

Departamento de Microbiología. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. La Habana.

ESPECIES PATÓGENAS DE *VIBRIO* AISLADAS EN ALIMENTOS DE ORIGEN MARINO

Virginia Leyva Castillo^{1¶}, Yamila Puig Peña^{2¶}, María Espino Hernández^{3§}, Giselle Pereda Lamela^{4¶}, Neibys Portela López^{5¶}, Pedro Luis Morejón^{6¶}, Omar Roble^{7¥}.

RESUMEN

Este trabajo presenta las especies patógenas de *Vibrio* halladas en alimentos de origen marino, y su relación con la calidad sanitaria de las fuentes investigadas, así como la variación estacional de ocurrencia de las mismas durante 12 meses. Se analizaron 488 muestras de 4 alimentos de origen marino (*Ostiones*: 33.8%; *Pescados*: 29.5%; *Langostas*: 22.1%; y *Camarones*: 14.5%) extraídos de aguas circundantes de 2 provincias del país; junto con 6 muestras de plancton, entre Enero del 2003 y Diciembre del 2007, mediante métodos microbiológicos tradicionales. Se estimó la razón de disparidades (OR) entre la calidad sanitaria de los alimentos (dada por el número de coliformes fecales) y la presencia de especies patógenas de *Vibrio* patógenos. El comportamiento estacional de la ocurrencia de las especies de *Vibrio* fue estimado mediante técnicas de regresión lineal. El 93.2% de las muestras fueron positivas para especies patógenas de *Vibrio*. Se identificaron 9 especies. *V. alginolyticus* (34.0%), *V. cholerae* no-O1 (25.5%) y *V. parahaemolyticus* (19.0%) fueron las principales especies encontradas. No se aislaron los serogrupos O1 ni O139 del *V. cholerae*. El 11.3% de las muestras analizadas de alimentos presentaban coliformes fecales, pero ello fue independiente de la presencia de las especies patógenas de *Vibrio* (OR = 0.6964; IC 95%: 0.2951 – 1.6436; p > 0.05). Tampoco se encontró relación alguna entre la frecuencia de aislamiento de las especies de *Vibrio* y las diferentes estaciones del año. Leyva Castillo V, Puig Peña Y, Espino Hernández M, Pereda Lamela G, Portela López N, Morejón PL, Roble O. Especies patógenas de *Vibrio* aisladas en alimentos de origen marino. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2013;23(1):31-43. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929.

Palabras clave: *Vibrio* / *Vibrio cholerae* / Enfermedades transmitidas por parásitos / Alimentos de origen marino.

¹ Licenciada en Bioquímica. Máster en Enfermedades Infecciosas. Investigador Auxiliar. Jefa del Departamento de Microbiología de los Alimentos. ² Médico, Especialista de Primer Grado en Microbiología. Máster en Nutrición en Salud Pública y Enfermedades Infecciosas. Investigador Auxiliar. Departamento de Microbiología de los Alimentos. ³ Doctor en Ciencias de la Salud. Máster en Microbiología Clínica. Profesor Titular. Investigador Titular. ⁴ Licenciada en Alimentos. Máster en Tecnología de los Alimentos. Responsable del Laboratorio de Control de la Calidad de Medios de cultivo. ⁵ Licenciada en Alimentos. Aspirante a Investigador. ⁶ Licenciado en Biología. Profesor Asistente. Investigador Auxiliar. ⁷ Médico Veterinario. Especialista en Higiene. [¶] Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. La Habana. Cuba. [§] Departamento de Agentes Biológicos. Escuela Latinoamericana de Medicina. La Habana. Cuba. [¥] Centro Provincial de Higiene y Epidemiología. Bayamo. Granma.

Recibido: 13 de Mayo del 2013. Aceptado: 20 de Junio del 2013.

Virginia Leyva Castillo. Departamento de Microbiología. INHA Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Infanta # 1158 e/t Llinás y Clavel. Centro Habana. La Habana. Cuba.

Correo electrónico: virginia.leyva@infomed.sld.cu

INTRODUCCIÓN

Varias especies del género *Vibrio* se han relacionado con enfermedades gastrointestinales en personas que han consumido alimentos de origen marino contaminados. De todas las especies de este género, *Vibrio cholerae* es la de mayor interés médico, al ser las cepas toxigénicas O1 y O139 del mismo las responsables del cólera epidémico. Estas cepas originan un cuadro clínico que puede variar desde una leve diarrea, no complicada, hasta una enfermedad grave con diarrea fulminante, coma y muerte en pocas horas.¹

El cólera se difundió a través del mundo desde su reservorio (fuente originaria) en el delta del río Ganges de la India. Entre el siglo XIX y el año de 1960 se registraron seis pandemias en las que murieron millones de personas en países de Europa, África y América. La séptima pandemia de cólera comenzó en 1961 en el sur de Asia, alcanzó el continente africano en 1971, y llegó al continente americano en 1991, entrando por Perú. En la actualidad se considera que el cólera es endémico en numerosos países, y tal vez no sea posible eliminar del medio ambiente al patógeno que la provoca.²

El resurgimiento del cólera a partir del año 2005, evento relacionado con el crecimiento constante de la población vulnerable, se considera nuevamente una amenaza para la salud pública. En el 2006, la Organización Mundial de la Salud (OMS) notificó un aumento dramático de la cantidad de enfermos en 52 países, con 236,896 casos, de los que fallecieron 6,311: el 2.7% de los infectados.³ No obstante, se estima que la cifra de enfermos reportados constituye apenas el 10% de los infectados realmente.³

