

DETERMINACION DE LA FRECUENCIA DE *Vibrio parahaemolyticus* y OTROS VIBRIONES HALOFILICOS EN ALIMENTOS PREPARADOS CON PRODUCTOS MARINOS FRESCOS Y PROCESADOS

AMABILIA VILCAPOMA, ABAD FLORES, JORGE LEÓN Y DÉBORA ALVARADO

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas ICBAR Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

SUMARIO

El trabajo se realizó durante las estaciones de verano a otoño de 1988, sobre un total de 122 muestras, correspondiendo 82 a pescado congelado y 40 a cebiches, en su mayoría de tipo "mixto"; todos procedentes de la ciudad de Lima. El procesamiento de las muestras y el aislamiento de los vibrios se efectuaron siguiendo la metodología recomendada por la FDA (1985), con algunas modificaciones. La identificación de las cepas se realizó en base a características de colonia, morfología celular y pruebas bioquímicas diferenciales. Se obtuvieron 57 cepas presuntivas de vibriones halofílicos, de las cuales 42 procedieron de pescado congelado y 15 de "cebiches"; se identificaron 5 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (8.8%) y 14 cepas de *Vibrio alginolyticus* (24.6%) 38 cepas de *Vibrio* no fueron especificados, catalogándose como *Vibrio* sp. (66.6%).

SUMMARY

This work was carried out in 1988 during summer and autumn seasons. 122 samples were tested; 88 from frozen fish, 40 from "cebiche" marketed in Lima. To processing and to isolate the halophilic vibrios it was followed the suggestion of FDA (1985). characterization of the isolates were done on morphological and cultural characteristics and biochemical tests 57 presumptive strains were isolated, 42 from frozen fish and 15 from "cebiches". 5 strains were identified as *Vibrio parahaemolyticus* (8.8%) and 14 strains like *Vibrio alginolyticus* (24.6%). 38 strains were characterized as *Vibrio* sp. (66.6%).

INTRODUCCION

Los vibriones se encuentran ampliamente distribuidos en ambientes acuáticos y sobre organismos marinos (Baross 1970; De Paola y cols., 1988). Algunas especies se encuentran asociadas con cuadros de gastroenteritis producidos por el consumo de alimentos marinos crudos o semicrudos y por su inadecuado manejo (Barker, 1974; Blake y cols., 1980; Daisman y col. 1973).

A nivel internacional se han aislado especies del género *Vibrio* de moluscos, peces y otros organismos marinos empleados en la alimentación humana (Blake y cols., 1980; De Paola y cols., 1990; Earle y col., 1975; West, 1989).

En trabajos nacionales realizados previamente se han aislado *Vibrio parahaemolyticus* a partir de pescado fresco, moluscos y crustáceos (Guevara y cols., 1973; Miranda, 1976), lo cual hace posible pensar que este microorganismo

se puede encontrar en alimentos preparados a partir de estos productos al estado semicrudo como el "cebiche", alimento tradicional del Perú.

En nuestro país, debido a la arraigada costumbre de consumir pescado preparado bajo diversas formas, se hizo necesaria la búsqueda y determinación de vibriones holofílicos potencialmente patógenos para el hombre a partir de productos pesqueros frescos y procesados.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó durante los meses de Enero a Julio de 1988. Las muestras procesadas correspondieron a pescado congelado y "cebiches".

Las muestras de pescado congelado, en un número de 82, fueron adquiridas en los puestos de venta FRESCOPEZ y correspondieron en su totalidad a la especie marina *Trachurus symmetricus murphyi* "jurel".

Las muestras de "cebiche" en un número de 40, fueron en su mayoría del tipo "mixto" (machas, choros, almejas, tollo, calamar y variedades de pescado), las que fueron adquiridas en los lugares de expendio en el interior del mercado "polvos azules" y en puestos ambulatórios ubicados en diversos lugares del Cercado de Lima.

Las muestras se recogieron en bolsas nuevas de polietileno, con la codificación correspondiente. El transporte se realizó en cajas térmicas a 4°C de temperatura. El procesamiento de las muestras en el laboratorio y el aislamiento de los vibriones de interés para el trabajo, se efectuó de acuerdo a la metodología recomendada por la FDA (Twedt, 1985), con algunas modificaciones establecidas por los autores.

Se utilizó como diluyente solución salina peptonada con 3% de ClNa, seguido

de un pre-enriquecimiento en Caldo Triplicasa soya con 3% de ClNa por 8 h. a 35°C. El aislamiento se realizó en el Agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS), incubados a 35°C, por 18 - 24 h. En el medio TCBS se procedió al reconocimiento presuntivo de las colonias de vibriones tomando en consideración sus características culturales, y su morfología celular.

La identificación de los vibriones aislados se realizó mediante pruebas bioquímicas diferenciales, recomendadas, tanto en el Manual de la FDA (Twedt, 1985), como en el Manual de Bergey, (1984).

RESULTADOS

De un total de 57 cepas presuntivas de *Vibrio* aisladas, 42 (73.6%) correspondieron a muestras de pescado congelado y 15 (26.4%) a muestras de "cebiche"; habiéndose identificado 5 cepas (8.8%) con características de *Vibrio parahaemolyticus* y 14 cepas (24.6%) con las de *Vibrio alginolyticus*; las 38 cepas restantes (66.6%), cuyos resultados en las pruebas bioquímicas no fueron concluyentes, se agruparon como *Vibrio* sp. (Tabla 1).

