

# IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL GÉNERO *Vibrio* ASOCIADAS A ZONAS PRODUCTORAS DE MOLUSCOS BIVALVOS, ESTADO SUCRE, VENEZUELA

## Identification of Bacteria of the Genus *Vibrio* Associated to Zones of Bivalve Mollusks Extraction, Sucre State, Venezuela

Daniel Muñoz<sup>1\*</sup>, Crucita Graü de Marín<sup>2</sup>, Hilda Marval<sup>2</sup> y Carlos Martínez<sup>3</sup> †

<sup>1</sup>Liceo Bolivariano "José Silverio González".

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Sucre/Nueva Esparta) - Laboratorio de Microbiología de Alimentos.

<sup>3</sup>Liceo Bolivariano Creación "Tres Picos". \* d\_josem77@hotmail.com / danieljosemz@gmail.com

### RESUMEN

En los últimos años se ha incrementado el interés sobre la investigación de vibrios en los sistemas marinos costeros, ya que son la causa principal de afecciones gastrointestinales asociadas al consumo de moluscos bivalvos. Un total de 192 muestras de moluscos bivalvos, obtenidas entre abril 2006 a julio 2007, provenientes de Punta Patilla, Bahía Iglesia, Isla Lobos-Chacopata y Bahía Güiría, estado Sucre, Venezuela, se estudiaron para determinar la presencia de especies del género *Vibrio* asociadas a zonas de producción de bivalvos, aportando información sobre dichas especies, principalmente de las que pueden constituir un riesgo a la salud humana. En las muestras de bivalvos se identificaron siete especies pertenecientes al género *Vibrio*: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* no O1, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* y *V. hollisae*, observándose que la mayoría de las cepas correspondieron a *V. alginolyticus* (57,4%) seguida de *V. parahaemolyticus* (22,7%), en todas las muestras probadas de las distintas zonas de estudio. En conclusión, diferentes especies de *Vibrio* de importancia clínica fueron aisladas de moluscos bivalvos, lo que indica que existen condiciones favorables para su hábitat. Por ello, se debe considerar su vinculación en posibles infecciones adquiridas por el consumo de alimentos marinos crudos o mal cocidos.

**Palabras clave:** Moluscos bivalvos, *Vibrio* spp., patógenos.

### ABSTRACT

During last years interest on research about vibrios in marine coastal systems has increased, since they are the main cause of gastrointestinal affections associated to bivalve mollusk consumption. In this regard, a total of 192 samples of bivalve mollusks were analyzed between April 2006 and July 2007 from Punta Patilla, Bahía Iglesia, Isla Lobos-Chacopata and Bahía Güiría, Sucre State, Venezuela, in order to detect the presence of species of the genus *Vibrio* associated to zones of bivalve mollusks extraction. Information is provided about these species, focusing on those than represent a threat to human health. Seven species of *Vibrio* were identified: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* no O1, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* and *V. hollisae*. Most strains were identified as *V. alginolyticus* (57.4%) followed by *V. parahaemolyticus* (22.7%), in the evaluated samples. In conclusion, different species of *Vibrio* of clinical importance were isolated from bivalve mollusks, which indicate that favorable conditions exist within these habitats. In consequence, their association to possible infections by consumption of raw or inadequately cooked marine products should be considered.

**Key words:** Bivalve mollusks, *Vibrio* spp., pathogen.

### INTRODUCCIÓN

Desde principios del siglo pasado, numerosas investigaciones sobre microorganismos asociados a bivalvos se han publicado alrededor del mundo, debido a que algunos de éstos pueden ser patógenos. La mayoría de los estudios publicados se enfocan en miembros de la familia *Vibrionaceae* [5, 45, 50].

Los vibrios fueron uno de los primeros grupos bacterianos en ser reconocidos y descritos taxonómicamente en la naturaleza por Pacini en 1854 [35].

Diversos estudios han demostrado que los vibrios se encuentran en altas densidades en el ecosistema marino y han sido extensamente estudiados en los sistemas costeros por su importancia medioambiental e incidencia en la extracción de moluscos [35, 53]. La distribución y dinámica de estas poblaciones están influenciadas por gradientes medioambientales como temperatura, salinidad, disponibilidad de nutrientes y factores biológicos como, depredación y abundancia de dinoflagelados y hospedadores. En los últimos años se ha incrementado el interés sobre la investigación de vibrios en los sistemas marinos costeros [20].

Los moluscos en general poseen una alimentación por filtración. Este sistema de nutrición permite que se acumule una gran cantidad de microorganismos y otros elementos presentes en el ambiente donde los bivalvos se desarrollan. El consumo de bivalvos bajo estas condiciones ha sido la causa de un gran número de casos de enfermedades entéricas, por supuesto, este riesgo se potencializa durante la comercialización y las operaciones de manejo [21, 41, 45]. Estos pueden estar implicados en la transmisión del cólera y otras enfermedades gastrointestinales, relacionado a la costumbre de ingerirlos directamente en su concha, crudos o cocidos deficientemente [17].