En Cuba el cólera apareció por primera vez en 1833, procedente de la ciudad norteamericana de Nueva Orleans.⁴ El primer caso de cólera en Cuba se

diagnosticó el 25 de Febrero de ese año, en la barriada habanera de San Lázaro. Años después, en 1867, se produjo lo que se considera todavía como la tercera y última entrada del cólera en Cuba, y que causó grandes estragos en la población.⁴

Independientemente del sufrimiento humano que provoca esta enfermedad, los brotes de cólera causan reacciones de pánico, e impactan negativamente en el desarrollo de las comunidades afectadas porque perturban la estructura social y económica de las mismas. En las regiones donde se declara un brote de cólera, se producen restricciones de los movimientos de las personas, e incluso limitaciones de las importaciones de alimentos percibidos como infectados, con las subsiguientes afectaciones económicas.

Además de *V. cholerae*, dentro del género *Vibrio* existen al menos 12 especies consideradas patógenas al hombre. *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son las de mayor trascendencia por la magnitud de las enfermedades que ocasionan.⁴

El ambiente acuático, y en particular los entornos costeros que circundan los mares de agua salada, constituye el reservorio de las especies patógenas de *Vibrio*, si bien algunas de ellas se han recuperado de fuentes de agua dulce. Las especies patógenas de *Vibrio* se encuentran principalmente en las regiones de clima tropical o templado. Los brotes de cólera se han asociado con el consumo de pescados y mariscos crudos, incluyendo las ostras, cangrejos y camarones dentro de estos últimos.⁴

En los últimos años se han detectado nichos ecológicos de *V. cholerae* en zonas no endémicas como las aguas de la costa del Golfo de México, en los Estados Unidos; y el nordeste de Australia, donde no se ha demostrado contaminación fecal. Por tales razones, los pescados y mariscos constituyen la principal fuente de infección por cólera,

destacando en particular a los moluscos y crustáceos que se consumen crudos o semicocidos.

Diversas causas pudieran hacer resurgir el cólera en cualquier momento. Entre ellas, se pueden mencionar las emergencias y los desastres naturales que afectan las fuentes de agua y alimentos; el aumento en el número de las personas susceptibles por la pérdida de la inmunidad natural pasiva tanto frente al *Vibrio* como las toxinas; y el incremento en la movilidad de las colectividades humanas. En el caso de Cuba, la posibilidad del resurgimiento del cólera se hace mayor ante la llegada al país de personas provenientes de lugares donde la bacteria está presente.³⁻⁴

Por los riesgos que encierra que el cólera adquiera carácter endémico en Latinoamérica se hace necesario comprender la ecología de *V. cholerae*, así como de las otras especies de vibrios patógenos. Ello implica conocer la presencia de estas especies en los ecosistemas acuáticos del continente, a fin de identificar los ambientes cuyas condiciones ecológicas bióticas y abióticas, permiten que este microorganismo sobreviva durante periodos interepidémicos, y con ello evitar la exposición innecesaria del ser humano a esos reservorios naturales.

En Cuba, a partir de la entrada en Latinoamérica de la séptima pandemia del cólera, se estableció un Sistema Nacional de Vigilancia para investigar la presencia del agente causal en los productos hidrobiológicos. Estudios precedentes realizados en el país no encontraron *V. cholerae* O1 en el agua y los productos del mar, pero sí informaron del aislamiento de *V. cholerae* no O1 y de vibrios halófilos patógenos para el hombre tales como *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, entre otros.⁵⁻⁶

Existen muy pocos trabajos que examinen la presencia de las especies de *Vibrio* en el ambiente marino de las regiones

de América y Caribe. Por todo lo anteriormente dicho, el presente estudio tuvo como objetivo identificar las especies de *Vibrio* patógenos que puedan presentarse en alimentos de origen marino, determinar la relación de los mismos con la calidad sanitaria de las fuentes investigadas, y examinar la posible variación en la frecuencia de ocurrencia de las especies halladas según los períodos estacionales del año.

MATERIAL Y MÉTODO

La presente investigación se llevó a cabo en el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA) de La Habana (Cuba), entre enero del 2003 y diciembre del 2007 (ambos inclusive).

Durante la ventana de observación del estudio se muestrearon de forma mensual alimentos de origen marino procedentes de los centros de producción de Batabanó (provincia Mayabeque) y los criaderos de ostiones del municipio Mariel (provincia Artemisa); provincias situadas al sur de La Habana, y que hasta el año 2011 integraron una única entidad administrativo-política. Estos alimentos comprendieron ostiones, pescados, langostas y camarones.

Las muestras obtenidas se trasladaron al Laboratorio de Microbiología del INHA dentro de bolsas estériles y almacenadas en neveras refrigeradas; y fueron analizadas dentro de las 24 horas a partir de la recolección.

El presente trabajo también comprendió el estudio puntual del *plancton* de los mares situados al norte de la ciudad de La Habana. Para ello, se recogieron 6 muestras en distintos puntos del litoral habanero utilizando una red tipo trapecio con una abertura de 50 centímetros de diámetro, después de 20 minutos de arrastre, a dos nudos de velocidad. Los puntos muestreados fueron: Caleta de San Lázaro (1 muestra),

Bahía de La Habana (3 muestras), playa El Chivo (1 muestra), y costa de Cojímar (1 muestra); respectivamente.

