



# UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

Identificación de *Vibrio parahaemolyticus* en *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)  
comercializados en el Terminal Pesquero Villa María del Triunfo

## TESIS

Para optar el título profesional de Licenciada en Biología

## AUTORA

Urbina Riveros, Helen Katherine

0000-0002-3141-2476

## ASESOR

Ramos Gorbeña, Juan Carlos

0000-0002-9713-2653

Lima, Perú

2023

## **Metadatos Complementarios**

### **Datos de autor(a):**

Urbina, Riveros, Helen Katherine

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 47621347

### **Datos de asesor**

Ramos Gorbeña, Juan Carlos

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 10243429

### **Datos del jurado**

JURADO 1: Agurto Sáenz, Tomás Rene

Número de documento de identidad: 07207884

Código ORCID: 0000-0001-5186-9265

JURADO 2: Guerra Santa Cruz, Alcides

Número de documento de identidad: 28260663

Código ORCID: 0000-0002-5130-8190

JURADO 3: Dávila Robles, Miguel Germán

Número de documento de identidad: 07261702

Código ORCID: 0000-0002-7429-4836

### **Datos de la investigación**

Campo del conocimiento OCDE: 1.06.01

Código del Programa: 511206

## DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, Helen Katherine Urbino Riveros, con código de estudiante N° 200920889, con (DNI o Carné de Extranjería<sup>1</sup>) N° 47621347 con domicilio en Coop. Umamarca Mz D1, distrito San Juan de Miraflores provincia y departamento de Lima.

En mi condición de bachiller en Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, declaro bajo juramento que:

(El/la) presente (tesis/ trabajo de suficiencia profesional/ proyecto de investigación)

titulado: "Identificación de Vibrio parahaemolyticus en Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819) comercializados en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo"

es de mi única autoría, bajo el asesoramiento del docente Mg. Juan Carlos Ramos Corbera, y no existe plagio y/o copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación presentado por cualquier persona natural o jurídica ante cualquier institución académica o de investigación, universidad, etc; (el/la) cual ha sido sometido (a) al antiplagio Turnitin y tiene el 25 % de similitud final.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el(la) (tesis/ trabajo de suficiencia profesional/ proyecto de investigación), el contenido de estas corresponde a las opiniones de ellos, y por las cuales no asumo responsabilidad, ya sean de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o de internet.

Asimismo, ratifico plenamente que el contenido íntegro del(la) (tesis/ trabajo de suficiencia profesional/ proyecto de investigación) es de mi conocimiento y autoría. Por tal motivo, asumo toda la responsabilidad de cualquier error u omisión en el(la) (tesis/ trabajo de suficiencia profesional/ proyecto de investigación) y soy consciente de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de falsa declaración, me someto a lo dispuesto en las normas de la Universidad Ricardo Palma y a los dispositivos legales nacionales vigentes.

Surco, 24 de Oct. de 2023

Helen Katherine Urbino Riveros.

(Nombre completo)

(DNI o Carné de Extranjería  
N°) 47621347

<sup>1</sup> Se debe colocar la opción que corresponda, realizar lo mismo en todo el texto del documento.

# Identificación de *Vibrio parahaemolyticus* en *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) comercializados en el Terminal Pesquero Villa María del Triunfo

## INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

25%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.urp.edu.pe](http://repositorio.urp.edu.pe)

Fuente de Internet

5%

2

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

3%

3

[repositorio.lamolina.edu.pe](http://repositorio.lamolina.edu.pe)

Fuente de Internet

2%

4

[docplayer.es](http://docplayer.es)

Fuente de Internet

2%

5

[edoc.pub](http://edoc.pub)

Fuente de Internet

1%

6

[repositorio.ug.edu.ec](http://repositorio.ug.edu.ec)

Fuente de Internet

1%

7

[repositorio.unp.edu.pe](http://repositorio.unp.edu.pe)

Fuente de Internet

1%

8

[1library.co](http://1library.co)

1%

Fuente de Internet

---

9	<a href="http://bvs.per.paho.org">bvs.per.paho.org</a> Fuente de Internet	1 %
10	<a href="http://biblioteca.spda.org.pe">biblioteca.spda.org.pe</a> Fuente de Internet	1 %
11	<a href="http://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
12	<a href="http://ri.ues.edu.sv">ri.ues.edu.sv</a> Fuente de Internet	< 1 %
13	<a href="http://scielosp.org">scielosp.org</a> Fuente de Internet	< 1 %
14	<a href="http://dokumen.site">dokumen.site</a> Fuente de Internet	< 1 %
15	<a href="http://www.scielo.org.pe">www.scielo.org.pe</a> Fuente de Internet	< 1 %
16	<a href="http://sourcedb.shanghaipasteur.cas.cn">sourcedb.shanghaipasteur.cas.cn</a> Fuente de Internet	< 1 %
17	<a href="http://mdmcientifica.com">mdmcientifica.com</a> Fuente de Internet	< 1 %
18	<a href="http://revistas.urp.edu.pe">revistas.urp.edu.pe</a> Fuente de Internet	< 1 %
19	<a href="http://www.urp.edu.pe">www.urp.edu.pe</a> Fuente de Internet	< 1 %
20	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	< 1 %



21

[www.upch.edu.pe](http://www.upch.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

22

[renatiqa.sunedu.gob.pe](http://renatiqa.sunedu.gob.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

23

[diu.unheval.edu.pe](http://diu.unheval.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

24

[repositorio.uns.edu.pe](http://repositorio.uns.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

25

Submitted to Universidad Católica de Santa  
María

Trabajo del estudiante

< 1 %

---

26

[repositorio.unjfsc.edu.pe](http://repositorio.unjfsc.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

27

[repositorioinstitucional.buap.mx](http://repositorioinstitucional.buap.mx)

Fuente de Internet

< 1 %

---

28

[docslide.us](http://docslide.us)

Fuente de Internet

< 1 %

---

29

[renati.sunedu.gob.pe](http://renati.sunedu.gob.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

30

[repositorio.upch.edu.pe](http://repositorio.upch.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

---

31

[revistas.ug.edu.ec](http://revistas.ug.edu.ec)

Fuente de Internet

< 1 %

---

32

[repositorio.puce.edu.ec](http://repositorio.puce.edu.ec)

Fuente de Internet

< 1 %

33

[www.buenastareas.com](http://www.buenastareas.com)

Fuente de Internet

< 1 %

34

[tesis.ucsm.edu.pe](http://tesis.ucsm.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

35

[www.neogen.com](http://www.neogen.com)

Fuente de Internet

< 1 %

36

[jornades.uab.cat](http://jornades.uab.cat)

Fuente de Internet

< 1 %

37

[repositorio.espam.edu.ec](http://repositorio.espam.edu.ec)

Fuente de Internet

< 1 %

38

[cdigital.uv.mx](http://cdigital.uv.mx)

Fuente de Internet

< 1 %

39

[repositorio.unap.edu.pe](http://repositorio.unap.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

40

[www.dspace.unitru.edu.pe](http://www.dspace.unitru.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

41

[dspace.unitru.edu.pe](http://dspace.unitru.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

42

[revistas.unfv.edu.pe](http://revistas.unfv.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

43

[tel.archives-ouvertes.fr](http://tel.archives-ouvertes.fr)

Fuente de Internet

< 1 %



## Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS

44

Trabajo del estudiante

< 1 %

45

P. Bonato, F. Perlo, G. Teira, R. Fabre, S. Kueider. "NUGGETS FORMULADOS CON CARNE DE AVE MECÁNICAMENTE RECUPERADA Y LAVADA: ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN NUGGETS WITH WASHED MECHANICALLY DEBONED CHICKEN MEAT: FROZEN STORAGE STABILITY", Ciencia y Tecnologia Alimentaria, 2006

Publicación

< 1 %

46

[riull.ull.es](http://riull.ull.es)

Fuente de Internet

< 1 %

47

Submitted to Universidad Estatal de Milagro

Trabajo del estudiante

< 1 %

48

Submitted to Universidad Manuela Beltrán Virtual

Trabajo del estudiante

< 1 %

49

[es.scribd.com](http://es.scribd.com)

Fuente de Internet

< 1 %

50

[jifsan.umd.edu](http://jifsan.umd.edu)

Fuente de Internet

< 1 %

51

[moam.info](http://moam.info)

Fuente de Internet

< 1 %

Fuente de Internet

52

[www.infopesca.org](http://www.infopesca.org)

< 1 %

Submitted to Universidad Nacional de

< 1 %

53

Colombia

Trabajo del estudiante

54

[repositorio.umsa.bo](http://repositorio.umsa.bo)

Fuente de Internet

< 1 %

55

[transparencia.unitru.edu.pe](http://transparencia.unitru.edu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

56

[www.mardelperu.pe](http://www.mardelperu.pe)

Fuente de Internet

< 1 %

57

Submitted to Cooperativa de Servicios  
Educativos Abraham Lincoln Ltda

Trabajo del estudiante

< 1 %

58

[biblioteca.galileo.edu](http://biblioteca.galileo.edu)

Fuente de Internet

< 1 %

59

[healthlibrary.bvhealthsystem.org](http://healthlibrary.bvhealthsystem.org)

Fuente de Internet

< 1 %

60

[macopsproject.files.wordpress.com](http://macopsproject.files.wordpress.com)

Fuente de Internet

< 1 %

61

[repositorio.una.edu.ni](http://repositorio.una.edu.ni)

Fuente de Internet

< 1 %

---

Excluir citas bibliografía Activo Excluir Activo

Excluir coincidencias < 15 words

**DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por haberme otorgado una familia muy hermosa, quienes siempre me han dado aliento de superación y triunfo en la vida.

Quiero dedicar esta tesis a mis queridos padres Miguel y Yola, por sus consejos, apoyo emocional e incondicional y su paciencia en cada paso que daba, también doy gracias a mi hermana Jennifer y mi sobrina Valeska por los constantes ánimos que proporcionaron a mi persona.

Gracias totales.

## AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a Dios por permitirme terminar una carrera muy hermosa como es Biología, en el cual eres conocedor del desarrollo y evolución de la vida.

Esta tesis ha sido un sacrificio y ha requerido de mucho esfuerzo, como también cansancio, momentos de angustia, desesperación y horas de sueño, durante este periodo en la elaboración de esta tesis he tenido altos y bajos como también suerte de contar con personas maravillosas que me brindaron ánimos y apoyos en numerosas ocasiones, en la cual les debo mi reconocimiento.

En segundo lugar, al Mg. Juan Carlos Ramos, mi asesor de tesis quien ha sido una guía en las diferentes dudas que se me ha presentado.

Agradezco hoy y siempre a mi familia (mi papá Miguel, mi mamá Yola, mi hermana Jennifer y mi sobrina Valeska) que siempre han procurado mi bienestar y siempre se han esforzado por hacer todo lo posible por tener una educación, a mi papá que siempre con sus consejos me ha subido los ánimos aunque él piense que nunca le escucho o tomo importancia a cada uno de sus consejos que me han llevado a lograr mis objetivos y a mi madre por su apoyo constante y el cariño inmenso que siempre me ha brindado.

A mis compañeras Andrea Villaseca, Daniela Aguado y Nadia Huanca por el apoyo de forma desinteresada que me han ayudado y alentado para continuar día a día.

Sin duda son muchas otras personas con las que estoy infinitamente agradecida, compañeros del trabajo, familiares, amigos, entre otros que se han alegrado de los logros que he dado, porque la compañía de cada uno de ellos ha hecho que las cosas malas se conviertan en buenas y la tristeza se ha transformado en alegría.

## RESUMEN

El *Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria halófila considerado como un indicador de inocuidad en productos hidrobiológicos frescos, su incremento es debido a los cambios ambientales o los eventos de “El Niño” que genera la persistencia y la propagación de esta especie, este patógeno como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, y aerobios mesófilos tienen la capacidad de causar diferentes enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) o producir la mortalidad.

El objetivo de este estudio fue identificar *Vibrio parahaemolyticus* en *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) comercializados en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, siete puestos fueron escogidos de forma aleatoria recolectando un total de 50 muestras. Las muestras fueron procesadas para la identificación de *V. parahaemolyticus* mediante estudios microbiológicos, se utilizó un medio selectivo tiosulfato- citrato-sacarosa (TCBS) obteniéndose un total de 33/66 cepas con características de *V. parahaemolyticus*. Se realizaron pruebas bioquímicas a las cepas identificándose 19/33 *Vibrio parahaemolyticus* y 14/33 *Vibrio vulnificus*. Las 33 cepas identificadas y aisladas se le realizó la prueba de sensibilidad con cuatro antibióticos, los aislamientos mostraron valores de resistencia al 100% en los antibióticos de tetraciclina (TE 30) y furazolidona (FX 100), en el caso del antibiótico cloranfenicol (C 30) el 90% es resistente y el 1% presenta una susceptibilidad intermedia, sin embargo, 60% del antibiótico trimetoprima/ sulfametoxazol (SXT 25) es resistente, el 39% es de susceptibilidad intermedia y el 1% es sensible.

Con respecto a otros patógenos que se encuentran en los moluscos se realizó el ensayo presencia/ausencia y el recuento por diseminación en superficie de agar para microorganismos indicadores de calidad, en el caso de presencia/ausencia de patógenos se utilizó la metodología AOAC (Association of Analytical Communities). En la investigación el recuento de *Staphylococcus aureus* fue de  $<10$  UFC/mL, Mesófilos aerobios Totales fue de  $8 \cdot 10^7$  UFC/mL, Coliforme totales  $4 \cdot 10^7$  UFC/mL y *Escherichia coli* de  $<10$  UFC/mL.

**Palabras claves:** *Vibrio parahaemolyticus*, patógenos, inocuidad, sensibilidad bacteriana.

## ABSTRACT

*Vibrio parahaemolyticus* is a halophilic bacteria considered as an indicator of harmfulness in fresh hydrobiological products. Its increase is due to environmental changes or “El Niño” events that generate the persistence and spread of this species, this pathogen such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, and mesophilic aerobes have the capacity to cause different foodborne illnesses (FADs) or produce mortality.

The objective of this study was to identify *Vibrio parahaemolyticus* in *Argopecten purpuratus* (fan shell) marketed at the Villa María del Triunfo Fishing Terminal, seven stands were randomly selected and a total of 50 samples were collected. The samples were processed for the identification of *V. parahaemolyticus* through microbiological studies using a selective thiosulfate-citrate-sucrose (TCBS) medium, obtaining a total of 33/66 strains with characteristics of *V. parahaemolyticus*. Biochemical tests were performed on the strains, identifying 19/33 *Vibrio parahaemolyticus* and 14/33 *Vibrio vulnificus*. The 33 strains identified and isolated were tested for sensitivity with four antibiotics; the isolates showed 100% resistance to the antibiotics tetracycline (TE 30) and furazolidone (FX 100), In the case of the antibiotic chloramphenicol (C 30), 90% is resistant and 1% has intermediate susceptibility; however, 60% of the antibiotic trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT 25) is resistant, 39% has intermediate susceptibility and 1% is sensitive.

With respect to other pathogens found in the mollusks, the presence/absence test and the agar surface dissemination count for quality indicator microorganisms were performed; in the case of presence/absence of pathogens, the AOAC (Association of Analytical Communities) methodology was used. In the investigation, the *Staphylococcus aureus* count was  $<10$  UFC/mL, total aerobic mesophiles was  $8 \cdot 10^7$  UFC/mL, total coliforms  $4 \cdot 10^7$  UFC/mL and *Escherichia coli* was  $<10$  UFC/mL.