Las especies de *Vibrio* varían considerablemente en patogenicidad y aún están indefinidas las causas de su aparición y epidemiología. Esto es relevante debido a que ocasionan numerosos episodios patológicos, casos de mortalidad y grandes pérdidas económicas y alteraciones sociales en la población dedicada a industrias extractivas y procesadoras de productos del mar [5, 30]. Los vibrios en la naturaleza, pueden estar en

un estado inactivo o no ser capaces de crecer en los medios selectivos empleados, no obstante se ha evidenciado que las bacterias en estado de viables no cultivables (VBNC) pueden también causar enfermedades [12, 21]. Las especies de *Vibrios* patógenos para humanos en la actualidad está limitada sólo a 12, que son clínicamente significativas: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. hollisae*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. metschnikovii*, *V. cincinnatiensis* y *V. harveyi* [42]. Las infecciones causadas por estos organismos están usualmente asociadas a la ingestión de moluscos contaminados; los síntomas que manifiesta el paciente van desde gastroenteritis, infección a la piel, septicemia, llegando a la mortalidad en el caso de pacientes inmunocomprometidos o con bajas defensas [14, 49].

En Venezuela, es poco lo que se ha investigado sobre la presencia del género *Vibrio*, a pesar de tener a lo largo de casi todo el año una temperatura en el agua adecuada para la multiplicación del microorganismo. El objetivo de este trabajo fue identificar especies del género *Vibrio* en áreas destinadas para la cría y explotación de moluscos bivalvos, aportando información sobre dichas especies principalmente de las que pueden constituir un riesgo a la salud humana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección y procesamiento de las muestras

Para la realización del presente estudio se colectaron 192 muestras de moluscos bivalvos procedentes de los bancos naturales Punta Patilla (mejillón: *Perna* spp.), Bahía Iglesia (mejillón: *Perna* spp.), Isla Lobos-Chacopata (pepitonas: *Arca zebra*) y Bahía Güiria (guacuco: *Tivela mactroides*), en el estado Sucre (FIG. 1). El período de muestreo comprendió 16 meses (abril-diciembre 2006, enero-julio 2007). Mensualmente se

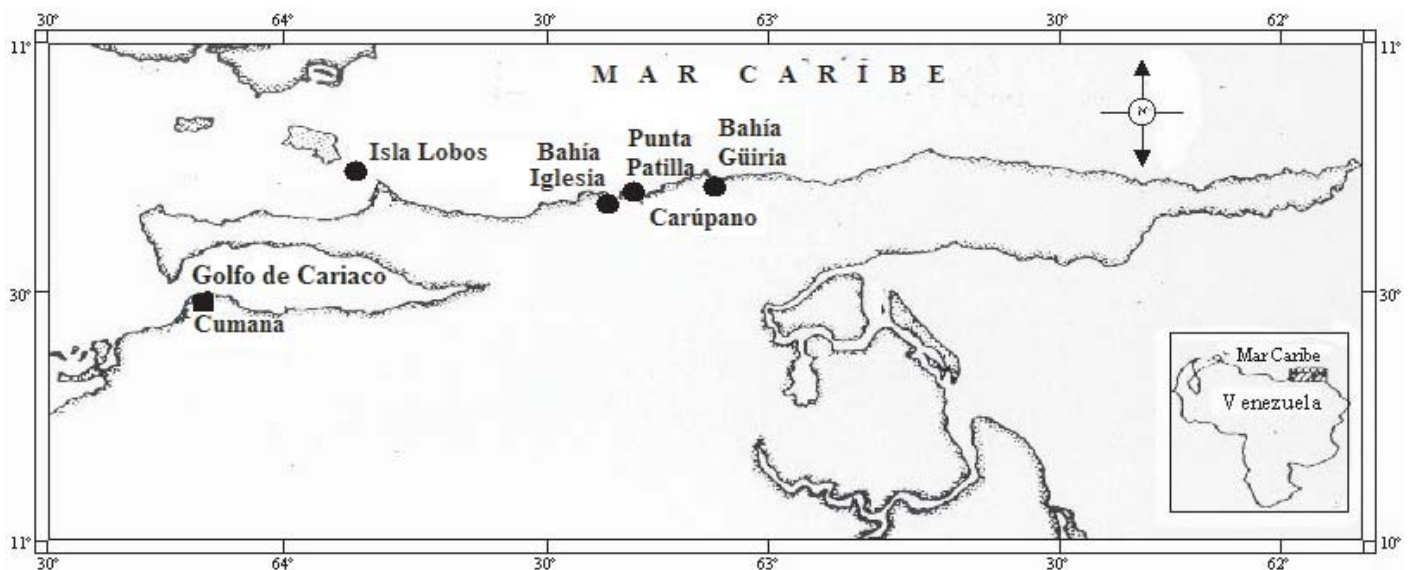


FIGURA 1. AREA DE ESTUDIO MOSTRANDO LAS ZONAS DE MUESTREO.

colectaron por cada área tres muestras de bivalvos, éstas fueron colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético y transportadas en cavas de anime con hielo al laboratorio de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Sucre/Nueva Esparta). Una vez en el laboratorio, las muestras en su concha fueron desbulladas en condiciones de asepsia según las recomendaciones de la American Public Health Association [3].