Las muestras fueron procesadas convenientemente antes de los estudios microbiológicos. Las conchas de los ostiones se lavaron con agua y detergente empleando un cepillo de cerdas plásticas, y se flamearon con alcohol antes de abrirlas. Una vez abiertos, el contenido de la masa del animal se retiró con una pinza estéril, y se colocó en una placa estéril.

En el caso de los camarones, se cortaron porciones del cuerpo del animal, incluida la capa de quitina, empleando pinzas y tijeras estériles; y las muestras así obtenidas se pesaron en placas estériles, y se conservaron hasta el momento del ensayo.

Para el procesamiento preanalítico de los pescados se realizó un corte longitudinal con una tijera estéril en la parte inferior del cuerpo del animal a fin de exponer los intestinos. Una vez hecho esto, los intestinos se extrajeron asépticamente, y se pesaron junto a las agallas en una placa estéril.

De las langostas, se utilizaron para los estudios microbiológicos tanto la cabeza como parte de los intestinos. Los intestinos se extrajeron con una cucharilla estéril. Las muestras se colocaron por separado en bolsas estériles, y se pesaron antes del estudio.

Las cantidades de *plancton* a cultivar se pesaron después de colocarlas en una bolsa estéril utilizando para ello una cucharilla estéril.

Las muestras de langosta y plancton se homogenizaron por separado en agua de peptona alcalina durante un minuto con un homogenizador peristáltico (Lab-Blender-400, Estados Unidos). Las otras muestras se homogenizaron en una batidora convencional utilizando un vaso estéril.

La identificación de *V. cholerae* y las otras especies de *Vibrio* se realizó por los métodos tradicionales recomendados por la

Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (reconocida por sus siglas del inglés FDA *Food and Drug Administration*) y el Centro para la Seguridad Alimentaria y la Nutrición Aplicada (de las siglas en inglés CFSAN *Center for Food Safety and Applied Nutrition*).⁷ Los medios y reactivos empleados fueron de grado analítico.

Todos los medios de cultivo para las pruebas bioquímicas y fisiológicas se suplementaron con Cloruro de sodio al 1% (p/v). El agua de peptona alcalina inoculada con la muestra se incubó durante 6 horas a 37°C. Al cabo de este tiempo se realizó la siembra de la muestra en placas con medio TCBS Agar Tiosulfato-Citrato-Sales biliares-Sacarosa (BioCen Centro Nacional de Biopreparados de Cuba). Las placas se incubaron a 37° C durante 24 horas.

De cada cultivo se seleccionaron cinco colonias amarillas (presuntivas de *V. cholerae* o de otra especie sacarosa-positiva de *Vibrio*) y cinco colonias de color verde para la identificación de otras especies sacarosa-negativa. Todos los microorganismos aislados se estudiaron de modo independiente. Las colonias seleccionadas se inocularon por punción en medio AHK Agar Hierro-Kliger (BioCen, Cuba) y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Las colonias que crecieron en AHK con una imagen característica fueron transferidas a un medio Agar Triptona Soya (Biolife, Italia), y se incubaron durante 24 horas a 37°C.

La determinación de la capacidad oxidasa de la colonia se realizó con NN-dimetil-p-fenildiamina (Merck, Alemania). Las cepas oxidasa-positiva se identificaron por medio de la descarboxilación de L-lisina y L-ornitina y la hidrólisis de arginina; la producción de ácido de inositol, manitol, manosa, sacarosa y arabinosa; la tolerancia al Cloruro de sodio (en concentraciones de 0, 6, 8 y 10%, peso/volumen); la movilidad;

la producción de indol; la oxidación/fermentación (O/F) de la glucosa; y la prueba de la cuerda (también llamada de filamentosidad).

Para la identificación de otras especies se realizaron, además, la prueba de Voges-Proskauer, la utilización de celobiosa, y la determinación del carácter ONPG *o*-nitrofenil- β -D-galactopiranosido. Las cepas no clasificables se identificaron por el Kit API (BioMerieux, Francia). El serogrupo de *V. cholerae* se determinó por aglutinación en lámina con los antiseros de grupo somático O1 y O139 (Difco, EUA).^{5,7}

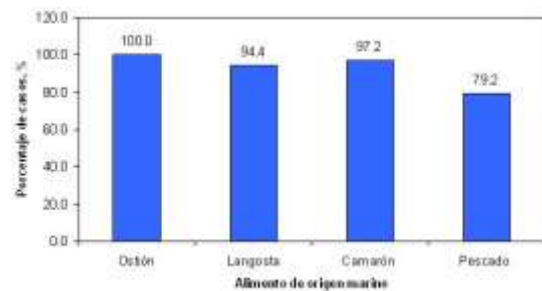
La calidad sanitaria de los alimentos muestreados se determinó mediante la cuantificación de los coliformes fecales a 45°C, según lo establecido en la norma cubana NC 38-02-14.⁸ La calidad se consideró aceptable para un valor NMP de 0.3/g del alimento, según los límites microbiológicos establecidos en la norma cubana correspondiente.⁹

Los resultados de los estudios microbiológicos se expresaron como estadígrafos de agregación bajo la forma de frecuencias absoluta y relativa, y porcentajes. La fuerza de la asociación entre la calidad sanitaria del alimento (dada por el número de coliformes fecales) y la presencia de especies patógenas de *Vibrio* se estimó mediante la razón de disparidades (OR). La existencia de tendencias en el comportamiento de la ocurrencia de las especies identificadas de *Vibrio* durante 12 meses de observación se examinó mediante un modelo de regresión lineal. El procesamiento de datos y los cálculos estadísticos se realizaron con el auxilio de los programas SPSS versión 11.5 (SPSS Inc., Pennsylvania, Estados Unidos) para WINDOWS (Microsoft, Redmond, Virginia, Estados Unidos) y EpiInfo versión 3.5.1 (CDC Centros para el Control de las Enfermedades, Maryland, Estados Unidos).