**Key words:** *Vibrio parahaemolyticus*, molluscs, presence, total coliforms, "El Niño" event, fishing terminal, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## INDICE

I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
III. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	7
IV. OBJETIVOS.....	8
4.1 Objetivo General .....	8
4.2 Objetivos específicos:.....	8
V. MARCO TEÓRICO.....	9
5.1 Moluscos Bivalvos .....	9
5.1.1 <i>Argopecten purpuratus</i> “Concha de abanico” .....	11
5.2 Especies comercializadas en el Perú.....	12
5.3 Familia Vibrionaceae .....	15
5.3.1 Generalidades.....	15
5.3.2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	16
5.4 Situación Internacional y Nacional de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	18
5.4.1 Situación Internacional.....	18
5.4.2 Situación en el Perú.....	20
5.5. Otros microorganismos asociados a enfermedades de productos hidrobiológicos .....	21
5.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
5.5.2 <i>Escherichia coli</i> .....	21
5.6. Mercado Mayorista Pesquero de Villa María del Triunfo.....	21
VI. ANTECEDENTES .....	23
VII. HIPÓTESIS.....	30
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
8. 1 Lugar de ejecución.....	31
8.2 Tipos y diseños de investigación.....	31
8.3 Variables.....	31
8.4 Operacionalización de las variables.....	32
8.5 Muestreo.....	33
8.6 Procedimiento y análisis de datos .....	33
8.6.1 Procedimientos para recolección de datos .....	33
8.6.2 Procedimientos para el procesamiento de las muestras.....	35

8.8.3 Análisis de datos.....	47
8.7. Aspecto ético.....	47
IX. RESULTADOS.....	48
X. DISCUSIÓN.....	55
XI. CONCLUSIONES .....	57
XII. RECOMENDACIONES .....	59
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
XIV. ANEXOS .....	65

## INDICE DE FIGURA

Figura 1: Modelo de bivalvo, identificación de características internas y externas.....	10
Figura 2: Características externas e internas de <i>Argopecten purpuratus</i> (Concha de abanico).....	12
Figura 3. Principales lugares de compra de productos hidrobiológicos para consumo en el hogar-2014.....	14
Figura 4: Ilustración de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> transmisión a humanos y ensayo de curado de plásmidos.....	18
Figura 5: Ilustración de <i>V. parahaemolyticus</i> epidemiología en todo el mundo. ....	20
Figura 6: Mapa del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo .....	65
Figura 7: Muestras de <i>Argopecten purpuratus</i> en 7 puesto aleatorios del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo .....	66
Figura 8: Unidad muestral constituida por 5 moluscos en cada puesto aleatorio del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo .....	66
Figura 9: Extracción de la parte interna de <i>Argopecten purpuratus</i> y colocado en peptonada alcalina obtenidas del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo .....	67
Figura 10: Selección de cepas de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en agar TCBS .....	67
Figura 11: Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	67
Figura 12: Pruebas bioquímicas TSI para identificación de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	68
Figura 13: Pruebas bioquímicas LIA para identificación de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	68
Figura 14: Pruebas bioquímicas SIM para identificación de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	69
Figura 15: Sembrado en placas petrifilm para identificación de mesófilos aerobios, coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .....	69
Figura 16: Presencia/ausencia y recuento de mesófilos aerobios, coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .....	70
Figura 17: Antibiograma con cuatro antibióticos Trimetoprim/ sulfametoxa (SXT25), tetraciclina (TE30), cloranfenicol (C30) y furazolidona (FX100) .....	70

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1: Lista de moluscos bivalvos comerciales del mar peruano .....	14
Tabla 2: Operaciones de variables.....	32
Tabla 3: Toma de muestras de <i>Argopecten purpuratus</i> .....	34
Tabla 4: Presencia y Ausencia de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en agar TCBS en 50 muestras .....	49
Tabla 5: Obtención de 33 cepas y pruebas bioquímicas que presentan características de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	50
Tabla 6: Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las 33 cepas de <i>V. parahaemolyticus</i> ante cuatro antibióticos .....	51
Tabla 7: Criterios microbiológicos para productos hidrobiológicos del sub grupo XI.3 moluscos y crustáceos crudos.....	53
Tabla 8: Recuento microbiológico de <i>Escherichia coli</i> , <i>Mesófilos aerobico</i> y <i>Staphylococcus aureos</i> ...	53

## I. INTRODUCCIÓN

El *Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria zoonótica, gramnegativa, perteneciente al género *Vibrio*, que se encuentran en el aparato digestivo de los moluscos bivalvos, que mediante su alimentación por filtración ellos acumulan y concentran contaminantes naturales como también antropogénicos, lo que hace que esté implicado en la enfermedad gastroenteritis aguda asociado a los alimentos marinos. Se sabe que los factores ambientales y climáticos influyen mucho en el desarrollo y son patógenos que se transmiten a través de alimentos de origen marino, como es el consumo de moluscos, crustáceos y pescados crudos o también se debe a que estén insuficientemente cocinados, la presencia de este patógeno está también asociada a una inadecuada buenas prácticas de manipulación o por unas inadecuadas buenas prácticas de transporte. La aparición de antibióticos de uso habitual en la medicina humana y animal ha generado mayor interés a nivel mundial en la vigilancia epidemiológica con respecto a la distribución, estudio y desarrollo respecto a sus diferentes estrategias para su control y prevención.

En el Perú se han registrado 370 especies de bivalvos marinos, siendo 34 de valor comercial para fines alimenticios, generando así grandes beneficios económicos para nuestro país, las especies con mayor demanda son *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) y *Aulacomya ater* (choro).

*Vibrio parahaemolyticus* fue identificado y aislado por primera vez en el continente asiático en Japón entre los años 1951 y 1953, siendo los responsables de aproximadamente el 30% de casos de infección alimentaria en ese país y en otros países asiáticos, esto se debe a que el consumo en los lugares asiáticos

es crudo o poco cocinados. En otros países como Malasia en donde se obtuvo el 16.2% del *Vibrio* en pescados provenientes de diferentes mercados, en Estados Unidos en donde se detectó el 21.8% causando 34 mil casos aproximadamente de infección por la bacteria.

En el Perú la primera situación de *V. parahaemolyticus* se originó en el año 1996 en la ciudad de Trujillo y en el año 1998 se dio el primer brote en la ciudad de Lima, registrándose en el año 1997 brotes el cual fueron asociados al cambio climático debido al evento de El Niño alterando las condiciones ecológicas como es el caso de la tasa de abundancia del plancton, específicamente en las ciudades de Cajamarca, Chiclayo, Piura y Lima en donde durante los climas más cálidos del año se ha detectado la presencia de *Vibrio* y/u otros patógenos.

Debido al cambio climático que se está originando en nuestro planeta o a los diferentes eventos naturales caracterizados por las fluctuaciones de las temperaturas del océano en mayor repercusión en las zonas costeras, esto ha llevado a considerar al *V. parahaemolyticus* un patógeno que necesita de un adecuada vigilancia y control.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El género *Vibrio* pertenece a la familia Vibrionaceae, comprendiendo 75 especies de las cuales al menos 12 son reconocidas como patógenos para ser humano (Heitmann *et al.*, 2005), tres especies (*Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulniformes*) son considerados como los patógenos más importantes tanto en la capacidad de causar enfermedades como también la magnitud en la carga global de mortalidad. (Balakrish y Hormazábal, 2005).

*Vibrio cholerae* es la especie que ha producido mayores enfermedades generando pandemias desde inicios del siglo XIX, Lanata (1991 como citado en Aliaga, Miranda, Zevallos 2010) afirma que nuestro país no fue ajeno a ello, debido a que fue golpeada por tres pandemias, la última ocurrida en el año 1991. Se han podido controlar los casos de gastroenteritis producida por *V. cholerae*, sin embargo, debido al calentamiento global y los eventos de “El Niño” que se han ido congregando los parámetros hidrobiológicos normales del ecosistema marino produciendo la divulgación excesiva de fitoplancton y zooplancton, generando la persistencia y la propagación no solo del *Vibrio cholerae* sino también del *Vibrio parahaemolyticus*. (Aliaga, 2005)

*Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria halófila, autóctona del ambiente marino, considerado como un indicador para el control de la contaminación de productos hidrobiológicos frescos que ayudan a la prevención de infecciones como la gastroenteritis (Vasquez *et al.*, 2018) que son transmitidos por el consumo de alimentos marinos, sin embargo, la falta de control, monitoreo sanitario y la escasa difusión de investigaciones sobre la bacteria es aún incierta.

En el Perú se ha reportado el aumento de los diferentes tipos de casos con respecto a los cuadros clínicos de gastroenteritis producidos por esta especie y/u otros patógenos, en las ciudades de Cajamarca, Chiclayo, Piura y Lima durante los climas más cálidos del año.

Actualmente, los productos hidrobiológicos que son extraídos del mar en grandes cantidades a nuestros puertos como Pisco, Pucusana, Puerto Pizarro, Callao, Chimbote entre otros, llegan en gran cantidad al Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, siendo el terminal uno de los lugares con mayor frecuencia por compradores de la zona sur de Lima con el fin de adquirir estos productos marinos para su consumo diario.

Uno de los recursos primordiales que son extraídos por embarcaciones artesanales para el consumo poblacional son los moluscos (Ministerio de la Producción, 2008; Food and Agriculture Organization - FAO, 2010). Los moluscos bivalvos son consumidos de forma cruda o poco cocidos, siendo una especie que favorece las condiciones para el desarrollo de microorganismos, los cuales son causantes de diferentes enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) produciendo diversos malestares diarreicos o diversas enfermedades entéricas (Galán *et al.*, 2008; Sandoval y Saborío, 2008), generando un alto riesgo para la salud de sus consumidores (Pérez *et al.*, 2004; Galán *et al.*, 2008).

La contaminación de los productos hidrobiológicos por microorganismos o algunas toxinas es una preocupación que seguimos enfrentando constantemente debido a los problemas asociados como la inadecuada infraestructura de almacenamiento hacia sus productos, la falta de un programa de higiene y/o sanidad con respecto a su manipulación, procesamiento y almacenamiento por los comercializadores de venta de mariscos y pescados, así como la falta de la intervención, control y supervisión de las entidades responsables de la salud pública, estos son una de las razones principales por el cual se producen las diferentes enfermedades entéricas en productos hidrobiológicos frescos, siendo de mayor relevancia los patógenos asociados a los mariscos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp.*, *Aeromonas spp.*, y especies del género *Vibrio* (Da Silva, 2010; Yücel, 2010).

El objetivo de la investigación fue identificar la presencia del *V. parahaemolyticus* y otros patógenos que se encuentran asociados a *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) expendidos en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo a través de un ensayo microbiológico, con la finalidad de prevenir las infecciones como la gastroenteritis y a la vez promover las buenas prácticas de higiene y de manipulación durante el comercio de productos hidrobiológicos para que reúna las condiciones de inocuidad.

### III. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las especies de *Vibrio* anteriormente han generado diferentes enfermedades de gastroenteritis, causando tres pandemias, ocurridas en los inicios del siglo XIX, sin embargo, se han podido controlar los casos producidos por esta bacteria, pero debido al calentamiento global y a los diferentes eventos de “El Niño” han generado la persistencia y propagación del *Vibrio parahaemolyticus*. Esta especie es autóctona del ambiente marino y es considerado como un indicador para el control de la contaminación de productos hidrobiológicos frescos que ayudan a la prevención de infecciones como la gastroenteritis.

Durante los meses de febrero y marzo del 2009 se reportó un brote de *V. parahaemolyticus* en el norte de nuestro país en las ciudades de Cajamarca, Piura y Lambayeque llegando hasta la región Lima (Gavilán, Martínez-Urtaza, 2011; Aliaga, Miranda, Zevallos, 2010; Gil *et al*, 2007), reportándose el aumento de los diferentes tipos de casos con respecto a los cuadros clínicos de gastroenteritis producidos por esta especie y/u otros patógeno que son transmitidos por el consumo de alimentos marinos (pescados y moluscos).

Por ello se realizó el siguiente trabajo de investigación con el fin de identificar la presencia de *V. parahaemolyticus* y otros patógenos que se encuentran en *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) con la finalidad de realizar un control que se pueda originar sobre un nuevo brote debido a los diferentes eventos de “El Niño” que ocurre en nuestro mar peruano. Asimismo, vigilar las inadecuadas manipulaciones, procesamiento y almacenamiento que se produce por los comercializadores de venta

de mariscos expendidos en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo a través de un ensayo microbiológico.

#### IV. OBJETIVOS

##### 4.1 Objetivo General:

Identificar *Vibrio parahaemolyticus* en *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) comercializados en el terminal pesquero Villa María del Triunfo.

##### 4.2 Objetivos específicos:

1. Cuantificar aerobios mesófilos totales, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en moluscos bivalvos frescos comercializados en el terminal pesquero Villa María del Triunfo, Lima-Perú.
2. Evaluar la resistencia antimicrobiana por difusión en agar de *Vibrio parahaemolyticus* aisladas en moluscos bivalvos comercializados en el terminal pesquero Villa María del Triunfo, Lima-Perú.

## V. MARCO TEÓRICO

### 5.1 Moluscos Bivalvos

A lo largo de los años nuestros antepasados han utilizado estas especies para la elaboración de adornos, joyas y para diversos usos, e incluso ha sido fuente de alimento debido a que contiene proteínas.

Los bivalvos forman parte del grupo de los invertebrados, siendo los moluscos el grupo más diverso después de los gasterópodos, abarcando aproximadamente a veinte mil especies entre almejas, mejillones, ostras, concha de abanicos entre otras (Instituto del Mar del Perú - IMARPE, 2016), son especímenes de gran distribución geográfica, siendo especies bentónicas y sedentarias, habitando en la zona intermareal y en agua de poca profundidad (Márquez, 2017). Su cuerpo está dividido en tres regiones principales que corresponde a la cabeza, pie y masa visceral, tienen un cuerpo comprimido lateralmente y la presencia de una concha calcárea rígida formada por dos valvas, que pueden abrirse y cerrarse mediante un ligamento llamado charnela (figura 1). Los bivalvos Protobranchia que habitan en la zona infra litoral fueron reportadas por primera vez en el mar peruano (Paredes y Cardoso, 2008).

En el Perú aún hay mucho trabajo por realizar con respecto a la identificación y muestreo, debido que la mayoría son colectadas en la zona intermareal. El IMARPE presenta diferentes guías de identificación de especies de bivalvos que son desembarcados en diferentes zonas del litoral peruano y comercializados en distintos puntos de nuestro país, teniendo como finalidad identificar las características morfológicas más relevantes de la especie e informar sobre el hábitat y el rango de distribución geográfica.