### Identificación de especies de *Vibrio*

En la detección de las especies de *Vibrio* presentes se siguieron las pautas señaladas por Kaysner y De Paola [34] y Barbieri y col. [4]. Se preparó un homogeneizado (Osterizer-Deluxe, Mod. 450, Venezuela) con 50 g del molusco en 450 mL de agua peptonada alcalina (pH 8,6 ± 0,2) dejándose incubando durante 6 a 7 h a 37°C. La técnica de siembra se realizó por agotamiento en placas de Petri con agar TCBS (Tio-sulfato Citrato Sales Biliares Sacarosa, Merck, Darmstadt-Alemania). Las placas fueron incubadas (Memmert B30, Alemania) a 37°C durante 24 a 48 h. Las colonias desarrolladas se aislaron en agar Tripticosa Soya (Merck) con NaCl al 1%. Una vez realizada la tinción de Gram se les realizó las siguientes pruebas bioquímicas convencionales: oxidasa, crecimiento en agar TSI, hidrólisis de la gelatina, hidrólisis de la urea, Voges-Proskauer, reducción de nitratos a nitritos, halotolerancia (0; 3; 6; 8 y 10% de NaCl), descarboxilación de la lisina, arginina y ornitina, fermentación de carbohidratos (glucosa, manitol y arabinosa), motilidad y crecimiento a 42°C. Adicionalmente, se complementaron estas pruebas con el test de susceptibilidad al vibriostato O/129 (discos de 10 y 150 mg). La patogenicidad de las cepas de *V. parahaemolyticus* asociada con la habilidad de producir una hemolisina directa termoestable (Hemolisina Kanagawa, TDH) fue confirmada en agar Wagatsuma preparado con eritrocitos humanos. Para los aislados de *V. cholerae* se les aplicó prueba serológica utilizando el antisuero polivalente (grupo O1). Se utilizó además como medios de cultivos no selectivos (para la posible recuperación de *V. hollisae*) agar sangre, seleccionando aquellas colonias que resultaron positivas a la prueba de oxidasa, y agar con manitol y maltosa; en este medio, las colonias de *V. hollisae* son redondas, brillantes y moradas, no fermentan el manitol ni la maltosa [31, 34].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el curso de la investigación se aislaron un total de 458 cepas de *Vibrios* distribuidas de la siguiente manera: 119 en Punta Patilla, 117 Bahía Iglesia, 122 Isla Lobo-Chacopata y 100 para Bahía Güiria. Se observó una frecuencia total de aislamiento muy similar entre las tres primeras zonas con 26; 25,6 y 26,6%, respectivamente, seguida de Bahía Güiria con 21,8% (TABLA I). Se detectó la presencia de *Vibrio cholerae* no O1, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* y *V. hollisae*, observándose que la mayoría de las cepas correspondieron a *V. alginolyticus* seguida de *V. parahaemolyticus*, representando en promedio 57,4 y 22,7% de los aislamientos, respectivamente, en todas las muestras probadas de las distintas zonas de estudio (TABLA II). La mayor incidencia de *V. alginolyticus* sobre otras especies del género ya ha sido reportada [39, 41]. En Venezuela, en un trabajo realizado por Rengel [46] sobre la detección de *V. parahaemolyticus* en ostras de la Laguna de La Restinga-estado Nueva Esparta, se hace mención de la gran interferencia que le ocasionaba *V. alginolyticus* en el aislamiento de esta especie; es posible que la temperatura y la salinidad de las aguas allí presentes favorezcan sus condiciones de crecimiento.

*Vibrio alginolyticus* es la especie más halotolerante, en el presente estudio se evidenció su carácter de halófila extrema soportando una concentración del 10% de NaCl (TABLA III); es la más abundante en el agua de mar y muy común en el hábitat marino de países templados [39]. Causa infecciones gastrointestinales en el hombre y ocasionalmente, extraintestinales. Posee escasa virulencia y se asocia con frecuencia a otros patógenos, su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas [40].

Las infecciones causadas por la mayoría de las especies de *Vibrio* están usualmente asociadas a la ingestión de moluscos contaminados; los síntomas que manifiesta el paciente van desde gastroenteritis, infección a la piel, septicemia, llegando a la mortalidad en el caso de pacientes inmunocomprometidos [49]. Además pueden actuar como patógenos de organismos acuáticos de importancia comercial [51].

*Vibrio parahaemolyticus* es un patógeno entérico que se transmite a humanos, primordialmente, a través del consumo

TABLA I  
NÚMERO DE CEPAS Y FRECUENCIA TOTAL DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEL GENERO *Vibrio* EN LAS ZONAS DE MUESTREO, ESTADO SUCRE

Zona de muestreo	Nº de cepas	Frecuencia total (%)
Punta Patilla	119	26,0
Bahía Iglesia	117	25,6
Isla Lobos-Chacopata	122	26,6
Bahía Güiria	100	21,8
Total	458	100

TABLA II  
**ABUNDANCIA RELATIVA DE ESPECIES DE *Vibrio* AISLADAS EN LOS MOLUSCOS BIVALVOS PROCEDENTES DE LAS DISTINTAS ZONAS DE ESTUDIO**

Zona de estudio	Especie	Nº (%) cepas de vibrios
Punta Patilla (Mejillón: <i>Perna</i> spp.)	<i>Vibrio alginolyticus</i>	57 (47,9)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	25 (21,0)
	<i>Vibrio cholerae</i> no O1	10 (8,4)
	<i>Vibrio mimicus</i>	9 (7,6)
	<i>Vibrio metschnikovii</i>	9 (7,6)
	<i>Vibrio vulnificus</i>	7 (5,9)
	<i>Vibrio hollisae</i>	2 (1,7)
Bahía Iglesia (Mejillón: <i>Perna</i> spp.)	<i>Vibrio alginolyticus</i>	65 (55,6)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	29 (24,8)
	<i>Vibrio metschnikovii</i>	7 (6,0)
	<i>Vibrio vulnificus</i>	6 (5,1)
	<i>Vibrio mimicus</i>	5 (4,3)
	<i>Vibrio cholerae</i> no O1	4 (3,4)
	<i>Vibrio hollisae</i>	1 (0,9)
Isla Lobos (Chacopata) (Pepitonas: <i>Arca zebra</i> )	<i>Vibrio alginolyticus</i>	72 (59)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	28 (23)
	<i>Vibrio mimicus</i>	9 (7,4)
	<i>Vibrio metschnikovii</i>	8 (6,6)
	<i>Vibrio cholerae</i> no O1	4 (3,3)
Bahía Güiria (Guacuco: <i>Tivela mactroides</i> )	<i>Vibrio alginolyticus</i>	67 (67,0)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	22 (22,0)
	<i>Vibrio cholerae</i> no O1	4 (4,0)
	<i>Vibrio mimicus</i>	4 (4,0)
	<i>Vibrio metschnikovii</i>	4 (4,0)