RESULTADOS

Durante la ventana de observación del estudio se analizaron 488 muestras de alimentos de origen marino, distribuidos de la manera siguiente: *Ostiones*: 165 (33.8%); *Pescados*: 144 (29.5%); *Langostas*: 108 (22.1%); y *Camarones*: 71 (14.5%); respectivamente.

Figura 1. Frecuencia de ocurrencia de especies patógenas de *Vibrio* en las muestras estudiadas de los alimentos de origen marino. Para cada alimento, se presenta el porcentaje de muestras que resultaron positivas a la presencia de especies patógenas de *Vibrio*.



Fuente: Registros del estudio.

Número de muestras ensayadas: 488.

De las 488 muestras de alimentos analizadas, 455 (93.2%) de ellas fueron positivas a la presencia de especies patógenas de *Vibrio*. La Figura 1 muestra la distribución de las especies patógenas de *Vibrio* por alimento. Se destaca el caso de los ostiones, al encontrarse especies patógenas en todos ellos. Sin embargo, la presencia de tales vibrios fue casi universal en las langostas y los camarones.

Tabla 1. Distribución de las especies patógenas de *Vibrio* identificadas según el tipo de alimento de origen marino. Para cada alimento, se presentan (en orden decreciente) el número y [entre corchetes] el porcentaje de las muestras que resultaron positivas para las especies patógenas.

Especies de <i>Vibrio</i>	Alimento				Totales
	Ostión	Langosta	Camarón	Pescado	
	N [%]	N [%]	N [%]	N [%]	N [%]
<i>V. alginolyticus</i>	195 [25.5]	115 [58.9]	41 [33.8]	75 [43.3]	426 [34.0]
<i>V. cholerae</i> no-O1	202 [26.5]	25 [12.8]	48 [39.6]	45 [26.0]	320 [25.5]
<i>V. parahaemolyticus</i>	200 [26.1]	3 [1.5]	11 [9.0]	24 [13.8]	238 [19.0]
<i>V. mimicus</i>	81 [10.6]	18 [9.2]	7 [5.7]	8 [4.6]	114 [9.1]
<i>V. vulnificus</i>	53 [6.9]	27 [13.8]	8 [6.6]	15 [8.6]	103 [8.2]
<i>V. fluvialis</i>	15 [1.9]	5 [2.5]	5 [4.1]	3 [1.7]	28 [2.2]
<i>V. cincinnatiensis</i>	9 [1.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [0.7]
<i>V. furnisii</i>	3 [0.3]	2 [1.0]	1 [0.8]	1 [0.5]	7 [0.5]
<i>V. carchariae</i>	4 [0.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [1.1]	6 [0.4]
Totales	762 [60.9]	195 [15.5]	121 [9.6]	173 [13.8]	1,251 [100.0]

Fuente: Registros del estudio.

Número de muestras ensayadas: 488.

De las 12 especies de *Vibrio* reconocidas como patógenas, se identificaron en los alimentos 9 de ellas, para una representación del 75%. *V. alginolyticus* (con un 34.0% de ocurrencia), *V. cholerae* no-O1 (25.5%) y *V. parahaemolyticus* (19.0%), fueron los que se presentaron en mayor frecuencia.

La Tabla 1 muestra las especies identificadas de *Vibrio* distribuidas según el tipo de alimento. En cada uno de ellos se observó el mismo patrón global de ocurrencia, con una significativa representación de *V. alginolyticus*, *V. cholerae* no-O1, y *V. parahaemolyticus*: *Ostiones*: 78.1%; *Langostas*: 73.2%; *Camarones*: 82.4%; y *Pescado*: 83.1%; respectivamente. Se debe destacar la presencia de *V. vulnificus* en más del 10% de las muestras obtenidas de langostas.

En las muestras estudiadas de plancton se aislaron 51 cepas de *Vibrio*. La Tabla 2 muestra la distribución de las especies patógenas de *Vibrio* encontradas en las muestras de *plancton* obtenidas de 6 puntos del litoral norte habanero. Con las excepciones de *V. cincinnatiensis* y *V. carchariae*, en las muestras analizadas se

identificaron las mismas especies encontradas en los alimentos, para una correspondencia del 77.8%.

De las 488 muestras de alimentos procesadas, 55 (11.3%) de ellas presentaron también coliformes, y por ello, la calidad microbiológica no fue aceptable. La distribución de los coliformes fecales según el tipo de alimento fue como sigue: *Ostiones*: 24.2%; *Langostas*: 4.6%; *Camarón*: 9.9%; y *Pescados*: 2.1%; respectivamente.

La Tabla 3 muestra la asociación entre la presencia de coliformes fecales y la identificación de especies patógenas de *Vibrio* en las muestras de alimentos procesadas. La presencia de coliformes fecales fue independiente de las especies patógenas de *Vibrio* identificadas: Especies patógenas presentes: 11.1% vs. Especies patógenas ausentes: 15.2% ($\chi^2 = 0.69$; $p > 0.05$; OR = 0.6964; IC 95%: 0.2951 – 1.6436). La asociación entre la presencia de coliformes fecales y la identificación de especies patógenas de *Vibrio* fue independiente del tipo de alimento (datos no mostrados).