La Tabla 2 muestra la distribución de los vibriones en el pescado de acuerdo a las zonas analizadas (agallas, mucus y contenido intestinal), observándose que la mayoría de las cepas proceden de las agallas.

DISCUSION

El aislamiento de las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio alginolyticus* a partir de pescado congelado indican la gran resistencia de las especies de *Vibrio* a las bajas temperaturas, por su característica de ser psicrófilos y altamente resistentes a las condiciones de "stress" (Beuchat, 1973).

En las muestras de "cebiche", la presencia del grupo microbiano en estudio disminuye considerablemente; sin embargo, se han aislado cepas de *Vibrio* no especificados en un alto porcentaje, lo que demuestra su persistencia a pesar del tratamiento al que han sido sometidos (ácido de limón y condimentos). La persistencia está relacionada con el cebiche recientemente preparado, especialmente a base de mariscos o "cebiches mixtos".

En el pescado congelado la distribu-

ción de los vibrones halofílicos varía de acuerdo a la zona analizada del pescado, habiéndose aislado principalmente de las agallas y del mucus cutáneo, el mismo que se justifica por la función que cumple cada estructura en el pez.

El hallazgo de vibrones halofílicos en alimentos frescos y procesados de origen marino, constituyen un peligro potencial y continuo de toxoinfección alimentaria para el consumidor; motivo por el que se recomienda un control continuo de estos productos, especialmente en los meses de verano.

TABLA 1
DISTRIBUCION NUMERICA Y PORCENTUAL DE VIBRIONES HALOFILICOS AISLADOS DE MUESTRAS DE PESCADO CONGELADO Y "CEBICHES"

Especies de <i>Vibrio</i>	Pescado congelado		Cebiches		Total de cepas	
	No.	%	No.	%	No.	%
	Muestras					
<i>V. parahaemolyticus</i>	5	8.8	0	0	5	8.8
<i>V. alginolyticus</i>	12	21.8	2	3.6	14	24.6
<i>Vibrio</i> sp.	25	43.8	13	22.8	38	66.6
T O T A L	42	73.6	15	26.4	57	100.0

TABLA 2
DISTRIBUCION DE LOS VIBRIONES HALOFILICOS EN MUESTRAS DE PESCADOS CONGELADOS

Especies de <i>Vibrio</i>	Agallas		Mucus		Contenido Intestinal		Total de cepas	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
<i>V. parahaemolyticus</i>	3	7.1	2	4.8	0	0	5	11.9
<i>V. alginolyticus</i>	10	23.8	2	4.8	0	9	12	28.6
<i>Vibrio</i> sp.	12	28.6	8	19.0	5	11.9	25	59.5
T O T A L	25	59.5	12	28.6	5	11.9	42	100.0

REFERENCIAS

- BARKER, W. H. 1970. Shellfish related gastroenteritis. *N. Engl. J. Med.* 283: 319-322.
- BAROSS, J. and LISTON, J. 1970. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and related hemolytic vibrios in marine environments of Washington State. *Appl. Microbiol.* 20: 176-186.
- BAUMANN, P. 1984. Genus I *Vibrio*. In *Bergeys' Manual of Systematic bacteriology*, ed. J. G. Holt and N. R. Krieg, 9th Ed. pp. 518-538, Baltimore: The Williams & Wilkins Co.
- BEUCHAT, L. R. 1973. Interacting effects of pH, temperature and sal concentration on growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Microbiol.* 25: 844-846.
- BLAKE, A. WEAVER, R. and HOLLIS, D. 1980. Diseases of Humans (other than cholera) caused by vibrios. *Ann. Rev. Microbiol.* 34: 341-367.
- DADISMAN, T. A. et al 1973. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland. I clinical and epidemiologic aspects. *Amer. J. Epidemiol.* 96:414-426.
- DE PAOLA, A., HOPKINS, L. H. and McPHEARSON, R. M. 1988. Evaluation of four methods for enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 617-618.
- DE PAOLA, A. et al. 1990. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. coastal waters and oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2299-2302.
- EARLE, P. M., CRISLEY, F. D. 1975. Isolation and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from Cape Cod soft-shell clams (*Mya arenaria*). *Appl. Microbiology.* 29: 635-640.
- GUEVARA, J. M., ROEL, S. and VALENCIA, E. 1982. The first isolation Kanagawa positive *Vibrio parahaemolyticus* in Perú. III International Congress of Microbiology, Boston Massachusetts, U.S.A.
- GUEVARA, J. M., ROEL, S. y CHAVEZ, R. 1984. *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos, pescados y agua de mar del puerto de pescadores de Chorillos, Lima-Perú. *Bol. Med. Trop. U.N. M.S.M. (Lima)* 3: 3-4.
- MIRANDA, M.V. 1976. Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* en pescado fresco. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- TWEDT, R. 1985. Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus*. In *FDA Bacteriological Analytical Manual* 6th Ed. U.S.A.
- WEST, P. A. 1989. The Human pathogenic vibrios a public health update with environmental perspectives. *Epidemiol. Infect.* 103: 1-34.