de mariscos crudos o pobremente cocidos, en otros países también se ha encontrado en camarones, cangrejos, jaibas y, ocasionalmente, pescados [21, 29]. Al igual que otros miembros del género *Vibrio* es halofílico y se encuentra ampliamente distribuido alrededor del mundo. Este patógeno se considera la causa principal de gastroenteritis en mariscos a nivel mundial [22, 37] y ocasionalmente se relaciona con infecciones extra-intestinales [8].

Como factor de virulencia destaca la hemolisina o toxina termoestable directa (*thermostable direct hemolysin*-TDH), responsable de la producción de diarrea, efecto conocido como fenómeno de Kanagawa. Otros factores importantes son la toxina hemolisina relacionada (*toxin related hemolysin*-TRH), pili, hemaglutininas (hemaglutinina manosa sensible), factores de colonización y la capacidad de invasión celular [14, 19, 27]. Al respecto, las cepas aisladas dieron reacciones negativas para la prueba de Kanagawa, concordando con trabajos previos que señalan que la facultad de *V. parahaemolyticus* para des-

truir eritrocitos humanos es muy rara en las cepas aisladas de especímenes marinos [46, 54]. Muñoz y col. [41] tampoco encontraron en pepitonas, cepas de *V. parahaemolyticus* positivas para la prueba. Según Dileep [17], una pequeña porción de las cepas ambientales de *V. parahaemolyticus* son virulentas y sólo 1-2% de éstas exhiben una hemólisis tipo  $\beta$ .

Otra de las especies de *Vibrio* reconocida como patógeno y que ha acaparado la atención de muchos científicos es *V. vulnificus*. En el presente estudio se logró aislar a esta especie solo en Punta Patilla y Bahía Iglesia con 5,9 y 5,1% de aislamiento, respectivamente.

Según Cook y col. [13], *Vibrio vulnificus* es una bacteria cuyas infecciones presentan un alto índice de mortalidad en los Estados Unidos. Normalmente, las infecciones con *V. vulnificus* tienen como principal síndrome clínico septicemia, pero al igual que *V. parahaemolyticus* es capaz de causar gastroenteritis e infecciones en heridas [43]. En la actualidad, se reco-

noce la presencia de *V. vulnificus* alrededor del mundo donde se han reportado casos de éste en diversos países, tales como Estados Unidos (EUA), Dinamarca, Hong Kong, Japón, África y varias ciudades de América del Sur [44]. *Vibrio vulnificus* ha sido encontrado con anterioridad en E.U.A. por Dowdy y col. [18], en muestras de sangre de un paciente que recibió un trasplante de hígado después de ingerir ostiones crudos.

*V. cholerae* fue aislado en Punta Patilla con 8,4% de aislamiento en el total de las muestras, mientras que en Bahía Iglesia, Isla Lobos y Bahía Güria tuvo una frecuencia de aislamiento relativamente baja, entre 3,3-4%. A estas cepas se les practicó las pruebas serológicas correspondientes comprobándose que, las colonias aisladas producían reacciones negativas al antisuero polivalente (grupo O1). La baja incidencia de esta especie de *Vibrio* en bivalvos fue encontrada también por Matte y col. [39], en un estudio sobre vibrios patógenos en ostras de la costa atlántica brasileña reportando una incidencia entre 0-8%.

La identificación de 22 aislados de *V. cholerae* no O1 (TABLA II) plantea una problemática que requiere de análisis. En las aguas marinas tropicales de las costas de Venezuela se dan, en general, condiciones apropiadas de temperatura y salinidad para el desarrollo de esta bacteria. Sólo ciertas condiciones son desfavorables para el desarrollo de esta especie en aguas marinas, como una salinidad de 35 ppt y temperaturas elevadas de 28 a 30°C o más [47, 48]. Pero se ha señalado que, aún en tales condiciones desfavorables, *V. cholerae* puede permanecer viable en estado de latencia pero no ser cultivable en los medios estándares [21] y, por tanto, no ser detectable.

*V. cholerae* no O1, ha sido reportado en ambientes acuáticos [25, 45], es frecuentemente aislado de aguas [9, 24], sedimentos [2] y de alimentos de origen marino [10, 54]. La patogenicidad de las cepas no O1 es conocida a través de cuadros diarreicos donde se ha aislado el microorganismo a partir de las heces de los pacientes, con síntomas que van desde una diarrea leve hasta la deshidratación grave, semejante a la observada en el cólera [26]. Las cepas no O1 también se han asociado con infecciones de herida, cirrosis y septicemias [6]. Estos datos confirman su alto potencial patógeno y la importancia de evaluar su presencia en los moluscos que se consumen crudos.