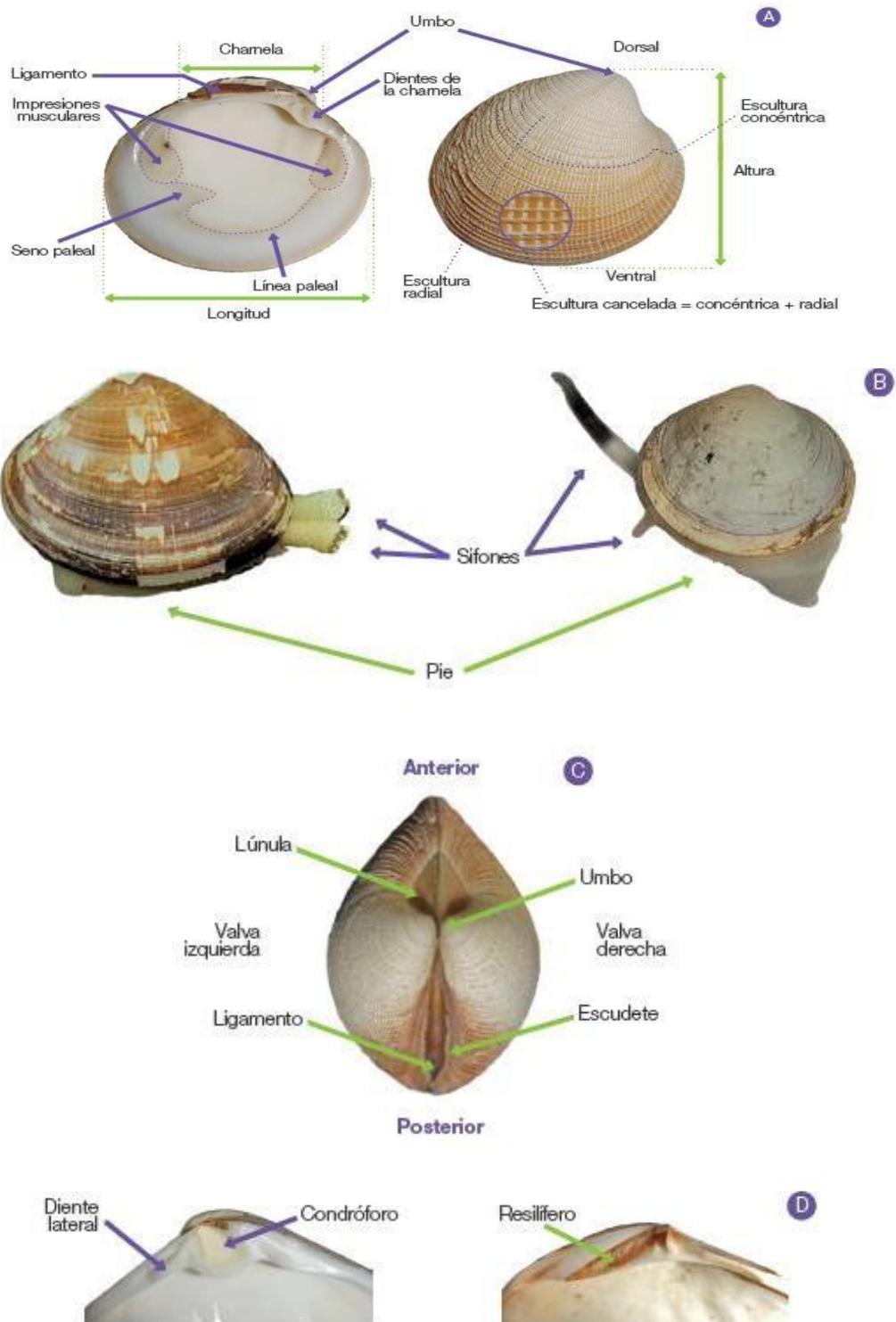


Figura 1: Modelo de bivalvo, identificación de características internas y externas

Nota: (A y B) Vista lateral de las valvas observando sus características externas e internas, sifones y pie muscular. (C) vista dorsal de características externas. (D) Vista interna y dorsal de características internas. Fuente: IMARPE 2016. Guía ilustrada para reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial.

### 5.1.1 *Argopecten purpuratus* “Concha de abanico”

#### Taxonomía:

- Phylum: Mollusca
- Clase: Bivalvos
- Subclase: Pteriomorpha
- Orden: Pectinidae
- Superfamilia: Pectinoidea
- Familia: Pectinidae
- Género: *Argopecten*
- Especie: *Argopecten purpuratus*

Esta especie habita en zonas protegidas como bahías desde la parte intermareal, en fondos blandos como limo, arena, grava, conchuela y/o tubos de poliquetos. Presenta una coloración externa que puede variar de rosado a purpura, con algunas manchas en algunos ejemplares que tienen una coloración anaranjada, concha moderadamente gruesa. No presentan estrías concéntricas elevadas en los espacios intercostales, Presenta 24 a 26 costillas radiales muy notorias, orejas desiguales. En la parte interna tiene una coloración central blanca con manchas de color purpura oscura a los lados. (figura 2). Su talla es de aproximadamente 15 cm, siendo la talla mínima 5,6 cm según la RM 209-2001-PE. (IMARPE 2016.)

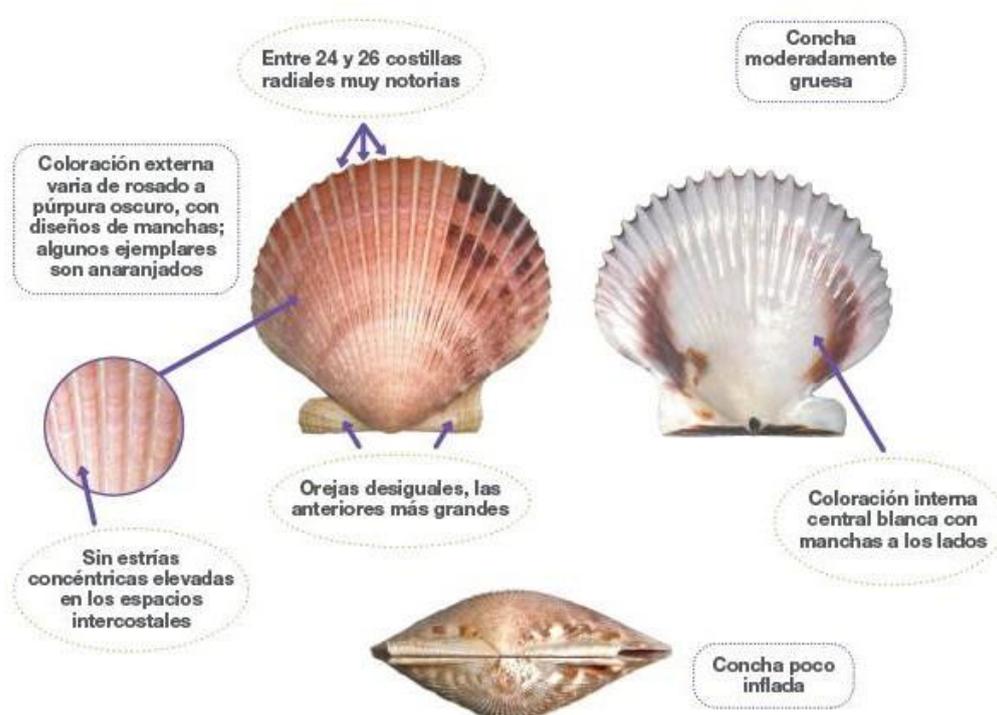


Figura 2: Características externas e internas de *Argopecten purpuratus* (Concha de abanico).

Nota: Fuente: IMARPE 2016. Guía ilustrada para reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial.

## 5.2 Especies comercializadas en el Perú

La actividad pesquera es importante para la economía peruana, debido a que los recursos hidrobiológicos superan los 6 millones de toneladas por millón (TM) de desembarque. El 52% de los recursos destinados para el consumo humano son congelados, conservas o frescos (jurel, pota, caballa, merluza, entre otros), sin embargo, el 75% de especies de crustáceo y moluscos congelados son exportadas (INFOPESCA, 2010).

Los recursos hidrobiológicos destinados para el Consumo Humano Directo (CHD) según Navarro, J. en el 2015 alcanzaron un volumen de aproximadamente 1252,9 miles de TM, siendo los productos

frescos el cual se destinan principalmente al consumo doméstico y su abastecimiento se realiza en la región costera presentando un crecimiento sostenido a lo largo de los últimos años.

En el Perú, las embarcaciones artesanales proveen la mayoría de los recursos hidrobiológicos que se consumen a diario en hogares de ciudades y centros poblados del país. (Vélez-Zuazo, X *et al.* 2020). Los bivalvos son uno de los productos alimenticios más importantes para la industria acuícola y la producción mundial (principalmente ostras, mejillones, almejas y vieiras) con un valor económico de más de \$ 16 mil millones (FishStatJ, FAO).

El Ministerio de la Producción en el 2015 publicó una encuesta sobre los productos de consumo hidrobiológico en el Perú, el cual indica que a nivel nacional durante el 2014 el 63% de los hogares realizaron la compra de mariscos a través de canales de mercado, siendo el 93% los casos correspondidos a mercados mayoristas (terminales pesqueros) y el 34% lo hizo a través de bodegas y supermercados. (figura 3).

Según (Imarpe, 2016) en el Perú se han registrado 370 especies de bivalvos marinos, de los cuales 34 especies tienen valor comercial para fines alimenticios, generando así beneficios económicos importantes en el país. Destacando entre todas las especies con mayor biomasa de desembarques el *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) y *Aulacomya ater* (choro). (tabla 1).

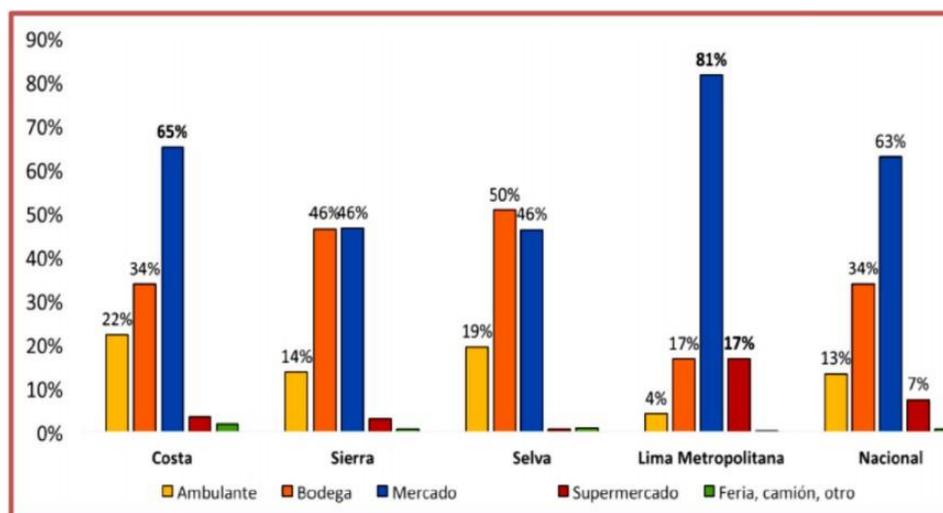


Figura 3. Principales lugares de compra de productos hidrobiológicos para consumo en el hogar- 2014. Fuente: Navarro, J. 2017. Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* "jurel" y *Aulacomya ater* "choro" comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima-Perú.

Tabla 1: Lista de moluscos bivalvos comerciales del mar peruano.

Fuente: IMARPE 2016. Guía ilustrada para reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial.

N°	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	SINÓNIMO
1	Concha huequera, concha de los esteros	<i>Anadara similis</i>	Arcidae	
2	Concha negra	<i>Anadara tuberculosa</i>		
3	Concha pata de burro, concha pata de mula	<i>Anadara grandis</i>		
4	Concha de nácar	<i>Anomia peruviana</i>	Anomiidae	
5	Concha de abanico	<i>Argopecten purpuratus</i>	Pectinidae	
6	Concha de abanico	<i>Argopecten ventricosus</i>		<i>Argopecten circularis</i>
7	Concha lampa	<i>Atrina maura</i>	Pinnidae	
8	Concha lampa	<i>Atrina cf. oldroydii</i>		
9	Choro	<i>Aulacomya atra</i>	Mytilidae	<i>Aulacomya ater</i>

10	Choro zapato	<i>Choromytilus chorus</i>		
11	Almeja, concha	<i>Chionopsis amathusia</i>	Veneridae	<i>Chione amathusia</i>
12	Palabritas, concha mariposa	<i>Donax asper</i>	Donacidae	
13	Palabritas, merucha, concha mariposa	<i>Donax aobesulus</i>	Donacidae	<i>Donax marincovichi, Donax peruvianus</i>
14	Navaja	<i>Ensis macha</i>	Pharidae	
15	Almeja, concha blanca	<i>Gari solida</i>	Psammobiidae	
16	Mejillón	<i>Glycymeris ovata</i>	Glycymeridae	
17	Concha rayada, concha de los bajos	<i>Ilioichione subrugosa</i>		<i>Chione subrugosa, Chione broggi</i>
18	Taca	<i>Leukoma antiqua</i>	Veneridae	<i>Venus antiqua</i>
19	Almeja, mejillón de altura, taca, raza	<i>Leukoma thaca</i>		<i>Protothaca thaca</i>
20	Almeja, concha	<i>Mactrotoma velata</i>	Mactridae	<i>Mactra velata</i>
21	Macha	<i>Mesodesma donacium</i>	Mesodesmatidae	
22	Mejillón del norte	<i>Mytella guyanensis</i>	Mytiidae	
23	Mejillón caballo, choro	<i>Modiolus capax</i>		
24	Concha perla	<i>Pinctada mazatlanica</i>	Pteriidae	
25	Concha perla	<i>Pteria sterna</i>		
26	Almeja	<i>Semele corrugata</i>	Semelidae	
27	Almeja, concha blanca	<i>Semele solida</i>		
28	Concha espinosa	<i>Spondylus crassisquama</i>	Spondylidae	<i>Spondylus princeps</i>
29	Ostión	<i>Spondylus limbatus</i>		<i>Spondylus calcifer</i>
30	Ostra, ostión	<i>Striostrea prismatica</i>	Ostreidae	<i>Ostrea iridescens</i>
31	Navajuela, chaveta, pico de pato, lapicero	<i>Tagelus dombeii</i>	Solecurtidae	
32	Concha blanca, piojosa	<i>Tivela lessoni</i>	Veneridae	<i>Tivela hians</i>
33	Concha corazón, concha pata de burro	<i>Trachycardium procerum</i>	Cardiidae	
34	Concha pintada, vongole, piojosa	<i>Transennella pannosa</i>	Veneridae	

### 5.3 Familia Vibrionaceae

#### 5.3.1 Generalidades

La familia Vibrionaceae está constituido por bacilos gramnegativos móviles o inmóviles y clasifican en tres géneros de mucho interés clínico: *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*, estas especies se pueden diferenciar en dos grupos las especies halotolerantes, es decir que son capaces de crecer en agua de peptona, pero sin la adición de NaCl y especie halófilas aquellas que son incapaces de crecer en ausencia de sal marina (Garcia, I. sn).

Algunos de estos microorganismos suelen ser consumidos o ingeridos a través de productos del mar dentro de ellos podemos encontrar al género *Vibrio*. Letchumana V, *et al.* (2019) indica que las especies más patógenas para el ser humano son el *V. cholerae*, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus*.

El *Vibrio* está compuesto por microorganismos que habitan de forma natural en los ecosistemas marinos y fluviales, tiene alrededor de 142 especies de origen marino, es una bacteria gramnegativa que presenta una forma de bastoncillos, el cual fue descrito por primera vez por el médico italiano Filippo Pacini en 1854 el cual indicaba que esta enfermedad gastroenteritis podría ser contagiosa siendo ignorada por muchos investigadores, luego de 30 años aproximadamente Robert Koch logró a aislar el *Vibrio* de cultivo puro en Calcuta, India; generando así una importancia social y de salud pública (Letchumana V, *et al.* 2019).

### 5.3.2 *Vibrio parahaemolyticus*

El *V. parahaemolyticus* es un bacilo gramnegativo halófilo marino que crece en temperaturas entre 15-43 °C siendo su temperatura ideal el de 37 °C (Silva, 2007), descubierto en el año 1950 (Letchumana V, *et al.* 2019) habita en las costas y estuarios.

La presencia de este patógeno puede conllevar a diferentes cuadros clínicos de gastroenteritis aguda, presentando los síntomas de calambres abdominales, náuseas, dolor de cabeza y fiebre, debido al

consumo de pescado, mariscos, ostras, camarones y moluscos crudos y/o frescos, generando una complicación en la enfermedad como la septicemia primaria que consiste en el ingreso del patógeno al torrente sanguíneo a través de la vena porta o del sistema linfático intestinal produciendo así la muerte del ser humano o animales (Montero, 2015) o incluso puede causar la famosa vibriosis (Terrones, J y Silva L. 2019; Letchumana V, *et al.* 2019).