Tabla 2. Especies patógenas de *Vibrio* aisladas en las muestras de *plancton* obtenidas de 6 puntos del litoral norte de La Habana. Para cada punto estudiado, se presentan el número de muestras recogidas, el número de cepas aisladas, y las especies patógenas encontradas.

Punto de muestreo	Número de muestras recogidas	Número de cepas aisladas	Especies de <i>Vibrio</i>
Caleta de San Lázaro	1	10	<i>V. cholerae no-O1</i> <i>V. alginolitycus</i> <i>V. mimicus</i> <i>Vibrio</i> halófilo (sin identificar)
Bahía de La Habana	3	23	<i>V. cholerae no-O1</i> <i>V. alginolitycus</i> <i>V. parahaemolitycus</i> <i>V. damsela</i> <i>V. fluviales</i> <i>V. vulnificus</i> <i>V. furnisii</i> <i>V. marinus</i> <i>Vibrio</i> halófilo (sin identificar)
Playa "El Chivo"	1	7	<i>V. cholerae no-O1</i> <i>V. mimicus</i> <i>V. parahaemolitycus</i> <i>V. vulnificus</i>
Costa de Cojímar	1	11	<i>V. cholerae no-O1</i> <i>V. alginolitycus</i> <i>V. parahaemolitycus</i> <i>V. vulnificus</i> <i>Vibrio</i> halófilo (sin identificar)
Totales	6	51	

Fuente: Registros del estudio.
Número de muestras ensayadas: 488.

Finalmente, la Figura 2 muestra el comportamiento mensual de la ocurrencia de las especies patógenas de *Vibrio* durante la ventana de observación del estudio. La ocurrencia de las especies patógenas de *Vibrio* fue estable a lo largo de un año de observación, con un valor promedio de 8 muestras positivas de alimentos por cada mes (Recta de regresión lineal: Número de muestras con especies patógenas de *Vibrio* = $7.99 + 0.03 \cdot \text{mes del año}$; $r^2 = 0.012$; $p > 0.05$). El incremento observado en la ocurrencia de las especies patógenas de *Vibrio* entre los meses de junio y septiembre no fue estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN

Los trabajos consultados sobre la composición cualitativa de la microbiota de los productos del mar señalan a las bacterias del género *Vibrio* como predominantes, las que conforman más del 80% del total de las especies encontradas.¹⁰⁻¹¹

En este estudio, el 93.2% de las muestras analizadas resultaron positivas para vibrios patógenos. El ostión fue el alimento con la mayor presencia de la bacteria. Este hallazgo coincide con lo informado por González González,⁶ quien aisló *Vibrio sp* en el 75.0% de las muestras analizadas de

aguas de cultivo de ostiones en La Habana. Por otra parte, Fontáñez Barris,¹² encontró *Vibrio* en todas las muestras investigadas después de estudiar los ostiones del mangle.

La frecuencia elevada de la bacteria *Vibrio* en este alimento de origen marino se le atribuye a la forma de alimentación (por captación pasiva) de los moluscos. Los ostiones son filtradores típicos, y es por esa razón por la que en su sistema digestivo se concentran grandes cantidades de microorganismos (entre virus y bacterias), junto con contaminantes de su hábitat propio.

En las muestras estudiadas se aislaron 9 especies del género *Vibrio*, siendo *V. alginolyticus* la más frecuente, seguida por *V. cholerae* no-O1 y *V. parahaemolyticus*. Estos resultados son comparables a los encontrados por Adeleye *et al.*,¹³ al analizar 25 muestras de alimentos del mar en la ciudad de Lagos (Nigeria).

Este estudio también encontró una alta correspondencia (equivalente al 77.8%) entre las especies identificadas de *Vibrio* en los alimentos investigados y las halladas en las muestras de *plancton*, lo cual era de esperar, teniendo en cuenta la estrecha relación que existe entre el medio marino y este género microbiano.^{9,13} Se ha expresado que *V. cholerae*, en particular, vive vinculado con los copépodos (especie integrante del *plancton*) porque secretan una cubierta protectora de quitina que es disuelta gracias a la acción de una enzima específica que es producida por el microorganismo.¹⁴

Tal como fuera hallado en este estudio, González González también encontró una alta frecuencia de *V. alginolyticus* en muestras de aguas de La Habana.⁶ A pesar de ello, en Cuba, hasta el momento, no se han notificado casos de enfermedad gastrointestinal o extraintestinal atribuible a dicha especie.⁶

A pesar de que *V. cholerae* fue la segunda especie más frecuentemente

identificada en los alimentos estudiados, ninguna de ellas pertenecía a los serogrupos O1 y O139, que son los causantes del cólera. Ello concuerda con lo notificado en estudios previos realizados en el país, que destacan la no existencia en nuestro medio de cepas epidémicas del cólera.^{5-6,14-16} No obstante, González Fraga *et al.*¹⁸ relacionaron cepas de *Vibrio cholera* no-O1y no-O139 con casos de diarrea en niños de corta edad en la Argentina.

Tabla 3. Asociación entre la calidad sanitaria del alimento procesado (dada por la presencia de coliformes fecales) y la presencia de especies patógenas de *Vibrio*. Se presentan el número y [entre corchetes] el porcentaje de especies patógenas de *Vibrio* presentes en las muestras distribuidas según la ausencia/presencia de coliformes.