La recuperación de *Vibrio mimicus* y *V. metschnikovii* también resultó relativamente baja, ya que ambas presentaron una frecuencia de aislamiento entre 4-7,6% en las distintas zonas de estudio (TABLA II). *V. mimicus* es reconocido como un patógeno emergente humano, uno de los primeros reportes fue en Bangladesh en 1981, en el cual *V. mimicus* se vio involucrado en dos casos de otitis, ambos causados por la exposición al mar [7, 16]. En otro reporte se presentaron 17 casos de gastroenteritis en adultos que habían consumido ostiones crudos [16]. De igual modo, en febrero del 2005, después de una fiesta de carnavales en Cuncashca (Provincia de Carhuaz, en

Perú), se produjo un brote de diarrea aguda que afectó a 32 personas. En todos ellos se determinó a *V. mimicus* como el agente causal [7]. En Venezuela, ciudad de Cumaná, hay reportes de su presencia, sin embargo no se tienen datos de algún caso clínico, probablemente debido a que este microorganismo no se busca rutinariamente [41, 54].

*V. metschnikovii* es una de las especies de *Vibrio* más antiguas; en realidad es poco lo que se ha descrito sobre esta especie, aunque su aislamiento de ambientes marinos [36] y alimentos del mismo origen ha sido confirmado [23, 41]. Aunque es muy raro su aislamiento en humanos, existen reportes donde se ha evidenciado la presencia de esta especie causando peritonitis e inflamación de la vesícula biliar [33], septicemia [28] y casos de diarrea [15, 38].

Solo cuatro cepas de *V. hollisae* fueron aisladas en el presente estudio. Su porcentaje de recuperación fue entre 0-1,7% en el total de las muestras de las zonas Punta Patilla, Bahía Iglesia e Isla Lobos. Los resultados de la presente investigación difieren de los obtenidos por Franco-Monsreal y col. [22] quienes obtienen una incidencia de *V. hollisae* de 11,5 y 6,2%, en alimentos marinos crudos y parcialmente cocidos, respectivamente, en marisquerías de la ciudad de Chetumal, Quintana Roo, México.

La metodología utilizada fue especial para la detección de esta especie, ya que ella no logra crecer en el medio TCBS [31]. *V. hollisae* es una especie halófila que recientemente fue reclasificada como *Grimontia hollisae* por Thopson y col. [52]. Se sabe que este microorganismo ha estado asociado a casos de gastroenteritis, que van de moderados a graves por el consumo de alimentos marinos, aunque su significado clínico no está aún bien definido y los aislamientos son poco frecuentes [1, 11]. Hinestrosa y col. [32] reseñan un caso en el cual un individuo sufrió la forma más grave de ataque de esta especie, presentando hipotensión profunda e insuficiencia renal y finalmente un shock hipovolémico.

Este hallazgo de *V. hollisae* en el presente estudio, indica la importancia de no subestimar las posibles infecciones por esta especie en zonas costeras en donde los individuos consumen alimentos marinos crudos. Un segundo punto importante es el medio de cultivo, el agar TCBS se utiliza como medio selectivo para el aislamiento de las especies de *Vibrio* en los laboratorios clínicos, pero desafortunadamente, *V. hollisae* no tiene buen crecimiento en este medio. El mejor crecimiento del aislamiento obtenido en este trabajo se produjo en placas con agar sangre y agar manitol y maltosa.

La recuperación de *Vibrio mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. hollisae* y *V. vulnificus* fue relativamente baja en comparación con *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, quizás debido a fenómenos de competencia, sin embargo, es probable que al estudiar las interrelaciones ecológicas entre estas especies y los factores que los afectan, pueden aportar información interesante de como estos vibrios, considerados como patógenos, pueden prevalecer en un momento dado.

TABLA III  
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DIFERENCIALES REALIZADAS A LAS DISTINTAS CEPAS DE *Vibrio* AISLADAS DE MOLUSCOS BIVALVOS

Pruebas bioquímicas	Especies identificadas							
	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. cholerae</i> no O1	<i>V. mimicus</i>	<i>V. metschnikoviis</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. hollisae</i>	
Urea	-	V	-	-	-	-	-	
Gelatinasa	+	+	+	+	+	+	-	
Voges-Proskauer	+	-	V	-	+	-	-	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+	+	+	+	-	+	+	
Glucosa (a/g)	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	
Manitol	+	+	+	+	+	V	-	
Arabinosa	V	+	-	V	-	-	+	
Arginina	-	-	-	-	+	-	-	
Lisina	+	+	+	+	+	+	-	
Ornitina	+	+	+	+	-	+	-	
Oxidasa	+	+	+	+	-	+	+	
0% NaCl	-	-	+	+	-	-	-	
3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	
6% NaCl	+	+	-	-	+	+	+	
8% NaCl	+	+	-	-	V	-	-	
O/129 (10 µg)	R	R	S	S	S	S	R	
O/129 (150 µg)	S	S	S	S	S	S	S	

V: variable. NaCl: Cloruro de Sodio. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: nitratos a nitritos. a/g: ácido/gas. R: Resistente. S: Sensible.

Aunque los niveles de frecuencia de aislamiento en las especies *Vibrio mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. hollisae* y *V. vulnificus* se consideran bajos, existe la probabilidad de que ocurra un brote de vibriosis a través del consumo de bivalvos crudos. Este riesgo es agravado por el manejo típico que reciben los bivalvos luego de su cosecha. La práctica local en el comercio de bivalvos no conlleva refrigeración lo que favorece el incremento en los números de *Vibrio*. Al igual que *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, se les debe reconocer la importancia en su detección, tanto en las aguas como en los moluscos que se consumen en la zona, para que así se puedan identificar y determinar su patogenicidad.

