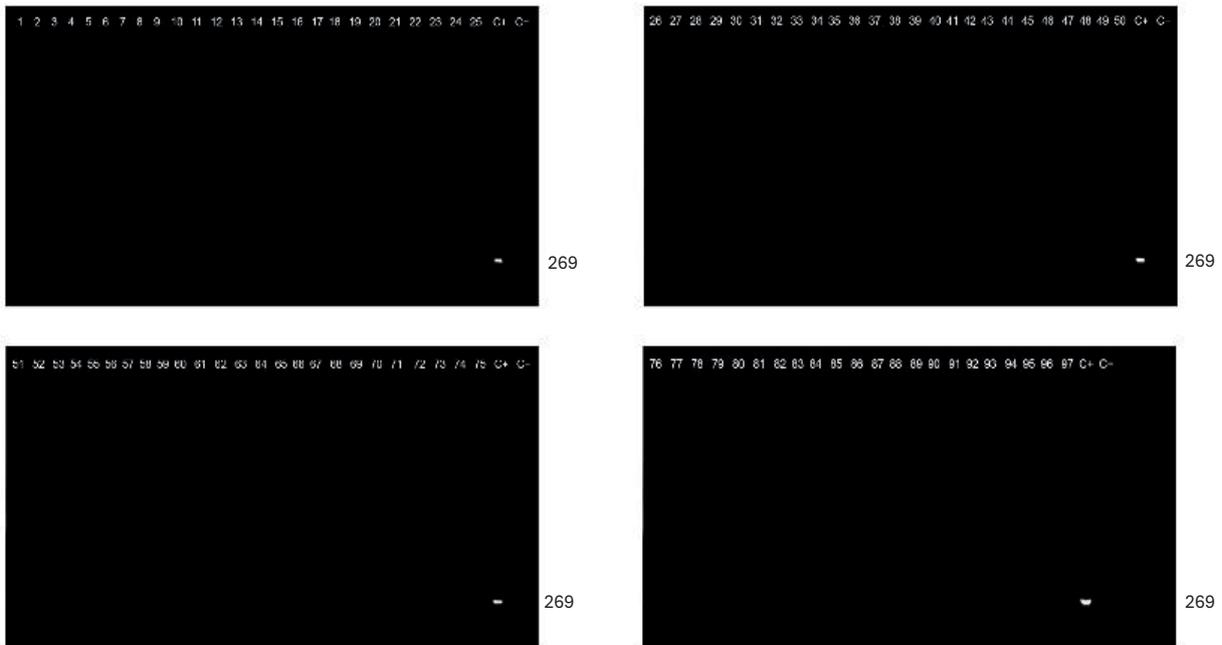


Fig. 6. Gel de electroforesis para el Gen *tdh*.

marino, es más en recursos y productos hidrobiológicos. En este trabajo se analizaron 203 muestras de las cuales se aislaron 97 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* representando el 45,8% de las muestras examinadas. Esta presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en muestras de recursos y productos hidrobiológicos es contrastada con trabajos en los que realizaron un análisis de 254 muestras de la cual se obtuvieron 15 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (5,9%), distribuidas en 9 cepas a partir de pescado y 6 cepas a partir de molusco bivalvos<sup>2</sup>, a su vez con una investigación donde de 510 muestras

de marisco, el 14% de muestras se encontró *Vibrio parahaemolyticus*<sup>10</sup>, en otro trabajo los resultados de PCR detectaron cepas de *Vibrio parahaemolyticus* en un 24% (44/180) de las muestras de mariscos<sup>13</sup>, en China en un mercado de venta minorista encontraron una tasa de aislamiento de *V. parahaemolyticus* en productos acuáticos del 71,6 %<sup>18</sup>. Esto hace suponer que tiene una expansión muy heterogénea; y esto quizás por la misma naturaleza de los diversos factores bióticos y/o abióticos presentes en diversas condiciones ambientales en las que se realizaron estas investigaciones, dejando en evidencia

una alta probabilidad de detección en recursos y productos hidrobiológicos.