Especies patógenas de <i>Vibrio</i>	Calidad microbiológica		Totales
	Presencia de coliformes fecales	Ausencia de coliformes fecales	
Presentes	48 [11.1]	384 [89.9]	432 [93.2]
Ausentes	7 [15.2]	39 [84.8]	46 [6.8]
Totales	55 [11.3]	433 [88.7]	488 [100.0]

$\chi^2 = 0.69$; $p > 0.05$.

OR = 0.6964; IC 95%: 0.2951 – 1.6436.

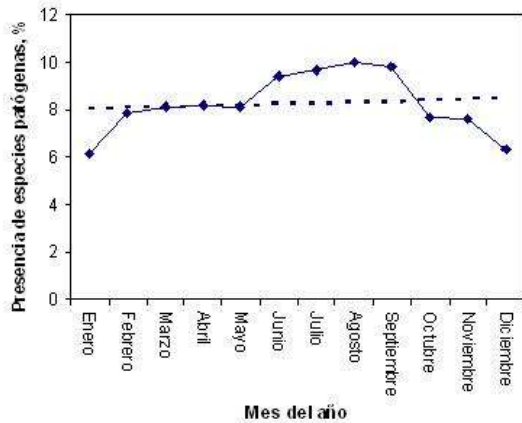
Fuente: Registros del estudio.

Número de muestras ensayadas: 488.

En este trabajo no se observó relación alguna entre la presencia de coliformes fecales en el alimento estudiado y el aislamiento de especies patógenas de *Vibrio*. Se plantea que estos microorganismos, por ser miembros autóctonos de la microbiota de estuarios y pantanos costeros, pueden sobrevivir en aguas relativamente libres de contaminación fecal humana.¹⁰ Se ha encontrado *V. cholerae* O1 toxigénico

durante períodos prolongados en ambientes de agua dulce libres de contaminación fecal.¹⁰

Figura 2. Comportamiento de la ocurrencia de especies patógenas de *Vibrio* durante un año de observación. Se presentan el promedio de las muestras de alimentos que resultaron positivas a las especies patógenas de *Vibrio* en cada mes de la ventana de observación del estudio. La línea punteada de color azul representa la tendencia estacional.



Fuente: Registros del estudio.
Número de muestras ensayadas: 488.

La calidad microbiológica de pescados y crustáceos está relacionada con el medio ambiente del cual proceden, aunque la microbiota natural presente en las especies de alta mar rara vez contiene microorganismos peligrosos para el hombre. Sin embargo, las especies capturadas en las aguas costeras son susceptibles de contaminarse con desechos humanos y/o animales y contaminantes industriales y/o agrícolas. Tal es el caso, por ejemplo, de los ostiones, quienes pudieran originar problemas graves por la acumulación de

especies patógenas para la salud humana.¹⁹⁻²⁰

En este estudio, si bien los ostiones fueron los alimentos con menor calidad microbiológica (en virtud del elevado contenido de coliformes fecales), el número de productos no aceptables para el consumo humano fue (como regla general) bajo. Ello se atribuye a que las muestras analizadas se capturaron en la plataforma marina, o provenían de criaderos en los que habitualmente existe un control higiénico adecuado del agua y del ambiente donde se cultivan. Contrario a estos hallazgos, diferentes autores han notificado recuentos elevados de coliformes fecales en diversas muestras de origen marino. García Cortés *et al.*, después de estudiar 40 muestras de almejas congeladas, aislaron *Salmonella*, *Vibrio parahemolyticus* y *Staphylococcus aureus* en el 25.0%, el 35.0% y el 58.0% de las instancias, respectivamente.²⁰ En solo una de las tantas muestras ensayadas estos investigadores obtuvieron resultados aceptables de calidad sanitaria (teniendo en cuenta el indicador de coliformes fecales).²⁰

Por su parte, Quiñones Ramírez *et al.*,²¹ reportaron que ninguna de las 260 muestras estudiadas de moluscos bivalvos fue aceptable para el consumo humano en virtud del comportamiento del indicador de coliformes fecales, y atribuyeron este resultado a la presencia de asentamientos humanos próximos a la costa, evento que facilita la contaminación del agua con las heces fecales.²¹

La temperatura es el factor ambiental que más influencia ejerce sobre la composición de la microbiota de los alimentos de origen marino.^{11,22} Un trabajo realizado en México describió el aislamiento de *V. mimicus* en muestras de ostión, agua y pescado durante todo el periodo de duración del estudio, y refirió que los aislamientos fueron escasos entre los meses de octubre y diciembre.²³ Los autores plantearon que ello

se debía a las condiciones de estrés a las que se ve sometida la bacteria por las bajas temperaturas y los pocos nutrientes disponibles.²³ Por su parte, Fontanéz Barris,¹² trabajando en Puerto Rico, encontró que los recuentos de *V. mimicus* eran más altos en los meses de primavera y verano. Fontanéz Barris también opinó que en los meses de verano la superficie del agua posee la temperatura y las cantidades de nutrientes más favorables para el crecimiento de los microorganismos que forman parte del *zooplankton* y/o *fitoplancton*, esenciales para el sostén de la población marina.¹²

En Cuba, el clima es predominantemente cálido, y son pocas las variaciones en la temperatura del mar, cuyo valor se mantiene generalmente por encima de los 20°C. Estas condiciones son favorables para la supervivencia del género *Vibrio* en el medio cubano, tal y como lo indica la diversidad de especies identificadas en el presente trabajo, sin que se encontraran diferencias en cuanto a la frecuencia de aislamientos en las distintas etapas del año de observación. No obstante, al ser Cuba una isla larga y estrecha, las condiciones geográficas y atmosféricas en el occidente del país podrían variar respecto de las propias en el centro y el oriente. Futuras investigaciones deberán extenderse a otras regiones del país con el fin de obtener resultados más representativos.