## CONCLUSIONES

Diferentes especies de *Vibrio* de importancia clínica fueron aisladas de moluscos bivalvos, lo que indica que existen condiciones favorables para su hábitat, por lo que se debe considerar su vinculación con posibles infecciones adquiridas por el consumo de alimentos marinos crudos o mal cocidos o el riesgo de contraer enfermedades asociadas con el baño en aguas recreativas. Esta investigación puede brindar información de carácter básico y aplicado para el perfeccionamiento de los sistemas de vigilancia de la calidad microbiológica del agua en las áreas costeras del cualquier país o territorio.

En las muestras de bivalvos se detectó la presencia de *Vibrio cholerae* no O1, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* y *V. hollisae*, observándose que la mayoría de las cepas correspondieron a *V. alginolyticus* seguida de *V. parahaemolyticus*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABBOTT S., L.; JANDA, J.M. Severe gastroenteritis associated with *Vibrio hollisae* infection: report of two cases and review. **Clin. Infect. Dis.** 18:310-312. 1994.
- [2] ÁLVAREZ, J.; AGURTO, C.; ÁLVAREZ, A.; OBREGÓN, J. Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de tilapias, agua y sedimento en Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XIV (6): 491-499. 2004.
- [3] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of food.** C. Vanderzant and D.F. Splittatoesser (Eds.). Washington, D.C. U.S.A. 1.134 pp. 1992.
- [4] BARBIERI, E.; FALZANO, L.; FIORENTINI, C.; PIANNETTI, A.; BAFFONE, W.; ALESSIA, F.; MATARRESE, P.; CASIERE, A.; KATOULI, M.; KÜHN, I.; MÖLLBY, R.; BRUSCOLINI, F.; DONELLI, G. Occurrence, Diversity, and Pathogenicity of Halophilic *Vibrio* spp. and Non-O1

- Vibrio cholerae* from Estuarine Waters along the Italian Adriatic Coast. **Appl. Environ. Microbiol.** 65(6): 2748-2753. 1999.
- [5] BEAZ-HIDALGO, R. Identificación de bacterias del género *Vibrio* asociadas al cultivo de la almeja. Caracterización y patogénesis. Resúmenes tesis doctorales. **SEM.** 47:4-5. 2009.
- [6] BRICEÑO, I.; PUEBLA, C.; GUERRA, F.; JENSEN, D.; NÚÑEZ, H.; ULLOA, M.; OSORIO, C. Septicemia fatal causada por *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 hemolítico en Chile. Caso clínico. **Rev. Méd. Chile.** 137(9): 1193-1196. 2009.
- [7] CABEZAS, C.; VARGAS, J.; SUAREZ, V. Confirmación de *Vibrio mimicus* del brote de intoxicación alimentaria en Cuncashca-Carhuaz. **Bol. Inst. Nac. Sal. Perú.** 11 (3/4): 75-76. 2005.
- [8] CABRERA, L.; CASTRO, G.; RAMÍREZ, M.; LLOP, A.; LLANES, R.; CASTAÑEDA, N.; FERNÁNDEZ, A.; BRAVO, L. Aislamiento e identificación de especies pertenecientes a los géneros *Aeromonas*, *Vibrio* y *Plesiomonas* procedentes de muestras extra-intestinales en Cuba. **Rev. Chil. Infect.** 24(3): 204-208. 2007.
- [9] CALDINI, G.; NERI, A.; CRESTI, S.; BODDI, V.; ROSOLINI, G.; LANCIOTTI, E. High prevalence of *Vibrio cholerae* non-O1 carrying heat-stable-enterotoxin-encoding genes among *Vibrio* isolates from a temperate-climate river basin of central Italy. **Appl. Environ. Microbiol.** 63:2934-2939. 1997.
- [10] CARBAJAL-MENDOZA, M.; RABELO, P.; GONZÁLEZ, C.; AYALA, M. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla-Perú. **Rev. Cub. Sal. Pub.** 29(2): 121-123. 2003.
- [11] CARNAHAN, A.M.; HARDING, J.; WATSKY, D.; HANSMAN, S. Identification of *Vibrio hollisae* associated with severe gastroenteritis after consumption of raw oysters. **J. Clin. Microbiol.** 32:1805-1806. 1994.
- [12] COLWELL, R.; GRIMES, J. Semantics and strategies. In: **Non-culturable microorganisms in the environment.** ASM Press, Washington D C. Pp: 1-6. 2000
- [13] COOK, D.; O'LEARY, P.; HUNSUCKER, J.; SLOAN, E.; BOWERS, J.; BLODGETT, R.; DEPAOLA, A. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: A national survey from June 1998 to July 1999. **J. Food Prot.** 65: 79-87. 2002.
- [14] DABANCH, J.; HERRERO, D.; PÁVEZ, C.; VEAS, N.; BRAUN, S.; PORTE, L. Bacteriemia por *Vibrio parahaemolyticus*: Reporte de caso y revisión de la literatura. **Rev. Chil. Infect.** 26(4): 360-362. 2009.
- [15] DALSGAARD, A.; ALARCON, A.; LANATA, C.; JENSEN, T.; HANSEN, H.; DELGADO, F.; GIL, A.; PENNY, M.; TAYLOR, D. Clinical manifestations and molecular epidemiology of five cases of diarrhoea in children associated with *Vibrio metschnikovii* in Arequipa, Perú. **J. Med. Microbiol.** 45:494-500. 1996.
- [16] DAVIS, B.; FANNING, G.; MADDEN, J.; STEIGERWAL, A. Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. **J. Clin. Microbiol.** 14: 631-639. 1981.
- [17] DILEEP, V.; KUMAR, Y.; NISHIBUCHI, M.; KARUNASAGAR, I. Application of polymerase chain reaction for detection of *Vibrio parahaemolyticus* associated with tropical sea food and coastal environment. **Lett. Appl. Microbiol.** 36: 423-427. 2003.
- [18] DOWDY, L.M.; KHAN, F.; REGALADO, J.; TZAKIS, A.G. Primary *Vibrio vulnificus* bacteremia in a liver transplant recipient after ingestion of raw oysters: caveat emptor. **Transplant,** 68: 1061-1063. 1999.
- [19] DUEÑAS-PEÑA, T. Recuento de *Vibrio parahaemolyticus* Kanagawa positivo en especies marinas de consumo en Lima Metropolitana y Callao. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. Tesis de Grado. 82 pp. 2008.
- [20] EILER, A.; JOHANSSON, M.; BERTILSSON, S. Environmental Influences on *Vibrio* Populations in Northern Temperate and Boreal Coastal Waters (Baltic and Skagerrak Seas). **Appl. Environ. Microbiol.** 72(9): 6004-601. 2006.
- [21] FONTÁNEZ, Y. Determinación del perfil microbiológico de la almeja (*Lucina pectinata* Gmelin, 1791), del ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828) y las aguas de extracción de bivalvos en la zona suroeste de Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. Puerto Rico. Tesis de Grado. 83 pp. 2005.
- [22] FRANCO-MONSREAL, J.; FLORES-ABUXAPQUI, J.; SUAREZ-HOIL, G.; PUC-FRANCO, M.; HEREDIA-NAVARETE, M.; VIVAS-ROSEL, M. Prevalencias de las especies *Vibrio hollisae*, *Vibrio mimicus* y *Vibrio vulnificus* en alimentos marinos de origen animal de marisquearías de la ciudad de Chetumal, Quintana Roo, México. **Rev. Sal. Pub. Nutr.** 14(1): 9-16. 2005.
- [23] GAMELERA, M.N. *Vibrio metschnikovii* (n. sp.) et rapports of eels microbe, du cholera asiatique. **Ann. Inst. Pasteur.** 2: 482-488. 1988.
- [24] GARCÍA, A.; PEDREROS, L.; HUAPAYA, B. *Vibrio cholerae* No O1 en muestras de aguas no cloradas consumidas por pobladores de las localidades de Santa y Coishco (ANCASH), 2003- 2004. **Rev. Peru. Med. Exp. Sal. Pub.** 23(3): 168-172. 2006.
- [25] GIL, A.I.; LOUIS, V.; RIVERA, I.; LIPP, E.; HUQ, A.; LANATA, C. Occurrence and distribution of *Vibrio cholerae*