En relación a las pruebas bioquímicas realizadas en el presente estudio se obtuvieron que para la lisina descarboxilasa un resultado del 86,6% y para el indol un resultado del 85,6 % de positividad; esto se puede comparar a un nivel significativo con los resultados obtenidos en Japón<sup>11</sup> donde en un estudio, para la lisina y el indol dio un resultado del 99,5% y 99,4% respectivamente. Analizando lo descrito se evidencia una diferencia de aproximadamente un 13,5%, teniendo en cuenta que en ambos estudios sobrepasa el 50% de positividad, puede darse como regla general resultados positivos para *Vibrio parahaemolyticus* en las bioquímicas antes mencionadas. La revisar la prueba de Voges-Proskauer de la referencia FDA-BAM<sup>9</sup>, para *Vibrio parahaemolyticus* debería ser 100% negativas, esto es concordante con lo encontrado en las cepas aisladas en Japón<sup>11</sup>, sin embargo, en este trabajo se pudo encontrar que para la prueba antes mencionada tuvo expresiones fenotípicas variables con un 17,5% de positividad y un 82,5% de negatividad. Otro caso es con prueba de la ornitina descarboxilasa que para este estudio tuvo un 61,9% de positividad mientras que para la investigación hecha en Japón<sup>11</sup> dio como resultado una positividad del 98,1%, existiendo una diferencia marcada del 36,2%. Sin embargo, es importante aclarar que aun existiendo estas diferencias todas las cepas analizadas en los estudios portaban el gen *toxR*<sup>11</sup> confirmando la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*. Las pruebas fenotípicas son evaluaciones bioquímicas, sobre rasgos y/o características apreciables o expresadas y marcadas para cada tipo de microorganismo, muchas veces estas pruebas pueden ser totalmente negativas o positivas y que servirían para tipificar especies bacterianas; existe muchos casos en que siendo la misma especie bacteriana confirmadas por técnicas moleculares pueden presentar variaciones fenotípicas, verbigracia, en este estudio y con los realizados en Japón<sup>11</sup>, a pesar de ser cepas bacterianas confirmadas como *Vibrio parahaemolyticus* mediante su gen de especificidad *toxR* (*VpTox*), presentan variaciones de expresión fenotípica muy marcadas. Finalmente, todas las diferencias y/o discrepancias pueden darse por interacción de su genoma sobre el medio ambiente que lo circunda, de esta manera permite o no la expresión de sus genes, llegando hasta regular, cambios en la virulencia del microorganismo o la aparición de resistencia a determinados antibióticos, entre otros detalles.

Se evidenció que existe una gran variación en las características fenotípicas, posiblemente por el entorno ambiental, la diversas condiciones hacen que puedan tener expresiones distintas, sin embargo, la proporcionalidad entre las diferentes referencias sobre el perfil bioquímico guarda estrecha relaciones con ciertas peculiaridades.

El crecimiento en el agar cromogénico para vibrios (CHROMagar Vibrio<sup>TM</sup>) dieron como expresión fenotípica un color malva (púrpura) característico en el medio de cultivo, que permitió distinguirla de otras cepas bacterianas, todas las cepas aisladas en este medio

de cultivo confirmaron molecularmente la presencia del gen *toxR* (*VpTox*), un gen específico para *Vibrio parahaemolyticus*. Este medio de cultivo cromogénico demostró ser de mucha utilidad por su alta sensibilidad y especificidad para seleccionar correctamente una cepa de *Vibrio parahaemolyticus*. Estos resultados son coincidentes con los publicados por Hara-Kudo<sup>12</sup>, donde aislaron *V. parahaemolyticus* con una alta frecuencia a partir de mariscos contaminados de forma natural utilizando agar cromogénico para vibrios en lugar del agar TCBS, que es el que normalmente se utiliza para el aislamiento de la cepa antes mencionada.