Actualmente los casos de infección van en aumento, lo cual se deberían de realizar y mantener una vigilancia adecuada de este patógeno, es por ello que hoy en día se están utilizando herramientas de epidemiología molecular como es el caso del esquema de tipificación multilocus (MLST, por sus siglas en inglés) a base de diferenciaciones moleculares de las cepas.

Cada año la multirresistencia (MDR) del patógeno frente a los diferente antibióticos es un problema de salud pública, debido a que están desarrollando resistencia a la mayoría de los antibióticos de uso clínico, es por ello que diferentes países están realizando una continua vigilancia y seguimiento, debido a que el 90% de las bacterias aisladas de origen marino muestran resistencia a más de un tipo de antibiótico, siendo el 20% de estos patógenos que resisten a cinco tipos de antibióticos, esto se debe que la mayoría de las aguas residuales o los cultivos de acuicultura usan algún tipo de fármaco (antibiótico) para el manejo de sus cultivos (figura 4).

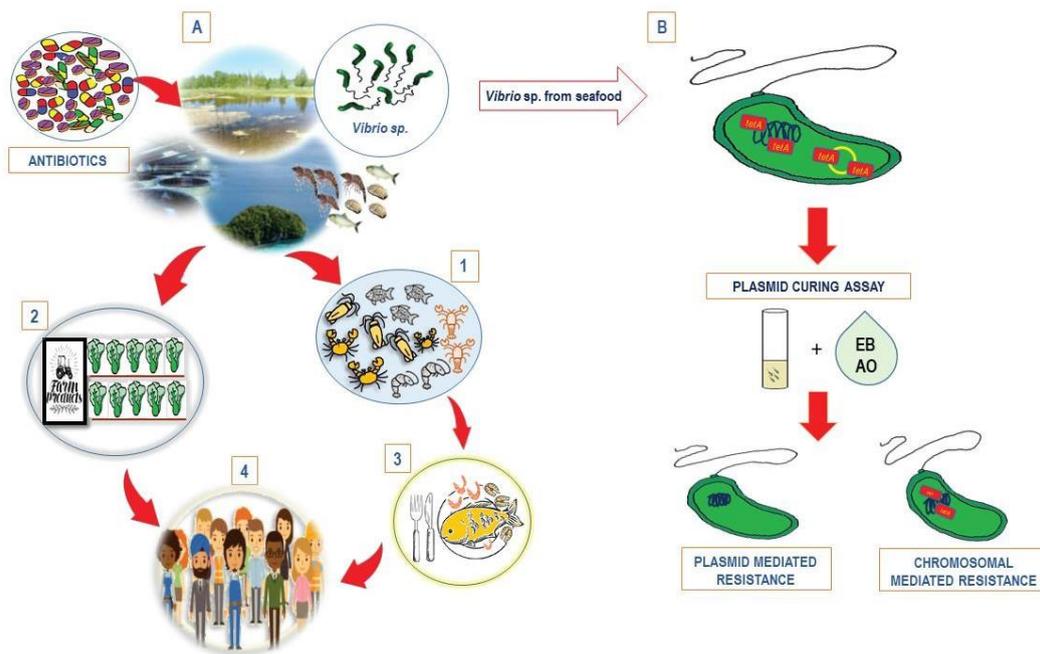


Figura 4: Ilustración de *Vibrio parahaemolyticus* transmisión a humanos y ensayo de curado de plásmidos. Fuente: Letchumana V, et al. 2019. *Vibrio parahaemolyticus*: The Protagonist Causing Foogborne Diseases. Prog Microbes Mol Biol 2(1).

## 5.4 Situación Internacional y Nacional de *Vibrio parahaemolyticus*

### 5.4.1 Situación Internacional

*Vibrio parahaemolyticus* fue identificado y aislado por primera vez en el continente asiático en Japón entre los años 1951 y 1953, siendo los responsables del 30% aproximadamente de los casos de infección alimentaria en ese país y en otros países asiáticos. (Terrones, J y Silva L. 2019; Caro-Castro, 2020; Letchumana V, et al. 2019), estos reportes se deben a que en estos lugares asiáticos tienen el hábito de comer mariscos crudos o poco cocinados como es el sushi, sashimi, erizos de mar, entre otros.

Sin embargo, otros autores indican que el porcentaje de aislamiento de las cepas fueron variando como es el caso de Malasia en donde se obtuvo el 16.2% del *Vibrio* en pescados provenientes de diferentes mercados (Tan CW, *et al.* 2017), en el caso de Estados Unidos en donde se detectó el 21.8% causando 34 mil casos aproximadamente de infección por la bacteria (Depaola A, *et al.* 2003; Letchumana V, *et al.* 2019) o en el caso de Brasil en donde se detectó un 28,5% en los mejillones. (Pereira CS, *et al.* 2007).

En algunos estudios por Chen *et al.*, 2007 en Estados Unidos se dio la ausencia de cepas virulentas en las muestras de ostras, por el cual se realizó un seguimiento durante un periodo de 10 meses. Sin embargo, Berutti y colaboradores evidenciaron un aumento en el aislamiento de las cepas provenientes de diferentes ambientes ecosistémicos durante la evaluación de 3 años. Otros autores demostraron que en el país de Japón se evidenciaron la presencia e incremento de *V. parahaemolyticus* en los meses más fríos del año (septiembre- enero) en las muestras de pescados y moluscos.

Según Letchumana V, *et al.* 2019, publicaron datos de los diversos brotes que han surgido en los diferentes países desarrollados y no desarrollados, los datos siendo analizados por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) en la Red de Vigilancia Activa de Enfermedades Transmitidas por alimentos (FoodNet) y el Informe Semanal de Morbilidad y Mortalidad.

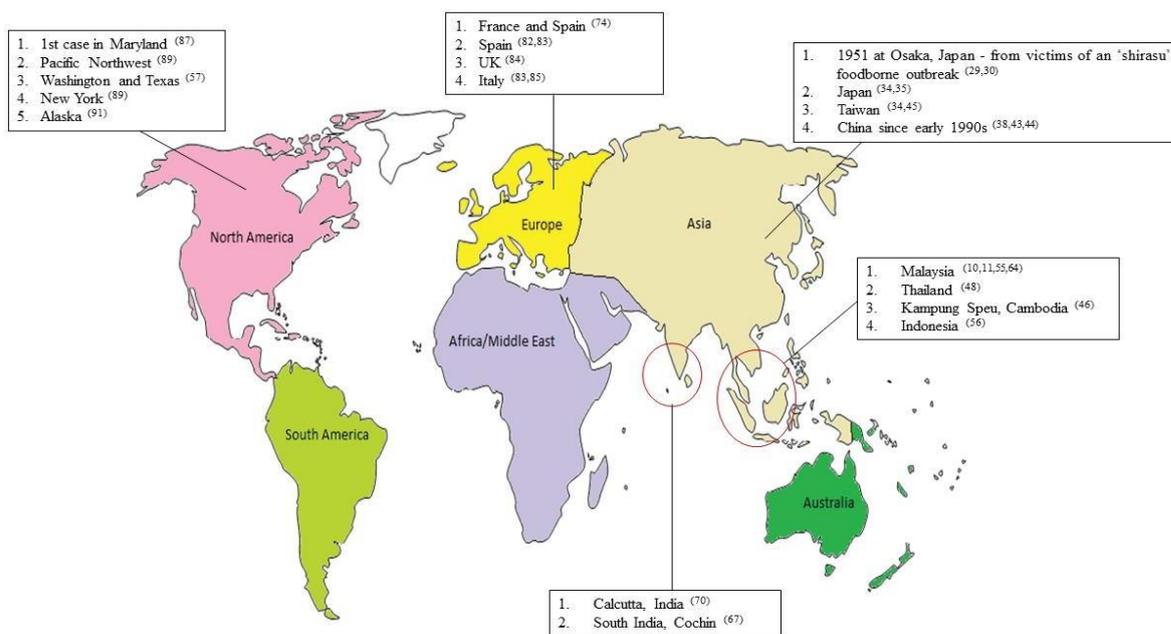


Figura 5: Ilustración de *V. parahaemolyticus* epidemiología en todo el mundo. Nota: El primer caso identificado fue en Osaka, Japón en 1951 y es así como se llegan a extender a toda la región de Asia, Australia, Europa y los Estados Unidos. Fuente: Letchumana V, *et al.* 2019. *Vibrio parahaemolyticus*: The Protagonist Causing Foodborne Diseases. *Prog Microbes Mol Biol* 2(1).

#### 5.4.2 Situación en el Perú

La primera situación de *V. parahaemolyticus* se originó en el año 1996 en la ciudad de Trujillo y en el año 1998 se dio el primer brote en la ciudad de Lima. (Terrones, J y Silva L. 2019). Algunos autores indican que en 1997 se registraron brotes los cuales estuvieron asociados al cambio climático debido al evento de El Niño, alterando las condiciones ecológicas como es el caso de la tasa de abundancia del plancton (Caro-Castro, 2020).

En el Perú se ha reportado el aumento de los diferentes tipos de casos con respecto a los cuadros clínicos de gastroenteritis producidos por esta especie, en las ciudades de Cajamarca, Chiclayo, Piura y Lima

durante los climas más cálidos del año, en diversas investigaciones se ha encontrado la presencia del *Vibrio* y/u otros patógenos, en el cual indican que esta presencia se da en temporadas cálidas.

## 5.5. Otros microorganismos asociados a enfermedades de productos hidrobiológicos

### 5.5.1 *Staphylococcus aureus*

Este es un patógeno del ser humano que puede ocasionar diversas infecciones tanto en individuos sanos como inmunodeficientes, colonizando incluso las fosas nasales y la piel. Este patógeno llega a resistir al antibiótico de la penicilina y oxacilina.

### 5.5.2 *Escherichia coli*

Son habitantes comunes en el tracto gastrointestinal, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, son bacterias gramnegativas de forma de un bacilo, son aerobias y anaerobias facultativas. Este patógeno es una de más conocidas debido a que son indicadores de contaminación con origen fecal y la presencia de patógenos presentes en el agua.

## 5.6. Mercado Mayorista Pesquero de Villa María del Triunfo

Según el artículo 38o del Decreto Supremo N° 040-2001-PE (EZETA 2016), se denominan mercados mayoristas pesqueros a las instalaciones especialmente diseñadas, construidas y operadas para realizar exclusivamente la recepción, acopio, almacenamiento, distribución y venta de productos hidrobiológicos de mayorista a minorista.

El abastecimiento de recursos hidrobiológicos frescos en grandes cantidades se da principalmente en 2 terminales pesqueros: Villa María del Triunfo y Ventanilla, localizados en la zona sur y norte de la región lima respectivamente.

Ezeta C. 2016, indica que el mercado mayorista pesquero de Villa María del Triunfo, cuenta con un área aproximada de 11 338.8 m<sup>2</sup> y está construido de material de concreto, presenta una zona accesible y alejada de focos de contaminación ambiental e inundaciones, es por esa vía en donde se permite el acceso al suministro de agua potable y la eliminación adecuada de sus residuos sólidos y líquidos.

El terminal pesquero de Villa María cuenta con 7 cámaras para congelados con una capacidad conjunta de 700 toneladas por millón (TM), así como 3 cámaras de almacenamiento de productos frescos con una capacidad de 140 TM, cumpliendo cada una de estas cámaras funciones específicas dependiendo de la temperatura en el cual se encuentran (INFOPECSA, 2010) (Ezeta, C. 2016).

El mercado mayorista pesquero de Villa María del Triunfo cuenta con tres puertas de acceso siendo la puerta principal ubicada en la avenida María Parado de Bellido donde ingresan los camiones con recursos hidrobiológicos para realizar el pesado de los recursos, para ello cuenta con una balanza con una capacidad máxima de 80 000 kg y una capacidad mínima de 200 kg (INFOPECSA, 2010) (Ezeta, C. 2016). Las otras dos puertas de acceso se encuentran ubicadas en la avenida Pachacútec, el cual permite el ingreso y salida peatonal; así como, de las carretillas de algunos ambulantes para el transporte de algunas muestras hidrobiológicas.

Con respecto a su infraestructura del mercado mayorista pesquero de Villa María del Triunfo tienen las paredes revestidas de mayólica y pintura lavable, pisos de concreto con canaletas para el drenaje de

agua con cierta pendiente para su fácil limpieza (Ezeta, C. 2016). Existen 68 puestos de ventas que se dedican a la comercialización de mariscos (Ezeta, C. 2016), que son provenientes de los puertos de Pisco, Pucusana, Puerto Pizarro, Callao y otros, y estos productos son exhibidos en mesas de acero inoxidable, en cajas o jabs de plástico, sin embargo, son traídos a través de costales (bolsas de arroz).

Los compradores de los productos hidrobiológicos son minoristas como también asisten público en general que viven en zonas aledañas como San Juan de Miraflores, Chorrillos, Villa el Salvador, Villa María del Triunfo, Lurín, Pachacamac y otros distritos costeros.

## VI. ANTECEDENTES

Terrones, J & Silva L. 2019. Frecuencia de pescados y moluscos bivalvos con *Vibrio parahaemolyticus* virulento que se expende en el Mercado Mayorista de Productos Hidrobiológicos (Trujillo-Perú), 2018.

Obtuvieron 205 muestras de pescados y moluscos bivalvos durante los meses de agosto a octubre con el fin de determinación de *V. parahaemolyticus*. La presencia del patógeno se evaluó mediante la producción de ureasa y la capacidad hemolítica en agar Wagatsuma. Pesaron 25 g de contenido interno de molusco y se colocaron en 225 mL agua de peptona alcalina bufferada con un pH 8,5, estéril al 3% de NaCl y se incubó a 37 °C durante 12 horas, posteriormente se obtuvo una asada de la superficie de la solución, lo sembraron por estrías en agar Tiosulfato-Citrato-Bilis Sacarosa (TCBS) y se volvió a incubó a 37 °C durante 18 h.

Cada uno de los cultivos fueron identificados fenotípicamente mediante las pruebas de fermentación de carbohidratos, descarboxilación de la lisina, catalasa, oxidasa, indol, movilidad, entre otros. Se aislaron colonias redondas de 2 a 3 mm de diámetro y con centro verde azulado, posteriormente se transfirieron a Agar de Trypticosa Soja con 1% de NaCl e

incubando a 24 horas. Todas las especies presentaron gran porcentaje de presencia de *Vibrio parahaemolyticus*, sin embargo, la especie que tuvo ausencia de este patógeno fue *Trachurus murphyi*.

Vásquez, J. *et al.* 2018. Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco.

Recolectaron 49 muestras entre pescados y mariscos en cuatro mercados de la ciudad de Huánuco: Mercado Modelo, Mercado de Paucarbamba, Mercado Central, Mercado Las Moras y Mercado Pillcomarca, siguiendo la Norma Técnica Peruana NTP ISP 2859-1 (INDECOPI, 1999), todas las muestras fueron procesadas mediante el Manual de Bacteriología Analítica de la Food and Drug Administration (FDA) y según los indicadores Microbiológicos para Productos Pesqueros y Acuícolas de SANIPES. Pesaron aproximadamente 10 g de la muestra y mezclaron con 90 mL de agua peptonada al 0,1%, posteriormente transfirieron en un matraz estéril y lo dejaron reposando por 5 minutos, luego tomaron 1mL de esta dilución y lo transfirieron a un tubo contenido de 9 mL de agua peptonada al 0,1%.

En conclusión, observaron que la mayoría de los comerciantes no presentan una cámara en frío para expender el pescado o mariscos y tampoco lo protegen. Las UFC/g de *E. coli* y *S. aureus* están por encima de los niveles permitidos en la Norma Técnica, esto se debe a que el 14% de los vendedores solo contaban con uniforme completo y limpio y el 26% contaba con los equipos y utensilios en buen estado y limpios.