- in the coastal environment of Perú. **Environ. Microbiol.** 6(7): 699-706. 2004.
- [26] GONZÁLEZ-FRAGA, S.; VILLAGRA-TREJO, A.; PICHÉL, M.; FIGUEROA, S.; MERLETTI, G.; CAFFER, M.; CECILIA-CASTILLO, M.; BINSZTEIN, N. Caracterización de aislamientos de *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 asociados a cuadros de diarrea. **Rev. Argent. Microbiol.** 41(1): 11-19. 2009.
- [27] HARA-KUDO, Y.; SUGIYAMA, K.; NISHIBUCHI, M.; CHOWDHURY, A.; YATSUYANAGI, J.; OHTOMO, Y.; SAITO, A.; NAGANO, H.; NISHINA, T.; NAKAGAWA, H.; KONUMA, H.; MIYAHARA, M.; KUMAGAI, S. Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. **Appl. Environ. Microbiol.** 69(7): 3883-3891. 2003.
- [28] HANSEN, W.; FRENEY, J.; BENYAGOUB, H.; LE-TOUZEY, M.N.; GIGI, J.; WAUTERS, G. Severe human infections caused by *Vibrio metschnikovii*. **J. Clin. Microbiol.** 31:2529-2530. 1993.
- [29] HEITMANN, I.; JOFRE, L.; HORMAZÁBAL, J.; OLEA, A.; VALLEBUONA, C.; VALDÉS, C. Revisión y recomendaciones para el manejo de diarrea por *Vibrio parahaemolyticus*. **Rev. Chil. Infect.** 22(2): 131-140. 2005.
- [30] HERNÁNDEZ, C.; ULLOA, J.; VERGARA, J.A.; ESPEJO, R.; CABELLO, F. Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. **Rev. Méd. Chil.** 133: 1081-1088. 2005.
- [31] HICKMAN, F.; FARMER, J.; HOLLIS, D.; FANNING, G.; STEIGERWALT, A.; WEAVER, R.; BRENNER, D. Identification of *Vibrio hollisae* sp. nov. from patients with diarrhea. **J. Clin. Microbiol.** 15:395-401. 1982.
- [32] HINESTROSA, F.; MADEIRA, R.; BOURBEAU, P. Severe Gastroenteritis and Hypovolemic Shock Caused by *Grimontia (Vibrio) hollisae* Infection. **J. Clin. Microbiol.** 45(10): 3462-3463. 2007.
- [33] JEAN-JACQUES, W.; RAJASHEKARAI, K.; FARMER, J.; HICKMAN, F.; MORRIS, J.; KALLICK, C. *Vibrio metschnikovii* bacteremia in a patient with cholecystitis. **J. Clin. Microbiol.** 14:711-712. 1981.
- [34] KAYSNER, C.A.; DE PAOLA, A. *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: **Bacteriological Analytical Manual**. 8<sup>th</sup> Ed. Food and Drug Administration (FDA). A.O.A.C. International, Gaithersburg, Md. USA. Pp. 9.01-9.27. 1998.
- [35] LEYTON, Y.; RIQUELME, C. Vibrios en los sistemas costeros. **Rev. Biol. Mar. Oceanogr.** 43(3): 441-456. 2008.
- [36] LINDE, H.; KOBUCH, R.; JAYASINGHE, S.; REISCHL, U.; LEHN, N.; KAULFUSS, S.; BEUTIN, L. *Vibrio metschnikovii*, a rare cause of wound infection. **J. Clin. Microbiol.** 42(10): 4909-4911. 2004.
- [37] MCLAUGHLIN, J.; DEPAOLA, A.; CHERYL, A.; MARTINEK, K.; NAPOLILLI, N.; ALLISON, C.; MURRAY, S.; THOMPSON, E.; BIRD, M.; MIDDAGH, J. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. **N. Engl. J. Med.** 353:1463-1470. 2005.
- [38] MAGALHAES, V.; BRANCO-ANDRADE, A.; LIMA, R.; MAGALHAES, M. *Vibrio metschnikovii* among diarrheal patients during cholera epidemic in Recife, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, 38(1):1-3. 1996.
- [39] MATTÉ, R.; MATTÉ, M.; RIVERA, I.; MARTINS, M. Distribution of Potentially Pathogenic *Vibrios* in Oysters from a Tropical Region. **J. Food Prot.** 57(10): 870-873. 1994.
- [40] MIRA-GUTIÉRREZ, J.; GARCÍA-MARTOS, P. Vibrios de origen marino en patología humana. **Enf. Infect. Microbiol. Clin.** 15(7): 383-388. 1997.
- [41] MUÑOZ, D.; GRAÜ DE M., C.; MARTINEZ, C.; MARVAL, H.; ZERPA, A. Prevalencia de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. y enterobacterias en carne de pepitona, *Arca zebra*, comercializada en Cumaná, Venezuela. **Zoot. Trop.** 26(4): 505-513. 2008.
- [42] NISHIBUCHI, M. Molecular identification. In: **The biology of vibrios**. Thompson, F.L.; Austin, B.; Swings, J. (Eds). ASM, Washington D.C. Pp 44-64. 2006.
- [43] PARVATHI, A.; SANATH-KUMAR, H.; INDRANI, K.; ID-DYA, K. Detection and Enumeration of *Vibrio vulnificus* in Oysters from Two Estuaries along the Southwest Coast of India, Using Molecular Methods. **Appl. Environ. Microbiol.** 70(11): 6909-6913. 2004.
- [44] PFEFFER, C.; HITE, F.; OLIVER, J. Ecology of *Vibrio vulnificus* in estuarine waters of Eastern North Carolina. **Appl. Environ. Microbiol.** 69: 3526-3531. 2003.
- [45] QUIÑONES-RAMÍREZ, E.; VÁSQUEZ-SALINAS, C.; PEDROCHE, F.; MORENO-SEPÚLVEDA, L.; RODAS-SUAREZ, O. Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella*, y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. **Hidrobiol.** 10(2): 131-138. 2000.
- [46] RENGEL, A. Ocurrencia de *Vibrio parahaemolyticus* en ostras de mangle *Crassostrea rhizophorae* capturadas en la laguna La Restinga, isla de Margarita. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta. Trabajo de ascenso. 74 pp. 1994.
- [47] RIVERA, S.; LUGO, T.; HAZEN, T.C. Autoecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in tropical waters. **Wat. Res.** 23(7): 923-931. 1989.