El gen *toxR* está presente en varios vibrios, pero lo que lo hace útil es su bajo nivel de homología entre las distintas especies de vibrio<sup>11</sup>. Este gen *toxR* se detectó como un gen regulador del operón de la toxina del cólera y de otros genes de *Vibrio cholerae*, es en ese sentido que los cebadores para *Vibrio parahaemolyticus* se eligieron de regiones donde las secuencias *toxR* de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* son distintas<sup>11</sup>. Para este estudio los resultados coinciden con los obtenidos por Bauer & Rørvik<sup>13</sup>, indicando que el gen *toxR* es el más adecuado para identificar *Vibrio parahaemolyticus*.

Se consideran bacterias toxigénicas a las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que contienen en su genoma los genes *trh* y *tdh*, ya que desarrollan o generan una acción tóxica sobre los glóbulos rojos humanos. Sin embargo, es sabido que independientemente de la presencia de estos genes a los que se pueden reportar como *trh* y *tdh* negativo, puede haber otros factores de patogenicidad.

Este estudio encontró *Vibrio parahaemolyticus trh*-positivo para 1 cepa (1%), no se detectó cepas con *tdh*-positivo, en los aislados de las muestras de moluscos bivalvos. Los resultados fueron concordantes con los reportados por Stratev et al.<sup>14</sup> en los que evidenció también *V. parahaemolyticus trh* positivo para una muestra (2%) y no encontró *tdh* positivo. De igual forma Tran et al.<sup>15</sup> encontró en moluscos bivalvos de cultivo, que, de 16 muestras, 1 muestra contenía *V. parahaemolyticus trh* positivo (6,3%) y ninguna cepa presentaba el gen *tdh*, adicional analizaron muestras moluscos bivalvos de mercado, en este caso detectaron que de 298 muestras, 4 muestras (1,3%) presentaban el gen *trh* y 22 muestras (87,2%) presentaban el gen *tdh*. Esto es probable por la contaminación cruzada entre mariscos sin cocinar y el contacto con utensilios de corte alimentario; problema que se presenta cuando no se cuenta con conocimiento de buenas prácticas de manufactura.

Un caso particular es el reportado por Zamudio et al.<sup>17</sup> en el que detectaron 24 cepas que fueron confirmadas mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) confirmando la presencia el gen específico *toxR*. Estos resultados son coincidentes al 100% de los obtenidos en este trabajo. Sumado a esto, investigaron la presencia de los genes *tdh* y *trh*, obteniendo como resultado que todas las cepas investigadas como *Vibrio parahaemolyticus* presentaron el gen *tdh*, que es el factor de virulencia predominante en esta especie, mientras que fueron negativas para el gen *trh*. Otro trabajo realizado por inves-

tigadores en China<sup>19</sup> examinaron sesenta aislamientos *tdh+* *trh-* de *Vibrio parahaemolyticus*. Con respecto a los resultados evidenciados en este trabajo, no son coincidentes con los mencionados con antelación, ya que se obtuvo una totalidad de cepas negativas para el gen *tdh*, esto posiblemente se deba al origen de las muestras, es decir muestras de origen clínico de pacientes con signos y síntomas de problemas gastrointestinales versus muestras de origen ambiental.

## CONCLUSIONES

En este estudio de caracterización fenotípica y genotípica, se confirmaron 97 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (45,8%) aislados en concha de abanico de la bahía de Sechura. El uso de un agar cromogénico supera considerablemente la posibilidad de detectar con gran precisión y veracidad las 97 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (100%) y que son validadas mediante la detección del gen *toxR* (*VpTox*), que es un gen de especificidad. Finalmente, existe una baja probabilidad (1%) de detectar cepas que contengan el gen *tdh*.