Hermenejildo, J & Pérez R. 2017. Evaluación de la calidad microbiológica y los niveles de Metabisulfito de sodio en camarones expedidos en el mercado Caraguay Guayaquil-Ecuador.

Realizaron el monitoreo durante los meses de enero, febrero y marzo para determinar los niveles de Metabisulfito de sodio en los camarones, el cual utilizaron tres modalidades, entero, descabezado y pelado. Con respecto al estudio microbiológico, los patógenos de *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli* no mostró presencia en el recurso de camarones, sin embargo los aerobios mesófilos si tuvieron una presencia en las tres modalidades: entero  $18 \times 10^7$  UFC, descabezado  $84 \times 10^6$  y pelado con  $14 \times 10^7$ ; por lo tanto estas muestras no cumplían con la NORMA ECUATORIANA INEN 456 198011 LANGOSTINOS Y CAMARONES CONGELADOS, llegando a la conclusión que la contaminación se produce por la inadecuada manipulación del vendedor hacia el producto.

Navarro J. 2017. Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* "jurel" y *Aulacomya ater* "choro" comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima-Perú.

Las muestras fueron obtenidas de los mercados de dos distritos de Lima (San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres) en donde escogió de forma aleatoria 15 mercados, y por cada mercado seleccionó dos puestos al azar. De cada puesto se colectaron 2 especímenes (1 de jurel y 1 de caballa) llegando con un total de 120 muestras (60 especímenes de pescado "jurel" y 60 especímenes de moluscos bivalvos "choro") con un peso menor a 120 g. Para ambas muestras aplicaron la metodología descrita en el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), con el fin de analizar *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*; y se usó la metodología de IMSF (2000 a y b) para el recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos y *Staphylococcus aureus*.

Todos los resultados obtenidos se analizaron utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20.0. Utilizó la prueba de estimación de Riesgo para la determinación de las

condiciones higiénico-sanitarias eran factores de riesgo para la presencia de microorganismos en las muestras de jurel y choro. Determinó que el 56% del total de las muestras de “jurel” y “choro” analizados fueron categorizados “No aptas” microbiológicamente para el consumo humano, correspondiendo el 62% de las muestras del distrito de San Juan de Lurigancho y el 50% del distrito San Martín de Porres. Además, se observó que el 17% de las muestras de “jurel” y el 63% de las muestras de “choro” superan los límites máximos permitidos establecidos para *E. coli*, no se detectaron la presencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*.

Orozco, R. *et al.* 2017. 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.

Durante los meses de febrero del 2010 y mayo del 2014 realizaron un total de 38 evaluaciones (22) en Pisco y (16) en Sechura, todas las muestras de agua y plancton fueron recolectadas en frascos estériles, para el aislamiento de *Vibrio* se realizó mediante el enriquecimiento sembrando volúmenes iguales de Agua Pectonada Alcalina (APA) 2X (pH 8.5) y agua de mar, posteriormente se incubaron a 30 °C por 18-24 horas, luego se sembró por el método de estriado en placas con Agar TCBS, luego se seleccionó de cada placa una colonia sacarosa positiva y/o sacarosa negativa que se asegure la pureza de las cepas características de las especies de *Vibrio*. Se realizó la identificación bioquímica tradicional según Llop *et al.* (2001) (sacarosa, oxidasa, Lisina, ornitina, lactosa, indol, manitol, Cloruro de Sodio al 0, 1, 6, 7 y 10%).

Para la identificación utilizando el sistema API(R)20 NE Microbial Identification Kit, siguiendo el procedimiento indicado por el fabricante Biomérieux S. A. 2009/11 y el software API WEB. Las especies de *Vibrio* patógenas detectadas en las muestras fueron *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. merschmikovii* tanto en la bahía de Pisco y Piura, pero *V. mimicus* solo se encontró en Sechura.

Ezeta, C. 2016. Análisis de la comercialización de los principales recursos hidrobiológicos en el mercado Mayorista Pesquero de Villa María del Triunfo durante 2000-2013.

Indica que el comercio anual es de 49 1009 Toneladas por mercancía (TM) de recursos hidrobiológicos al estado fresco/refrigerado representando un total del 14% de los desembarques. Las especies que presentan una mayor comercialización son el jurel *Trachurus murphyi*, la pota *Dosidicus gigas*, la concha negra *Anadara tuberculosa* es una de los principales mariscos que presenta alto precio en sus ventas. El mercado pesquero de Villa María del Triunfo (VMT) hace más de 10 años cuenta con 144 y 266 agentes mayoristas y minoristas respectivamente que son comercializadores de productos hidrobiológicos.

Montero, E. 2015. Análisis microbiológico de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos bivalvos crudos que se expenden en el mercado Municipal Pedro Pablo Gómez.

Se evaluaron 25 muestras de moluscos bivalvos frescos expendidos en 5 puestos de mercado Pedro Pablo Gómez, el cual utilizaron el método Compact Dry durante los meses de febrero hasta marzo del 2015. Midieron 10 mL de la muestra y lo homogeneizaron con 90mL de agua peptonada alcalina, posteriormente fueron colocadas en las placas Compact Dry el cual fueron aprobadas por la AOAC, hasta una difusión homogénea por toda la superficie de la placa, posteriormente se incubaron a 35 °C por 18 a 24 horas, el crecimiento de colonias azules-verdosas son característicos para *V. parahaemolyticus*, el 80% de las muestras dieron positivas para el patógeno.

Llegaron a la conclusión que los locales del mercado no cumplían con las reglas requeridas para la conservación del producto marino, considerando las muestras analizadas no aptas para el consumo humano.

Aliaga R, Miranda J & Zevallos J. 2010. Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú.

Analizaron 254 muestras (120 pescados y 134 moluscos bivalvos) durante los meses de enero y febrero del 2009 en donde la temperatura promedio en el litoral peruano fue de 19,85 °C en el terminal pesquero de Ventanilla, Callao. Para el aislamiento de *V. parahaemolyticus* utilizaron el protocolo descrito por Yukiko Harakudo *et al*, 2003; en donde realizaron el enriquecimiento, la siembra cromogénico, evaluando la fermentación de la glucosa y la prueba de tolerancia de sales. Los datos fueron tipificados en una hoja de cálculo del Programa Microsoft EXCEL 2003 y analizados con el paquete estadístico Epi Info (versión 6,04 b).

Se identificaron las 17 cepas de *V. parahaemolyticus* procedentes de 9 pescados y 6 moluscos bivalvos el cual fueron serotificadas usando anticuerpos monoclonales y se evaluaron su potencial patógeno mediante el medio Wagatsuma. Tres de estas cepas presentaron fenómeno de Kanagawa positivo indicando la producción de la hemolisina termoestable directa (TDH).

Dueñas, T. 2008. Recuento de *Vibrio parahaemolyticus* kanagawa positivo en especies marinas consumo en Lima Metropolitana y Callao.

Analizaron 50 muestras de pescados, moluscos y crustáceos frescos procedentes de los terminales pesqueros de Villa María del Triunfo y de Ventanilla, muelles de Pescadores de Chorrillos y Callao y los supermercados de Lima Metropolitana recolectadas durante los meses de noviembre de 1999 hasta abril de 2000 el trabajo se realizó en las instalaciones del Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación en Bacteriología Alimentaria (CLEIBA) y la colaboración de la unidad de Servicios Asistencial de Análisis Clínicos (SAAC) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Para el análisis metodológico utilizaron el Manual Bacteriológico Analítico (BAM, 7 ed.). Dieron positivo en 4 muestras aislándose 5 cepas por medio de características bioquímicas, las

especies que presentaron mayor cantidad de *V. parahaemolyticus* fueron los peces y crustáceos a diferencia de los moluscos.

Carbajal, M *et al.* 2003. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado Mayorista pesquero de Ventanilla- Perú.

Se analizaron 35 muestras durante 5 semanas consecutivas entre los meses de febrero, marzo y abril del 2001, las muestras fueron analizadas para la detección de *Salmonella*, número de coliformes fecales y *Escherichia coli* descrita por la Federal Drug Administration (FDA), *Vibrio cholerae* O1 y O139 descrita por la Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) y *Listeria monocytogenes* descrita por el United State Department of Agriculture (USDA).

En conclusión, identificaron *Salmonella* en dos muestras de *Cancer spp* (cangrejo) y *Trachurus picturus murphyi* (jurel), superando así los límites máximos permisibles para estos productos.

## VII. HIPÓTESIS

### Hipótesis General

Si hay presencia de *Vibrio parahaemolyticus* y sobrepasan los límites de los criterios microbiológicos causantes de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA'S) en las muestras analizadas de bivalvos frescos, comercializadas en el terminal pesquero de Villa María del Triunfo, entonces el producto es rechazado por incumplimiento de las normas sanitarias y se tendría un indicador de alerta sanitaria con el fin de tomar medidas correctivas mediante los Programas de Buenas Prácticas.

### Hipótesis Específicos

H.E 1. Si excede los límites máximos permitidos por los criterios microbiológicos para aerobios mesófilos totales, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en las muestras analizadas de bivalvos frescos entonces el producto es rechazado por incumplimiento de las normas sanitarias, por lo cual existiría un manejo inadecuado en la cadena alimentaria primaria por parte del pescador, comerciante mayorista, minorista y transporte inadecuado.

H.E 2. Si la medición de los halos de inhibición a la prueba de sensibilidad antimicrobiana de *Vibrio parahaemolyticus* excede el límite al antibiótico control entonces es considerado resistente.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1 Lugar de ejecución

La presente investigación del análisis de la presencia y su resistencia antimicrobiana de *Vibrio parahaemolyticus* y el conteo de otros agentes patógenos como aerobios mesófilos totales, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, se llevó a cabo con el apoyo del Grupo de Investigación en Microbiología, Inocuidad Alimentaria y Protección de Alimentos del ICCCIA-URP, el Laboratorio de Microbiología Aplicada y Laboratorio de Parasitología (LA79) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma (URP) en la Av. Benavides N°5440, Santiago de Surco.

### 8.2 Tipos y diseños de investigación

El diseño de estudio fue experimental de tipo descriptivo y observacional.

### 8.3 Variables

- ❖ Identificación de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos bivalvos frescos.
- ❖ Cuantificar aerobios mesófilos totales, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en moluscos bivalvos frescos.
- ❖ Evaluar la resistencia antimicrobiana mediante el método de difusión en agar de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos bivalvos frescos.

## 8.4 Operacionalización de las variables

Tabla 2: Operaciones de variables

Variable	Indicadores	Escala de medida	Instrumento	Categorización de la variable
Cuantificación de aerobios, mesófilos totales, coliformes totales, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	Cuantificación	UFC/mL	Método AOAC 2014.05 / 3M Método AOAC 991.14/3M Método AOAC 2003.08 / 3M	Cuantitativo / Discreto
Presencia y resistencia antimicrobiana de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Presencia o ausencia y resistencia antimicrobiana de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Presencia/100mL  Sensible  Intermedio  Resistente	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en Agar	Cuantitativo/Discreto    Cualitativo nominal

## 8.5 Muestreo

Las tomas de muestras se realizaron en 7 puestos de venta de moluscos bivalvos *Argopecten purpuratus* seleccionados al azar en el terminal pesquero de Villa María del Triunfo, ubicado entre las avenidas Pachacútec y María Parado de Bellido en el distrito de Villa María del Triunfo, de la ciudad de Lima, Perú -teniendo las siguientes coordenadas 12°10'24.2" S 76°56'52.0" W-en cada puesto de venta se tomaron 7 muestras en bolsa ziploc (cada unidad muestral estaba constituido por 5 moluscos). Se recolectaron un total 50 muestras de conchas de abanico, las valvas estaban completamente cerradas con el fin de evitar una contaminación cruzada y que no presente signos de descomposición.

## 8.6 Procedimiento y análisis de datos

### 8.6.1 Procedimientos para recolección de datos

#### **A. Área de estudio**

Las muestras fueron obtenidas del Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, el cual está ubicado en la avenida Pachacútec N° 2901- Villa María del Triunfo- V.M.T., provincia de Lima, departamento de Lima, Perú. (figura 6).

#### **B. Toma de muestra**

Se seleccionaron siete (7) puestos al azar de venta de *Argopecten purpuratus*, (figura 7) en cada uno de ellos se recolectaron 7 muestras divididos en 5 individuos en cada bolsa ziploc (50 g aproximadamente en cada bolsa), obteniendo un total de 50 muestras de moluscos bivalvos. (figura 8) (tabla 3).

Tabla 3: Toma de muestras de *Argopecten purpuratus*

<b>N° muestras</b>	<b>N° de puesto</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Código de sub-muestra</b>
1	1	Pisco	P1.1
2	1	Pisco	P1.2
3	1	Pisco	P1.3
4	1	Pisco	P1.4
5	1	Pisco	P1.5
6	1	Pisco	P1.6
7	1	Pisco	P1.7
8	1	Pisco	P1.8
9	2	Pisco	P2.1
10	2	Pisco	P2.2
11	2	Pisco	P2.3
12	2	Pisco	P2.4
13	2	Pisco	P2.5
14	2	Pisco	P2.6
15	2	Pisco	P2.7
16	3	Casma	P3.1
17	3	Casma	P3.2
18	3	Casma	P3.3
19	3	Casma	P3.4
20	3	Casma	P3.5
21	3	Casma	P3.6
22	3	Casma	P3.7
23	4	Callao	P4.1
24	4	Callao	P4.2
25	4	Callao	P4.3
26	4	Callao	P4.4
27	4	Callao	P4.5
28	4	Callao	P4.6
29	4	Callao	P4.7
30	5	Pisco	P5.1
31	5	Pisco	P5.2
32	5	Pisco	P5.3
33	5	Pisco	P5.4
34	5	Pisco	P5.5
35	5	Pisco	P5.6
36	5	Pisco	P5.7
37	6	Pisco	P6.1
38	6	Pisco	P6.2
39	6	Pisco	P6.3
40	6	Pisco	P6.4
41	6	Pisco	P6.5
42	6	Pisco	P6.6

43	6	Pisco	P6.7
44	7	Pisco	P7.1
45	7	Pisco	P7.2
46	7	Pisco	P7.3
47	7	Pisco	P7.4
48	7	Pisco	P7.5
49	7	Pisco	P7.6
50	7	Pisco	P7.7

Las muestras fueron tomadas guiándome según el protocolo Procedimiento Técnico Sanitario para el muestreo y envío al laboratorio de Recursos Hidrobiológicos para el diagnóstico de enfermedades (SANIPES, Resolución N° 2020-SANIPES-PE), es decir que todo el procedimiento de las tomas de muestra fue de forma aséptica, empleando la indumentaria necesaria como el mandil protector, la cofia para el cabello, la mascarilla naso- bucal y guantes. Cada una de las tomas de muestras de cada uno de los puestos de ventas se realizaron en bolsa ziploc o de polietileno con cierre hermético, colocándose una etiqueta con la información requerida del producto (nombre del producto, número de puesto, nombre del propietario del puesto, fecha y hora de muestreo).

Posteriormente estas muestras se colocaron en una caja térmica (cooler), desinfectado previamente con alcohol al 70%, el cual contenía un sistema de refrigeración mediante las bolsas de hielo de gel con una temperatura de 4 a 8 °C en su interior dispuestos en la base y por encima de la muestra. El cooler con las muestras fueron transportadas en un lapso de 2 horas hasta el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, donde se realizó los análisis microbiológicos.

#### 8.6.2 Procedimientos para el procesamiento de las muestras

Para el procesamiento de las muestras se utilizó el Manual de DIGESA, 2011, en la cual, se toma como referencia el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y

Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N°007.98-SA y la Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano, aprobado por la Norma Técnica Salud N°071- MINS/DIGESA.V.01. y con la clasificación y planes de muestreo de la International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)

### **C. 1. Identificación de *Vibrio parahaemolyticus***

El método empleado para la detección e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos según el protocolo del Instituto Nacional de Salud, 2016; tuvo las siguientes etapas: Pre enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, elaboración de un cepario y pruebas bioquímicas.