- [48] ROJAS, Y.A.; HAZEN, T.C. Survival of *Vibrio cholerae* in treated and untreated rum distillery effluents. **Wat. Res.** 23(1): 103-113. 1989.
- [49] ROWE-MAGNUS, D. A.; ZOUINE, M.; MAZEL, D. The adaptive genetic arsenal of pathogenic vibrio species: the role of integrons. In: **The biology of vibrios**. Fabiano, L.T.; Brian, A.; Swings, J.G. (Eds.). ASM Press, Washington, DC. Pp: 95-111. 2006.
- [50] SARCOS, M.; BOTERO, L. Calidad microbiológica de la almeja *Polyymesoda solida* recolectada en playas del Municipio Miranda del estado Zulia. **Cien.** 13(1): 34-43. 2005.
- [51] THOMPSON, J.; RANDA, M.A.; MARCELINO, L.A.; TOMITA-MITCHELL, A.; LIM, E.; POLZ, M. Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. **Appl. Environ. Microbiol.** 70: 4103-4110. 2004.
- [52] THOMPSON, L.; HOSTE, B.; ANDEMEULEBROECKE, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Vibrio hollisae* as *Grimontia hollisae* gen. nov., comb. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol** 53: 1615-1617. 2003.
- [53] THOMPSON, J R.; POLZ, M.F. Dynamics of *Vibrio* populations and their role in environmental nutrient cycling. In: **The biology of vibrios**. Thompson, F.L.; Austin, B.; Swings, J. (Eds.). ASM Press, Washington DC. Pp: 190-203. 2006.
- [54] VILLALOBOS, L.; ELGUEZABAL, L. Microbiological quality of the bivalve *Pinctada imbricata* commercialized in Cumaná, Venezuela. **Acta Cient. Ven.** 52(1): 55-61. 2001.