## REFERENCIAS

- De Paola A, Hopkins LH, Peeler JT, Wentz B, McPhearson RM. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. coastal waters and oysters. *Appl Environ Microbiol.* 1990; 56(8):2299-302. <https://doi.org/10.1128/aem.56.8.2299-2302.1990>
- Aliaga R, Miranda J, Zevallos J. Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Rev Med Hered.* 2010; 21(3): 139-145.
- García CV, Antillón GF. Aislamiento de vibrios enteropatógenos de bivalvos y ceno del Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 1990; 38(2B):437-440.
- Ramos CS. *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 y sus variantes pandémicas en Perú y *Vibrio cholerae* O1 El Tor en Haití: ¿Dos amenazas para la región? *Rev Med Hered.* 2010 Oct; 21(4): 173-174.
- Vilcapoma A, Flores A, León J, Alvarado D. Determinación de la frecuencia de *Vibrio parahaemolyticus* y otros vibriones halófilos en alimentos preparados con productos marinos frescos y procesados. *Rev Peru Biol.* 1992; 4(1-2):17-20.
- Orozco R, Quispe Y, Lorenzo A, Zamudio ML. Asociación de floraciones de algas nocivas y *Vibrio* spp. en áreas de pesca y acuicultura de bivalvos de moluscos en las bahías de Sechura y Pisco, Perú. *Rev Peru Biol.* 2017; 24(1): 111-116. <https://doi.org/10.15381/rpb.v24i1.13111>
- ISO 6887-3. Microbiology of the food chain -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products. [Internet] 2017. [Citado 27 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/63337.html>
- ISO 21872-1. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the determination of *Vibrio* spp. -- Part 1: Detection of potentially enteropathogenic *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus*. [Internet] 2017. [Citado 12 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/74112.html>
- Kaysner CA, DePaola A Jr, Jones J. BAM Chapter 9: *Vibrio*. [Internet]. 2004 [Citado 27 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio>
- Ayres PA, Barrow GI. The distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in British coastal waters: report of a collaborative study 1975-6. *J Hyg. Abril de 1978; 80(2):281-94.* <https://doi.org/10.1017/s002217240005364x>
- Kim YB, Okuda J, Matsumoto C, Takahashi N, Hashimoto S, Nishibuchi M. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(4):1173-7. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.4.1173-1177.1999>
- Hara-Kudo Y, Nishina T, Nakagawa H, Konuma H, Hasegawa J, Kumagai S. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Appl Environ Microbiol.* 2001; 67(12):5819-23. <https://doi.org/10.1128/aem.67.12.5819-5823.2001>
- Bauer A, Rørvik LM. A novel multiplex PCR for the identification of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus*. *Lett Appl Microbiol.* Octubre de 2007; 45(4):371-5. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2007.02195.x>
- Stratev D, Fasulkova R, Krumova-Valcheva G. Incidence, virulence genes and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood. *Microb Pathog.* 2023; 177:106050. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106050>
- Tran TH, Yanagawa H, Nguyen KT, Hara-Kudo Y, Taniguchi T, Hayashidani H. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood and water environment in the Mekong Delta, Vietnam. *J Vet Med Sci.* 2018; 80(11):1737-42. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0241>
- Martínez-Urtaza J, Huapaya B, Gavilan R, Blanco-Abad V, Ansedo-Bermejo J, Cadarso-Suarez C, Figueiras A, Trinanés J. Emergence of Asiatic *Vibrio* diseases in South America in phase with El Niño. *Epidem* 2008; 19(6), 829-837. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181883d43>
- Zamudio M, Meza A, Bailón H, Martínez-Urtaza J, Campos J. Experiencias en la vigilancia epidemiológica de agentes patógenos transmitidos por alimentos a través de electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud pública* 2011; 28(1), 128-135.
- Zhou H, Liu X, Hu W, Yang J, Jiang H, Sun X, et al. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from retail aquatic products in Nanjing, China. *Food Res Int.* 2022; 162(112026):112026. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112026>
- Sun J, Li X, Hu Z, Xue X, Zhang M, et al. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from stool specimens of diarrhea patients in Nantong, Jiangsu, China during 2018-2020. *PLOS ONE.* 2022; 17(8): e0273700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273700>

### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

### Fuente de financiamiento

El presente trabajo fue financiado a través de recursos propios de los investigadores.