#### **1. Pre- enriquecimiento**

De las muestras recolectadas se pesó en una bolsa ziploc estéril 25 g del contenido interno de los moluscos, luego se vertió 225 mL de peptona alcalina (APA) bufferada (pH 8,5) estéril al 1% de NaCl y se comenzó a homogenizar la muestra de forma manual. Seguidamente se dejó reposar por 60 minutos a temperatura ambiente con la tapa perfectamente cerrada. (figura 9).

#### **2. Aislamiento en Agar TCBS**

Pasado los minutos de reposo, se transfirió con ayuda de un asa de siembra del cultivo de pre enriquecimiento, sembrándolo por estrías en agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), finalmente se incubaron a 37 °C por 18h, con la finalidad de aislar las bacterias.

#### **3. Elaboración de un cepario- crio preservación**

Pasando el tiempo de incubación se procedió a aislar las 33 colonias seleccionadas redondas con centro verde azulado característicos de *Vibrio parahaemolyticus*, (figura 10) mediante una crio preservación, las cepas pre seleccionas se preservaron en caldo BHI con 20% de glicerina, con la finalidad de mantener las cepas, realizar las pruebas bioquímicas, mantener las cepas que contengan el *Vibrio parahaemolyticus* y realizar futuras investigaciones con las cepas seleccionadas.

Para ello, se preparó 360mL de caldo BHI en un vaso precipitado de 500mL al cual se le agrego 24mL de glicerina, se homogenizo y autoclave a 121 °C por 15 min posteriormente esterilicé el área de trabajo con alcohol de 96° y algodón y luego se distribuyó 3mL de la mezcla en tubos (viales), procedí a rotular los tubos con los códigos correspondientes a cada cepa de interés.

Luego se esterilizo el asa bacteriológica, frente al mechero estaban las muestras de TCBS seleccionadas, se introdujo el asa en la placa de agar TCBS y se extrajo una pequeña porción de la cepa para ser inoculado en el tubo que contenía el caldo BHI y glicerina, procedí a homogenizar. Dicho procedimiento lo repetí para todas las cepas seleccionadas, para luego ser trasladadas a la estufa a 37° por 24h para su crecimiento. Finalmente, de haber pasado el tiempo correspondido, los tubos con caldo BHI y glicerina fueron llevados a refrigeración a -20°C para su preservación.

#### 4. Pruebas bioquímicas:

Para la identificación de las pruebas bioquímicas utilicé el manual de cultivo para identificación de *Vibrio parahaemolyticus* (INS, 2016), de cada una de las colonias que presentaban características con centro verde azulado que se identificaron en medio agar TCBS se inoculó en diferentes medios para la realización de las pruebas bioquímicas. (figura 11).

#### 4.a Prueba de oxidasa

Para esta prueba se usaron las tiras de oxidasa, con el fin de detectar la presencia de la enzima oxidasa presente en la cadena respiratoria de la bacteria, que se evidencia por la oxidación del sistema citocromo oxidasa al reaccionar con el sustrato.

Con la ayuda de un mondadientes estéril inoculé una alícuota del cultivo por cada una de las cepas seleccionadas como *Vibrio parahaemolyticus*, posteriormente se observó y dio lectura a la reacción que consiste una reacción positiva a una coloración purpura a rosácea.

#### 4.b Prueba en medio Agar Tripe azúcar-hierro TSI

Este medio se empleó para la diferenciación de enterobacterias a base de la fermentación de glucosa, sacarosa, lactosa y la producción de ácido sulfhídrico y gas. Es por ello que se registró las características del medio TSI antes de la incubación (color del medio). Luego se tomó suavemente una porción de la cepa aislada con asa bacteriológica recta y estéril y se inoculó por picadura o punción hasta el fondo del tubo y finalizar con estriamiento en la superficie en un tubo con agar triple azúcar- hierro (TSI) sembrado de forma semi inclinada. Después todas las muestras fueron incubadas a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$  durante 24 h, finalmente se interpretó los resultados.

La muestra fue positiva cuando existan reacciones K/A<sup>-</sup> (Coloración rojo/amarillo por la fermentación de la glucosa en el fondo del tubo) a su vez no ha producción de gas ni producción de H<sub>2</sub>S. (figura 12)

#### 4.c Prueba en agar lisina hierro LIA

Es otro medio que se utilizó para la diferenciación de enterobacterias, que consiste en la descarboxilación/desaminación de la lisina, previamente se registró las características del medio LIA antes de la incubación (color del medio), luego se tomó suavemente una porción del cepario aislado con un asa bacteriológica recta y estéril y se inoculo por picadura realizando te punciones hasta el fondo del tubo y finalizando con estrías en la superficie del tubo con agar lisina hierro semi inclinado.

Posteriormente se incubo el medio (LIA) a  $35 \pm 2^\circ$  C durante 24 h.

Se consideraron positivos o presencia de *Vibrio parahaemolyticus* a la reacción dada es K/K (lisina positiva, dando una coloración violeta/violeta). (figura 13)

Luego se retuvo todos los cultivos que mostraban las reacciones características de *Vibrio parahaemolyticus* en los medios de TSI y LIA para realizar las pruebas bioquímicas complementarias, posteriormente se fueron descartando y solamente los cultivos que mostraban reacciones atípicas en ambos medios fueron seleccionados, finalmente se interpretaron los resultados.

#### 4.d Agar citrato de Simmons

Se registro las características del medio citrato de Simmons antes de la incubación (color del medio), posteriormente se tomó suavemente una porción de la cepa aisladas con asa bacteriológica recta y estéril y se inoculo por picadura y estrías en un tubo con agar citrato de Simmons inclinado. Las muestras fueron incubadas a una temperatura de  $35 \pm 2^{\circ}$  C durante 24 h, finalmente se interpretaron los resultados.

#### 4.e Medio sulfuro de hidrogeno-indol-movilidad (SIM)

Se registro las características del medio SIM antes de la inoculación (color del medio), con la ayuda de un asa bacteriológica recta y estéril se procedió a tomar suavemente una porción de la cepa aislada y se inoculo por punción vertical en el tubo con medio de SIM. Posteriormente se incubó a  $35 \pm 2^{\circ}$  C durante 24 h, finalmente se interpretó los resultados. (figura 14)

#### 4.f Medio agar Urea

Se registro las características del medio antes de la inoculación (color del medio), se usa específicamente para la diferenciación de microorganismos, especialmente las enterobacterias con base a la producción de ureasa. Con la ayuda de un asa bacteriológica estéril se procedió a tomar suavemente una porción de la cepa aislada y se inoculo en la base del agar inclinado en los tubos que contenían el medio agar urea. Posteriormente se incubo a  $35^{\circ}$ C de 18-24 horas, finalmente se interpretó los resultados. La urea es hidrolizada por la enzima ureasa, formando dióxido de carbono y amoniaco, este último

proporciona reacción alcalina al medio, que puede comprobarse por la coloración amarillo a rojo purpura, del indicador de pH rojo fenol contenido en el medio.

#### **D. 1. Recuento de aerobios mesófilos**

De cada una de las muestras procesadas (50 muestras) se procedió a realizar una disolución de 1mL de la muestra de concha de abanico con 90 mL de agua peptonada, y se procedió a realizar la disolución de  $10^{-5}$

Para el recuento de aerobios mesófilos se utilizaron la metodología de **AOAC 2014.05 / 3M**

##### C.2.1 Preparación de la muestra

1. Se preparó una dilución de 1:10 de la muestra. Posteriormente se pesó la muestra en una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
2. Se adicionó la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lethen libre de bi sulfato o agua destilada. En este caso se usó el agua peptonada al 0.1%.

No se utilizaron buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque inhibían el crecimiento.

3. Se mezcló la muestra mediante los métodos usuales, para un óptimo crecimiento y recuperación de los microorganismos ajustando el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2.

### C.2.2 Inoculación

1. La Placa Petrifilm fue colocada en una superficie plana y nivelada, se procedió a levantar la lámina semitransparente superior. Con ayuda de una pipeta en forma perpendicular a la placa petrifilm se colocó 1mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior. Con mucho cuidado y suavemente se procedió a deslizar la película inferior hacia abajo con la finalidad de evitar sacar la muestra de la placa y así se evitó atrapar burbujas de aire. (figura 15 y 16)
2. Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra. Posteriormente presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. Tuve en cuenta de no girar ni deslizar el dispersor. Finalmente levante el dispersor o esparcidor esperando por lo menos 1 minuto para la solidificación del gel para posteriormente llevarlo a la incubación.

### C.2.3 Incubación

1. Incubé las placas con la cara hacia arriba en grupos de no más de 20 piezas.

#### C.2.4 Interpretación

1. Las Placas Petrifilm fueron contadas por medio de un contador de colonias.
2. Se observó la presencia de un tinte indicador rojo, dando así una reacción positiva. (figura 15 y 16)

#### C.3 Recuento de coliformes totales y *Escherichia coli*

Para este procedimiento se utilizó la metodología de **AOAC 991.14 / 3M**

##### C.3.1 Inoculación

1. La placa de recuento rápido de coliformes/*E. coli* 3M Petrifilm se colocó en una superficie pareja, luego se levantó la película superior y con ayuda de una pipeta en perpendicular al área de inoculación se dispersó 1 mL de la suspensión de la muestra en el centro de la película base, con mucho cuidado se procedió a girar la película superior hacia abajo de la muestra con el fin de evitar atrapar burbujas de aire no dejando caer la película superior.
2. Se colocó el Dispersante plano 3M™ Petrifilm™ en el centro de la placa de recuento rápido de coliformes/*E. coli* 3M Petrifilm y se presionó con firmeza en el centro del dispersante para obtener una distribución de manera pareja de la muestra, en este paso se evitó girar ni deslizar el dispersante. (figura 15 y 16)

##### C.3.2 Incubación

1. Se incubaron las placas con el lateral transparente hacia arriba en grupos de no más de 20 placas.

### C.3.3 Interpretación

1. Las placas de recuento rápido de coliformes/*E. coli* 3M Petrifilm fueron contabilizadas las colonias mediante un contador estándar.
2. La presencia de *E. coli* en las colonias dio una coloración azul a azules-verdes con burbujas de gases asociadas o sin ellas. No se tomaron en cuenta las colonias que aparecían en la barrera de espuma porque son fueron eliminadas del influjo selectivo del medio. (figura 15 y 16)

## C.4 Recuento de *Staphylococcus aureus*

Para este procedimiento se utilizó se utilizó la metodología de **AOAC 2003.08 / 3M**

### C.4.1 Preparación de la muestra

1. Se preparó una dilución de la muestra de alimento, se procedió a pesar la muestra en una botella de dilución propiamente estéril.
2. Se adicionó una pequeña cantidad apropiada de un diluyente estéril: buffer de agua peptonada (método ISO 6579). En este caso no se usó buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque estos inhibían el crecimiento. Posteriormente se homogenizó la muestra mediante los métodos usuales, para una recuperación y

crecimiento óptimo de los microorganismos se ajustará el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5. Para el caso de productos ácidos se utilizará una solución de 1N de NaOH y para los básicos usará soluciones de 1N de HCl. (figura 15 y 16)

#### C.4.2 Inoculación

1. Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior y con la ayuda de una pipeta coloque en forma perpendicular a la Placa Petrifilm 1 mL de la muestra en el centro de la Placa. Cuidadosamente deslice la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire no dejando caer la película superior.
2. Aplique una suave presión para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el esparcidor sin doblarlo o deslizarlo, esperé por lo menos un minuto para que se solidifique el gel.

#### C.4.3 Incubación

1. Incubé las Placas boca abajo en grupos de no más de 20 piezas o placas.

#### C.4.4 Interpretación

1. Cada una de las placas fueron contabilizadas mediante un contador de colonia, la coloración rojo-violeta indicaba la presencia de *S. aureus*,

Si en los petrifilm no hay colonias presentes después de  $24 \pm 2$  horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada. (figura 15 y 16)

## C.6 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar

### C.6.1 Preparación del medio de cultivo

Se preparó agar Mueller - Hinton (medio validado por el NCCLS), primero se calentó hasta un punto de ebullición en microondas para posteriormente ser esterilizadas en autoclave a 121 C por 15 min, después de estar tibio el medio se verterá en placas Petri estériles pasando por un control de calidad de  $35 \pm 2$  C por 24 horas. Todos los discos de antimicrobianos estaban guardados a una temperatura de 4 C.

### C.6.2 Colocación de los discos de antibióticos sobre las placas inoculadas

Cada una de las placas fueron inoculadas con la bacteria con la ayuda de un hisopo estéril en la parte superficial, realizando una rotación de la placa con un giro aproximado de 60 grados con el fin de asegurar una distribución uniforme del inóculo. Seguidamente se colocaron los discos con ayuda de unas pinzas estériles presionando suavemente sobre el agar (una vez colocado el disco en la superficie del agar, no deberá de moverse), finalmente todas las placas se incubaron boca abajo o invertidas a una temperatura de 35°C durante 18 horas.

Los antibióticos que se usaron en el agar fueron los siguientes: STX: Trimetoprima/ sulfametoxazol, FX: Furazolidona C: Cloranfenicol y TE: Tetraciclina. (figura 17)

### C.6.3 Registro e interpretación de los resultados

Posteriormente de la incubación se procedió a medir el diámetro completo de las zonas de inhibición incluyendo el diámetro del disco, registrándose los valores en milímetros (mm). Dependiendo de cada uno de ellos se registrará como susceptible, intermedia o resistente a cada droga probada. (figura 17)

### 8.8.3 Análisis de datos

Toda la información obtenida en el muestreo fue procesada con el fin de evaluar los diferentes parámetros de cada una de los puestos analizados, en el cual se realizó tablas y gráficos con la ayuda del programa Excel 2020, a su vez se procedió a analizar los datos mediante gráficos y tablas con el programa Past 4.11 y Power be 2020.

### 8.7. Aspecto ético

En el desarrollo de esta investigación no aplica el aspecto ético.

## IX. RESULTADOS

El estudio demuestra la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en los moluscos bivalvos *Argopecten purpuratus*, las 50 muestras procesadas fueron pre- enriquecidas en agua peptonada alcalina y posteriormente cultivadas en el medio selectivo agar TCBS (tabla 4), se obtuvieron un total de 33/66 cepas (tabla 5) que fueron seleccionadas debido a que presentaron como característica un centro verde azulado, dando la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*. Esta coloración se debe a la fermentación de la sacarosa, estas cepas seleccionadas fueron procesadas posteriormente para las pruebas bioquímica de TSI, LIA, SIM, citrato, ureasa y oxidasa, para la confirmación de la presencia de este agente patógeno (tabla 5).