Se plantea que el calentamiento global y el fenómeno meteorológico del “El Niño” pueden afectar profundamente las condiciones ambientales locales, y pueden ejercer un papel clave en el regreso del cólera. “El Niño” calentó las corrientes de agua superficial que nacen en el este del Océano Pacífico, cerca de la costa de la América Central y del Sur, y luego se extendió por los trópicos y subtrópicos. Las temperaturas calientes de la superficie marítima que trae consigo este fenómeno

pueden propiciar grandes concentraciones del *plancton*, especialmente, en las aguas costeras, lo que resultaría en grandes cantidades de nutrientes procedentes de las aguas residuales y de las escorrentías de las tormentas. Estos cambios pueden favorecer el incremento de las especies de *Vibrio*.²⁴⁻²⁵

Atendiendo a lo expresado más arriba, se debe continuar la vigilancia de las especies patógenas de *Vibrio* en Cuba, dada la situación geográfica y las condiciones ambientales del país, y debido a la vulnerabilidad a la ocurrencia de fenómenos naturales como huracanes e inundaciones; junto con el peligro (casi) permanente de introducción del *V. cholerae* a través de la actividad turística, la existencia de puertos marítimos con actividad internacional, y la entrada permanente de estudiantes y cooperantes que viajan desde regiones donde el cólera es endémico.

CONCLUSIONES

A lo largo de 4 años se estudió la presencia de especies patógenas de *Vibrio* en 4 tipos de alimentos de origen marino. Se observó una elevada frecuencia de presencia de tales especies en los alimentos, siendo los ostiones los más afectados. No se comprobó la presencia de las cepas O1 y O139 de *V. cholerae*, responsable del cólera. La distribución de las especies patógenas de *Vibrio* fue similar en el *plancton* obtenido de 6 puntos del litoral norte habanero. Con la sola excepción de los ostiones, los restantes alimentos estudiados se destacaron por bajas tasas de contaminación con coliformes fecales. No se demostró que existiera una asociación entre la presencia de coliformes fecales y la identificación de las especies patógenas de *Vibrio* en los alimentos estudiados. El comportamiento de los aislamientos de las especies patógenas de *Vibrio* fue invariante de la estación del año.

AGRADECIMIENTOS

Dr. Sergio Santana Porbén, Editor-Ejecutivo de la RCAN Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, por la ayuda prestada en la preparación de este artículo.

SUMMARY

This work presents the Vibrio pathogenic species found in sea foods, their relationship with the sanitary quality of the investigated sources, as well as the seasonal variation of their occurrence throughout the study's observation window. Four-hundred eighty-eight samples from 4 different sea foods (Oysters: 33.8%; Fishes: 29.5%; Lobsters: 22.1%; and Shrimps: 14.5%) withdrawn from waters surrounding two provinces of the country between January 2003 and December 2007 (both included); along with 6 samples of plankton taken from the shore north of the city of Havana, were assayed by means of traditional microbiological methods. Odds-ratio for the association between the sanitary quality of sea foods (given by the number of fecal coliforms) and the presence of Vibrio pathogenic species was estimated. The seasonal behavior of the occurrence of Vibrio pathogenic species was estimated by means of linear regression techniques. Ninety-three point two percent of the samples were positive for Vibrio pathogenic species. Nine species were identified. V. alginolyticus (34.0%), V. cholerae no-O1 (25.5%) and V. parahaemolyticus (19.0%) were the most frequently found species. Neither the O1 nor the O139 V. cholerae specie was found on the food samples. Eleven point three percent of the assayed samples showed fecal coliforms, but this finding was independent from the presence of Vibrio pathogenic species (OR = 0.6964; IC 95%: 0.2951 – 1.6436; p > 0.05). No relationship was found between the isolation frequency of Vibrio species and the seasons of the year. Leyva Castillo V, Puig Peña Y, Espino Hernández M, Pereda Lamela G, Portela López N, Morejón PL, Roble O. Pathogen species of Vibrio isolated from sea foods. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2013;23(1):31-43. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929

Subject headings: Vibrio / Vibrio cholerae / Parasite-borne diseases / Sea foods.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kenneth Todar. *Vibrio cholerae* and asiatic cholera. Online Textbook of Bacteriology. 2009. pp 1-4 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://www.textbookofbacteriology.net/c holera.html>. Fecha de último acceso: 21 de Febrero del 2010.
2. Pirkani GS, Babar AM, Rasool G, Iqbal M, Johezai EK, ud Din N. Afterborn outbreak of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa. Professional Med J 2005;12:247-50.
3. OMS Organización Mundial de la Salud. Epidemias mundiales e impacto del cólera. Epidemias mundiales. 2010 [Sitio de Internet] Disponible en: <http://www.who.int/topics/cholera/impac t/es/index.html>. Fecha de último acceso: 21 de febrero del 2010.
4. González González MI. Aislamiento de *Vibrio cholerae* y especies asociadas en agua. Trabajo para optar por el título de Doctor en Ciencias de la Salud. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana: 2002.
5. Leyva VC, Cisneros ED, Valdez EA, Pérez BS, Vallejo VR, Pérez OR. Determinación de *Vibrio cholerae* en ostión fresco. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 1996;10:12-5.
6. González González MI. Identificación de especies del género *Vibrio* aisladas de aguas costeras. 2006 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/pue rtorico/xx.pdf>. Fecha de último acceso: 14 de Mayo 2010.
7. Bacteriological Analytical Manual Online. US Department of Health and Human Services. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. January 2001. FDA/CFSAN Bad Bug Book. Maryland:

- 2005 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>. Fecha de último acceso: 24 de Febrero del 2010.
8. NC 38-02-14/1989. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la determinación cuantitativa de coliformes fecales. Técnica del número más probable. Instituto de Normalización y Metrología. La Habana: 1989.
 9. NC 585-2011. Contaminantes microbiológicos en alimentos. Requisitos sanitarios. *Íbidem*. La Habana: 2001.
 10. Guzmán Murrillo MA, Ascencio F. Alimentos de origen marino. En: Microbiología de los alimentos (Editores: Refugio Torres M, Castillo Ayala A). Universidad de Guadalajara. Guadalajara: 2006. pp 181-204.
 11. Leyton Y, Riquelme C. Vibrios en los sistemas marinos costeros. Revista Biología Marina Oceanografía 2008;43: 441-56.
 12. Fontánez Barris 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 de la zona suroeste de Puerto Rico. Tesis para optar el título de Maestro en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Recinto Universitario de Mayagüez. Universidad de Puerto Rico. Mayagüez: 2005 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://grad.uprm.edu/tesis/fontanezbarris.pdf>. Fecha de último acceso: 21 de Junio del 2010.
 13. Adeleye IA, Daniels FV, Enyinnia BA. Characterization and pathogenicity of *Vibrio spp.* contaminating seafoods In Lagos, Nigeria. Internet Journal Food Safety 2010;12:1-9.
 14. Rabbani GH, Greenough WB. Foods as a vehicle of transmission of cholera. J Diarrhoeal Dis Res 1999;17:1-9.
 15. Bravo Fariñas L, Fernández A, Ramírez M, Llop A, Martínez G, Hernández R, *et al.* Caracterización microbiológica de cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 aisladas en Cuba. Rev Cubana Med Trop 2007;59(3):0-0. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602007000300008&lng=es. Fecha de último acceso: 26 de Agosto del 2010.
 16. Bravo Fariñas L, Ramírez Gotario M, Maestre Mesa JL, Llop Hernández A, Cabrera R, García Rodríguez B, *et al.* *Vibrio cholerae* No-01 toxigénico. Rev Cubana Med Trop 2000;52:106-9.
 17. Majano-Mendoza A, Bravo-Fariñas L, Fernández-Abreu A, Martínez-Motas I, Núñez F, Mederos-Cuervo LM, *et al.* Caracterización fenotípica de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos oxidasa positiva, aislados de pacientes con enfermedad diarreica aguda en Cuba. Rev Biomed 2009;20:25-32.
 18. González Fraga S, Villagra de Trejo A, Pichel M, Figueroa S, Merletti G, Caffer MI, *et al.* Caracterización de aislamientos de *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 asociados a cuadros de diarrea. Revista Argentina Microbiología 2009; 41:14-9.
 19. Guzmán Murrillo MA, Ascencio F. Alimentos de origen marino. En: Microbiología de los alimentos (Editores: Refugio Torres M, Castillo Ayala A). Universidad de Guadalajara. Guadalajara: 2006. pp 181-204.
 20. García Cortés V, Martín F. Sancho Madriz. Calidad microbiológica de almejas congeladas. San José, Costa Rica: 2006 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v>

- [8n1/art2.pdf](#). Fecha de último acceso: 14 de Mayo del 2010.
21. Quiñones-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C, Pedroche F, Moreno-Sepúlveda L, Rodas-Suárez OR. Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella*, y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. *Hidrobiológica* [Revista en Internet] 2000;10:131-8. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57810208>. Fecha de último acceso: 1 de Septiembre del 2010.
 22. Carlos A, Eslava C A, Rosas I, Solano M, Delgado G, Ramírez M, *et al.* *Vibrio cholerae*: bacteria ambiental con diferentes tipos de vida. En: *Microbiología ambiental. Programa universitario del medio ambiente* (Editores: Rosas I, Cravioto A, Ezcurra E). Instituto Nacional de Ecología. UNAM Universidad Autónoma de México. Ciudad México: 2006 [Sitio de Internet]. Disponible en:
 23. González Vázquez E. Fenotipificación de cepas de *Vibrio mimicus* aisladas de agua y productos de la pesca. UAM Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad México: 2006 [Sitio de Internet]. Disponible en: <http://148.206.53.231/UAMI13650.pdf>. Fecha de último acceso: 14 de Mayo del 2010.
 24. Huarcaya Castilla E, Rossi Leyva F, LLanos-Cuentas A. Influencia de factores climáticos sobre las enfermedades infecciosas. *Rev Med Hered* 2004;15:218-24.
 25. Eiler AC, Gonzalez-Rey SA, Bertilsson S. Growth response of *Vibrio cholerae* and other *Vibrio* spp to cyanobacterial dissolved organic matter and temperature in brackish water. *FEMS Federation of European Microbiological Societies. Microbiology Ecology* 2007; 60:411-18.