En el caso de la prueba de sensibilidad difusión en agar, todas las cepas (33) que fueron incubadas en caldo BHI por 18 horas y se les realizó el antibiograma con los antibióticos SXT 25 (TRIMETOPRIM SULFAMETOXA), FX100 (FURAZOLIDONA), C30 (CLORANFENICOL) y TE30 (TETRACICLINA) con la finalidad de determinar la susceptibilidad (sensibilidad, intermedio o la resistencia) de la bacteria, los aislamientos mostraron valores de resistencia al 100% en los antibióticos de tetraciclina y furazolidona, en el caso del antibiótico cloranfenicol el 90% es resistente y el 1%

presenta una susceptibilidad intermedia, sin embargo, 60% del antibiótico trimetoprima/ sulfametoxazol es resistente, el 39% es de susceptibilidad intermedia y el 1% es sensible. (tabla 6)

Por último, se realizó el recuento de aerobios mesófilos totales con la metodología AOAC 2014.05/ 3M, para los coliformes totales y *Escherichia coli* la metodología AOAC 991.14/3M y finalmente para *Staphylococcus aureus* la metodología AOAC 2003.08, (tabla 8) el cual se tomo en cuenta la “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano” R.M N°591-2008/MINSA, para el cual se tomo en cuenta los criterios microbiológicos correspondientes al grupo de PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS y sub grupo XI.3 Moluscos y crustáceos crudos (frescos, refrigerados o congelados), con la finalidad de ser considerados aptos para consumo humano. (tabla 7)

Tabla 4: Presencia y Ausencia de *Vibrio parahaemolyticus* en agar TCBS en 50 muestras

N° muestras	# de puesto	# de muestra	Presencia	Ausencia
1	1	1.1	X	
2	1	1.2	X	
3	1	1.3	X	
4	1	1.4		X
5	1	1.5	X	
6	1	1.6		X
7	1	1.7		X
8	1	1.8	X	
9	2	2.1		X
10	2	2.2		X
11	2	2.3	X	
12	2	2.4	X	
13	2	2.5		X
14	2	2.6		X
15	2	2.7		X
16	3	3.1		X
17	3	3.2		X
18	3	3.3		X
19	3	3.4		X
20	3	3.5	X	

21	3	3.6	X	
22	3	3.7		X
23	4	4.1	X	
24	4	4.2		X
25	4	4.3	X	
26	4	4.4	X	
27	4	4.5	X	
28	4	4.6		X
29	4	4.7		X
30	5	5.1		X
31	5	5.2	X	
32	5	5.3		X
33	5	5.4		X
34	5	5.5	X	
35	5	5.6		X
36	5	5.7	X	
37	6	6.1		X
38	6	6.2	X	
39	6	6.3		X
40	6	6.4		X
41	6	6.5	X	
42	6	6.6		X
43	6	6.7		X
44	7	7.1		X
45	7	7.2		X
46	7	7.3		X
47	7	7.4		X
48	7	7.5		X
49	7	7.6	X	
50	7	7.7		X
<b>Total</b>			<b>19</b>	<b>31</b>

Tabla 5: Obtención de 33 cepas y pruebas bioquímicas que presentan características de *Vibrio parahaemolyticus*

Numero de puesto	Numero de muestra	Código de cepa	Pruebas generales				
			OXIDASA	LIA	TSI	SIM	Citrato de Simmons
1	1.1	1.1.1	+	K/A	K/A <sup>-</sup>	-	(+) / -
		1.1.2	+	K/A	A/A <sup>-</sup>	-	(+) / -
		1.1.3	+	K/K	K/A <sup>-</sup>	-	(+) / -
	1.2	1.2.1	+	K/K	A/A <sup>-</sup>	-	(+) / -
		1.2.2	+	K/A	A/A <sup>-</sup>	-	(+) / -

		1.2.3	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		1.2.4	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		1.3	1.3.1	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-
		1.5	1.5.1	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	+	+
			1.5.2	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	+	+
1.8	1.8.1	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	+	+		
2	2.3	2.3.1	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	+	+	
		2.3.2	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		2.3.3	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	+	+	
	2.4	2.4.1	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		2.4.2	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	+	+	
		2.4.3	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
3	3.5	3.5.1	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	+	+	
	3.6	3.6.1	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	+	+	
4	4.1	4.1.1	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	+	+	
	4.3	4.3.1	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	+	+	
	4.4	4.4.1	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	+	+	
	4.5	4.5.1	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	+	+	
5	5.2	5.2.1	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		5.2.2	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	+	+	
	5.5	5.5.1	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
		5.5.2	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
	5.7	5.7.1	+	K/A	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
5.7.2		+	K/A	A/A <sup>++</sup>	-	(+)/-		
6	6.2	6.2.1	+	K/K	A/A <sup>++</sup>	+	+	
		6.2.2	+	K/K	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
	6.5	6.5.1	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
7	7.6	7.6.1	+	K/A	K/A <sup>++</sup>	-	(+)/-	
TOTAL	POSITIVOS		33	16	16	14	14	
	NEGATIVOS		0	17	17	19	19	

Tabla 6: Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de las 33 cepas de *V. parahaemolyticus* ante cuatro antibióticos

# de puesto	# de muestra	Código de cepa	ANTIBIOTICOS			
			TRIMETOPRIM SULFAMETOXA	TETRACICLINA	CLORANFENICOL	FURAZOLIDONA
			SXT25	TE30	C30	FX100
1	1.1	1.1.1	R	R	R	R
1	1.1	1.1.1	I	R	R	R
1	1.1	1.1.2	I	R	R	R

1	1.1	1.1.2	I	R	R	R
1	1.1	1.1.3	I	R	R	R
1	1.1	1.1.3	I	R	R	R
1	1.2	1.2.1	I	R	R	R
1	1.2	1.2.1	R	R	R	R
1	1.2	1.2.2	I	R	R	R
1	1.2	1.2.2	R	R	R	R
1	1.2	1.2.3	I	R	R	R
1	1.2	1.2.3	I	R	R	R
1	1.2	1.2.4	I	R	R	R
1	1.2	1.2.4	I	R	R	R
1	1.3	1.3.1	R	R	R	R
1	1.3	1.3.1	R	R	R	R
1	1.5	1.5.1	R	R	R	R
1	1.5	1.5.1	R	R	R	R
1	1.5	1.5.2	R	R	R	R
1	1.5	1.5.2	R	R	R	R
1	1.8	1.8.1	S	R	R	R
1	1.8	1.8.1	I	R	R	R
2	2.3	2.3.1	I	R	R	R
2	2.3	2.3.1	I	R	R	R
2	2.3	2.3.2	I	R	R	R
2	2.3	2.3.2	I	R	I	R
2	2.3	2.3.3	R	R	R	R
2	2.3	2.3.3	R	R	R	R
2	2.4	2.4.1	R	R	R	R
2	2.4	2.4.1	R	R	R	R
2	2.4	2.4.2	I	R	R	R
2	2.4	2.4.2	R	R	R	R
2	2.4	2.4.3	R	R	R	R
2	2.4	2.4.3	R	R	R	R
3	3.5	3.5.1	R	R	R	R
3	3.5	3.5.1	R	R	R	R
3	3.6	3.6.1	R	R	R	R
3	3.6	3.6.1	R	R	R	R
4	4.1	4.1.1	R	R	R	R
4	4.1	4.1.1	R	R	R	R
4	4.3	4.3.1	R	R	R	R
4	4.3	4.3.1	R	R	R	R
4	4.4	4.4.1	R	R	R	R
4	4.4	4.4.1	R	R	R	R
4	4.5	4.5.1	R	R	R	R
4	4.5	4.5.1	R	R	R	R
5	5.2	5.2.1	R	R	R	R
5	5.2	5.2.1	I	R	R	R

5	5.2	5.2.2	R	R	R	R
5	5.2	5.2.2	R	R	R	R
5	5.5	5.5.1	R	R	R	R
5	5.5	5.5.1	R	R	R	R
5	5.5	5.5.2	R	R	R	R
5	5.5	5.5.2	R	R	R	R
5	5.7	5.7.1	I	R	R	R
5	5.7	5.7.1	I	R	R	R
5	5.7	5.7.2	R	R	R	R
5	5.7	5.7.2	R	R	R	R
6	6.2	6.2.1	I	R	R	R
6	6.2	6.2.1	I	R	R	R
6	6.2	6.2.2	I	R	R	R
6	6.2	6.2.2	I	R	R	R
6	6.5	6.5.1	R	R	R	R
6	6.5	6.5.1	I	R	R	R
7	7.6	7.6.1	I	R	R	R
7	7.6	7.6.1	R	R	R	R
	TOTAL	RESISTENTE	60%	100%	99%	100%
		INTERMEDIA	39%	0%	1%	0%
		SENSIBLE	1%	0%	0%	0%

Tabla 7: Criterios microbiológicos para productos hidrobiológicos del sub grupo XI.3 moluscos y crustáceos crudos.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°C)	1	3	5	3	$5 \times 10^5$	$10^6$
<i>Escherichia coli</i>	6	2	5	0	230/100g	----
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	$10^2$	$10^3$
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	----
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	----

Tabla 8: Recuento microbiológico de *Coliformes*, *Mesófilos aerobico* y *Staphylococcus aureos*

Fecha de muestreo	Numero de puesto	Procedencia	Numero de muestra	<i>Coliformes</i>	<i>Mesofilos Aerobico</i>	<i>Staphylococcus</i>
24/12/2022	1	Pisco	1.1	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^7$	ausente/25 g
24/12/2022	1	Pisco	1.2			
24/12/2022	1	Pisco	1.3			
24/12/2022	1	Pisco	1.4			
24/12/2022	1	Pisco	1.5			
24/12/2022	1	Pisco	1.6			
24/12/2022	1	Pisco	1.7			

24/12/2022	1	Pisco	1.8			
29/12/2022	2	Pisco	2.1	1*10 <sup>8</sup>	1*10 <sup>8</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	2	Pisco	2.2			
29/12/2022	2	Pisco	2.3			
29/12/2022	2	Pisco	2.4			
29/12/2022	2	Pisco	2.5			
29/12/2022	2	Pisco	2.6			
29/12/2022	2	Pisco	2.7			
29/12/2022	3	Casma	3.1	1*10 <sup>8</sup>	1*10 <sup>8</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	3	Casma	3.2			
29/12/2022	3	Casma	3.3			
29/12/2022	3	Casma	3.4			
29/12/2022	3	Casma	3.5			
29/12/2022	3	Casma	3.6			
29/12/2022	3	Casma	3.7	6*10 <sup>7</sup>	1*10 <sup>8</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	4	Callao	4.1			
29/12/2022	4	Callao	4.2			
29/12/2022	4	Callao	4.3			
29/12/2022	4	Callao	4.4			
29/12/2022	4	Callao	4.5			
29/12/2022	4	Callao	4.6			
29/12/2022	4	Callao	4.7	2*10 <sup>7</sup>	2*10 <sup>8</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	5	Pisco	5.1			
29/12/2022	5	Pisco	5.2			
29/12/2022	5	Pisco	5.3			
29/12/2022	5	Pisco	5.4			
29/12/2022	5	Pisco	5.5			
29/12/2022	5	Pisco	5.6			
29/12/2022	5	Pisco	5.7	2*10 <sup>6</sup>	5*10 <sup>7</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	6	Pisco	6.1			
29/12/2022	6	Pisco	6.2			
29/12/2022	6	Pisco	6.3			
29/12/2022	6	Pisco	6.4			
29/12/2022	6	Pisco	6.5			
29/12/2022	6	Pisco	6.6	1*10 <sup>6</sup>	1*10 <sup>7</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	6	Pisco	6.7			
29/12/2022	7	Pisco	7.1			
29/12/2022	7	Pisco	7.2			
29/12/2022	7	Pisco	7.3			
29/12/2022	7	Pisco	7.4			
29/12/2022	7	Pisco	7.5	4*10 <sup>7</sup>	8*10 <sup>7</sup>	ausente/25 g
29/12/2022	7	Pisco	7.6			
29/12/2022	7	Pisco	7.7	TOTAL		
				4*10 <sup>7</sup>	8*10 <sup>7</sup>	ausente/25 g

## X. DISCUSIÓN

El principal objetivo de estudio fue la identificación y aislamiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* en las muestras de *Argopecten purpuratus* (concha de abanico) procedentes del terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, Lima, Perú, en comparación de otros estudios de investigación, Terrones, J & Silva, L en el 2019 realizaron estudios en el mercado mayorista hidrobiológico de Trujillo identificando en gran porcentaje *V. parahaemolyticus* en pescados y moluscos bivalvos, Orozco, R en el 2017 realiza la identificación de *Vibrio* mediante el sistema API(R)20 NE Microbial Identification Kit, detectando *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. merschmikovii* tanto en la bahía de Pisco y Piura, pero *V. mimicus* solo se encontró en Sechura. Aliaga, R et al en el 2010 identifico las 17 cepas de de *V. parahaemolyticus* procedentes de 9 pescados y 6 moluscos bivalvos, sin embargo, en el proyecto de investigación se aísla 33 cepas, identificándose 19/33 cepas pertenecientes al *Vibrio parahaemolyticus* y 14/33 cepas fueron de *Vibrio vulnificus*, en el caso de Dueñas, T en el 2008 dieron positivo en 4 muestras aislándose 5 cepas por medio de características bioquímicas, las especies que presentaron mayor cantidad de *V. parahaemolyticus* fueron los peces y crustáceos a diferencia de los moluscos, a diferencia de Hermenejildo, J & Pérez, R, en su estudio no se llegó a identificar el patógeno en camarones que son expandidos en Ecuador.

Para el caso del recuento de aerobios mesófilos totales se utilizaron la metodología AOAC 2014.05/3M, para los coliformes totales y *Escherichia coli* la metodología AOAC 991.14/3M y finalmente para *Staphylococcus aureus* la metodología AOAC 2003.08, tanto en la investigación de Vasquez et al 2018 realizado en los mercados que expenden pescados y mariscos en la ciudad de Huánuco como en la presente investigación, las UFC/g de estos patógenos están por encima de los niveles permitidos en la norma sanitaria de los criterios microbiológicos para consumo humano, como también en el trabajo de

investigación de Navarro, J en el 2017 indica que el 63% de las muestras de choros superan los límites máximos permitidos (LMP).

Malbran en el 2010 realiza la prueba de sensibilidad para el tratamiento de infección por *Vibrio cholerae*, con 6 antibióticos, dando unos rangos de la zona de diámetro de inhibición presentando similitudes así como contrastes con respecto a los resultados obtenidos en la presente tesis, en el presente análisis se realizó el antibiograma con cuatro los antibióticos SXT 25 (TRIMETOPRIM SULFAMETOXA), FX100 (FURAZOLIDONA), C30 (CLORANFENICOL) y TE30 (TETRACICLINA), los aislamientos mostraron valores de resistencia al 100% en los antibióticos de tetraciclina y furazolidona, en el caso del antibiótico cloranfenicol el 90% es resistente y el 1% presenta una susceptibilidad intermedia, sin embargo, 60% del antibiótico trimetoprima/ sulfametoxazol es resistente, el 39% es de susceptibilidad intermedia y el 1% es sensible.

## XI. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio han demostrado la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en las muestras de concha de abanico que son comercializadas en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, esta presencia podría significar la aparición de brotes gastroenteritis y otras afecciones entéricas que están asociadas por el consumo de alimentos marinos crudos o poco cocinado. De las 50 muestras que fueron cultivadas, se obtuvo un total de 33/66 cepas con características de *V. parahaemolyticus* en medio selectivo tiosulfato-citrato-sacarosa (TCBS). Se realizaron pruebas bioquímicas a las cepas identificándose 19/33 fueron *Vibrio parahaemolyticus* y 14/33 fueron *Vibrio vulnificus*.

En el caso de la prueba de sensibilidad se usaron cuatro antibióticos, en la cual se catalogo en tres categorías: sensibles (S), susceptibilidad intermedia (I) y resistente (R), los aislamientos mostraron valores de resistencia al 100% en los antibióticos de tetraciclina (TE 30) y furazolidona (FX 100), en el caso del antibiótico cloranfenicol (C 30) el 90% es resistente y el 1% presenta una susceptibilidad intermedia, sin embargo, 60% del antibiótico trimetoprima/ sulfametoxazol (SXT 25) es resistente, el 39% es de susceptibilidad intermedia y el 1% es sensible.

Con respecto a otros patógenos que se encuentran en los moluscos se realizó la presencia/ausencia y el recuento de superficie de agar para microorganismos indicadores de calidad, en el caso de presencia/ausencia de patógenos se utilizó la metodología AOAC (Association of Analytical Communities), para el caso de aerobios mesófilos totales se usó el Método AOAC 2014.05/ 3M, para coliformes totales y *Escherichia coli* se usó el Método AOAC 991.14/3M y finalmente el Método AOAC 2003.08 / 3M para *Staphylococcus aureus*, teniendo en si los siguientes resultados: en el caso del recuento de *Staphylococcus aureus* fue de  $<10$  UFC/mL, Mesófilos aerobios Totales fue de  $8 \cdot 10^7$

UFC/mL, Coliforme totales  $4 \cdot 10^7$  UFC/mL y *Escherichia coli* de  $<10$  UFC/mL, llegando a la conclusión que la especie *Argopecten purpuratus* comercializada en el terminal pesquero de Villa María del Triunfo NO CUMPLE con las normas sanitarias que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (RM N° 591-2008/MINSA) requeridas para la conservación del producto marino, considera así las muestras analizadas NO APTAS para el consumo humano según la norma sanitaria mencionada.

## XII. RECOMENDACIONES

Debido a que la contaminación por *Vibrio parahaemolyticus* de los alimentos se debe a la presencia en el medio marino, la recomendación principal es realizar una vigilancia ambiental que estará a cargo del Ministerio de la Producción, el Instituto del Mar del Perú, SANIPES, entre otras entidades, con la finalidad de realizar un monitoreo de la bacteria en el mar peruano, específicamente en las áreas en donde se realiza la recolección del marisco o en los diferentes eventos de “El Niño”, a la vez se recomienda monitorear los parámetros que condicionan su concentración como es el caso de las variaciones de temperatura, salinidad, turbidez del mar, entre otros.

Otra de las recomendaciones más primordiales, es realizar capacitaciones o programas de educación a los trabajadores, pescadores y/o vendedores sobre la aplicación de las Buenas Prácticas de Manipulación de Alimentos, como también de la extracción y procesamiento artesanal, con la finalidad de fomentar las campañas de divulgación en el manejo responsable ambiental como también del recurso y a su vez reducir los peligros microbiológicos causantes del deterioro del alimento, mismos que afectan la calidad y sobre todo a la salud del consumidor. También elaborar un manual de buenas prácticas de manufactura para el terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, con respecto a las condiciones y escasez que presenta el terminal para la mejora de la calidad de venta de sus productos, así como también el bienestar de los consumidores y vendedores.

Realizar análisis de control microbiológicos por parte de la Municipalidad de Villa María del Triunfo, Municipalidad de Lima, SANIPES, entre otras entidades, con el fin de controlar, monitorear las condiciones de transporte y almacenamiento de estas especies, a la vez reforzar el manejo sanitario que se realizan en el terminal pesquero, mejorando así el transporte de estos especímenes debido a que la indumentaria del personal como también los camiones no son los adecuados para un adecuado transporte de estos moluscos, con el fin de reducir sustancialmente las cantidades de microorganismos

que implican un riesgo para la salud del consumidor como también del personal que atiende en estos puestos.

Aplicar nuevas tecnologías como es el uso de técnicas moleculares con la finalidad de determinar la patogenicidad de las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* sobre la base de factores de virulencia vinculados a los genes hemolisina directa termoestable TDH y la hemolisina relacionada TRH.

### XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aliaga, R. (2005). Aislamiento y caracterización de especies de *Vibrio* a partir de ceviches expendidos en la vía pública durante el fenómeno El Niño 1998. Tesis de Bachiller. Lima. Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia- Ciencias y Fisiología.
- Aliaga, R., Miranda, J., y Zevallos, J. (2010). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedente de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Revista Medicinal Hered.* (21), 139-145.
- Bopp, C. (2004). Prueba de Susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud publica en el Mundo en Desarrollo- *Vibrio cholerae*. Organización Mundial de la Salud. 151pp.
- Carbajal MT, Rabelo P, Gonzales C y Ayala M. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla-Perú. *Rev. Cubana Salud Publica.* 2003; 29(2):121-123.
- Caro-Castro J, Mestanza O, Quino W y Gavilán R. Diversidad molecular de variantes patogénicas de *Vibrio parahaemolyticus* en el Perú. *Rev. Perú Med. Exp Salud Publica.* 2020, 37(2): 270-275.
- Cavero P. Producción sostenida de moluscos bivalvos en el Perú: acuicultura y repoblamiento. Cultivo y manejo de moluscos bivalvos en América Latina. FAO. 2007. 209-218 pp.
- De la Fuente M y Faúndez V. Evaluación in vitro de bacterias marinas para potencial biocontrol en cultivo de moluscos bivalvos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía.* 2019, 54(3): 272-282. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.3.2010>
- Del Carpio L y Vila B. El mercado de productos pesqueros en la Región Metropolitana de Lima. Serie: El mercado de pescado en las grandes ciudades latinoamericanas. INFOPECA. 2010.
- Doucet W y García J. El mercadeo del pescado en Lima: preferencias de los consumidores. Instituto de investigación de los recursos marinos. 1963, informe N°19.

- Dubert J, Barja J y Romalde J. New insights into pathogenic Vibrios affecting bivalves in hatcheries: Present and Future prospects. *Frontiers in Microbiology*. 2017.
- Dueñas T. Recuento de *Vibrio parahaemolyticus* Kanagawa positivo en especies marinas de consumo en Lima Metropolitana y Callao. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2008.
- Ezeta C. Análisis de la comercialización de los principales recursos hidrobiológicos en el mercado mayorista pesquero de Villa María del Triunfo durante 2000-2013. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2016.
- Gonzales C. Propuesta de un manual de BPM para el área de fileteo del terminal pesquero de Villa María y estimación de costos para su implementación. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2018.
- Heitman I, Jofré L, Hormázabal C, Olea A, Vallebuona C, Valdés C. Revisión y recomendaciones para el manejo de diarrea por *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista Chile Infect*. 2005, 22(2):131-140.
- Gil A, Lanata C, Miranda H, Prada A, Seas C, Hall E, Meza R, Barreno C, Maúrtua D, Nair G. Gravedad de la gastroenteritis causada por *Vibrio parahaemolyticus* del grupo pandémico en el Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2007; 24(4):350-355.
- IMARPE. Guía ilustrada para reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial. Área Funcional de Investigaciones en Biodiversidad (AFIB). 2016, 2(1)
- INFOPECSA. Directiva Higiénico Sanitario para Productos Pesqueros Comercializados en los Mercados, Proyecto “Mejoramiento de los mercados internos de productos pesqueros de América Latina y el Caribe” – TCP/RLA/3111. FAO. sf.
- Intriago D. Prevalencia de Vibrios patógenos en camarón de comercio minorista en mercados del Cantón Manta. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Posgrado. 2020.
- Lanata C. La enfermedad del cólera: a propósito de la primera pandemia en el Perú y América en este siglo. *Salud Popular*. 1991, 3(1):7-25.

Letchumanan V, Loo KY, Law JWF, Hei S, Goh BH, Ab Mutalib NS y Lee LH. *Vibrio parahaemolyticus*: The protagonist causing foodborne diseases. *Prog Microbes Mol Biol*. 2019; 2(1): a0000029.

Lovatelli A, Farías A y Uriarte I (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. 2007; 12 (359pp).

Márquez J. Determinación de la calidad microbiológica en moluscos bivalvos y agua de mar en la bahía de Sechura-Piura. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2017.

Mitma, M.; Monteferri, B. y Zarbe K. Actores en el sector pesca. En: Sociedad Peruana de Derecho Ambiental, Wikipesca Perú. Plataforma colaborativa sobre la pesca en el Perú. 2019. Recuperado de: <https://www.mardelperu.pe/pesca/2/actores-en-el-sector-pesca>

Montero E. Análisis microbiológico de *Vibrio parahaemolyticus* en moluscos bivalvos crudos que se expenden en el mercado Municipal Pedro Pablo Gómez. Universidad de Guayaquil. 2015.

Mora E. Catálogo de bivalvos marinos del Ecuador. Instituto Nacional de Pesca, Boletín científico y técnico. 1990.

Navarro J. Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* “jurel” y *Aulacomya ater* “choro” comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima-Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017.

Organización Mundial de la Salud. Estimaciones de la OMS de la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria. Grupo de referencia de epidemiología de carga de enfermedades transmitidas por alimentos 2007-2015. 2015. Consultado el 4 de julio de 2019; Disponible de: [http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne\\_dis-easy/fergreport/en/](http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_dis-easy/fergreport/en/).

Orozco R, Quispe Y, Lorenzo A y Zamudio ML. Harmful algal blooms and *Vibrio* spp. Association in fishing and marine farming areas of mollusk bivalves in Sechura an Pisco bays, Peru. *Revista peruana de biología*. 2017. 24(1): 111-116.

Paredes C y Cardoso F. Nuevos registros de bivalvos marinos para el Perú. *Revista Perú biol.* 2008. 15(1): 11-14.

Quino W y Aguilera C. Cultivo para identificación de *Vibrio parahaemolyticus* MET-CNSP-83. MINISTERIO DE SALUD. 2016.

RENALOA. Análisis microbiológico de los alimentos, Metodología analítica oficial. Microorganismos indicadores. MINISTERIO DE SALUD, PRESIDENCIA DE LA NACION. 2014. 153pp

Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes L. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Rev. Fac. Nac. Salud Publica.* 2017; 35(2): 236-247. DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08.

SANIPES. Guía de buenas prácticas sanitarias pesqueras. MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN. 2018, 1ra edición.

Sociedad Peruana de Derecho Ambiental. Wikipesca Perú. Plataforma colaborativa sobre la pesca en el Perú. SPDA. 2019. Recuperado de: <https://www.mardelperu.pe>

Sulca M. Identificación y caracterización de integrones y su asociación con la resistencia a antibióticos en cepas de *Vibrio* spp. Aisladas de ambientes marinos contaminados de Lima-Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Unidad de Post-Grado. 2011.

Terrones J y Silva L. Frecuencia de pescados y moluscos bivalvos con *Vibrio parahaemolyticus* virulento que se expende en el Mercado -mayorista de Productos Hidrobiológico (Trujillo-Perú), 2018. Universidad Nacional de Trujillo. 2019.

Vasquez JM, Tasayco W y Chuquiyauri M. Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco. *Revista de Investigacion Valdizana.* 2018; 12(2).

Velez-Zuazo X, Alfaro-Shigueto J, Castagnino F y Córdova F. Evaluación anual de la comercialización de peces bajo la talla mínima legal en terminales pesqueros y puntos de desembarques (2018-2019). 2020 Lima: Perú

Yang C, Pei X, Wu Y, Yan L, Yan Y, Song Y, M. Coyle N, Martinez-Urtaza J, Quince C, Hu Q, Jiang M, Feil E, Yang D, Song Y, Zhou D, Yang R, Falush D, Cui Y. Recent mixing of *Vibrio parahaemolyticus* populations. *The ISME Journal*. 2019; 13:2578-2588.

Yi-Cheng S y Chengchu L. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. *Food Microbiology*. 2007; 24: 549-558.

#### XIV. ANEXOS

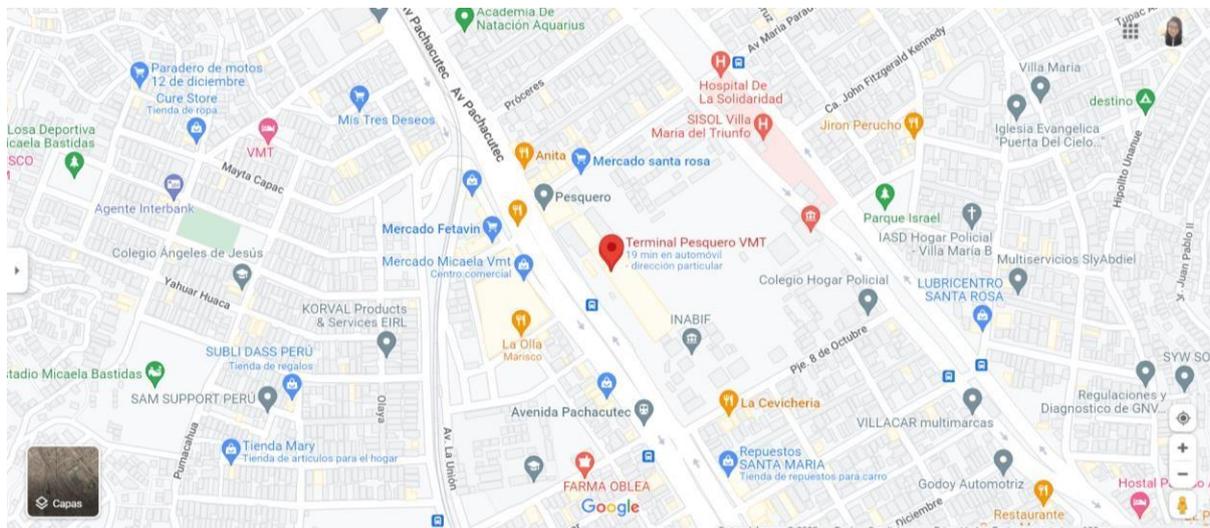


Figura 6: Mapa del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo



Figura 7: Muestras de *Argopecten purpuratus* en 7 puesto aleatorios del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo.



Figura 8: Unidad muestral constituida por 5 moluscos en cada puesto aleatorio del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo



Figura 9: Extracción de la parte interna de *Argopecten purpuratus* y colocado en peptonada alcalina obtenidas del Terminal Pesquero Villa María del Triunfo

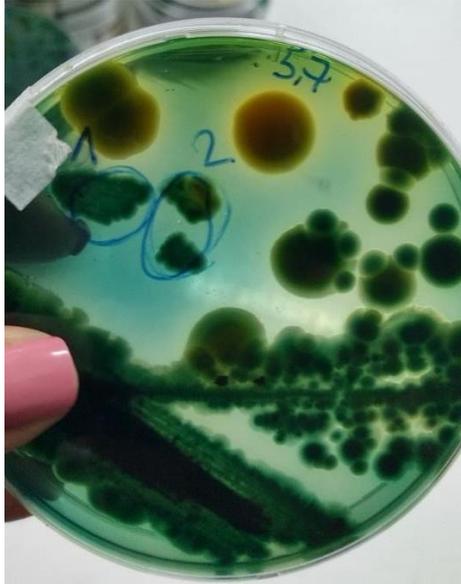


Figura 10: Selección de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* en agar TCBS



Figura 11: Pruebas bioquímicas para la identificación de *Vibrio parahaemolyticus*

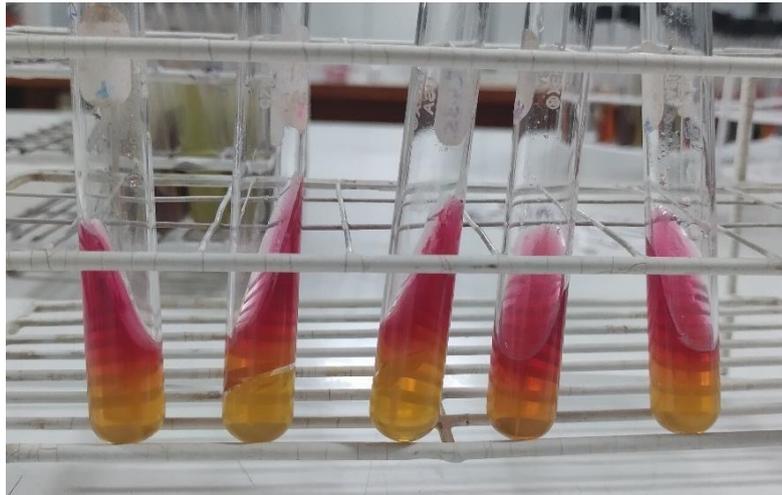


Figura 12: Pruebas bioquímicas TSI para identificación de *Vibrio parahaemolyticus*

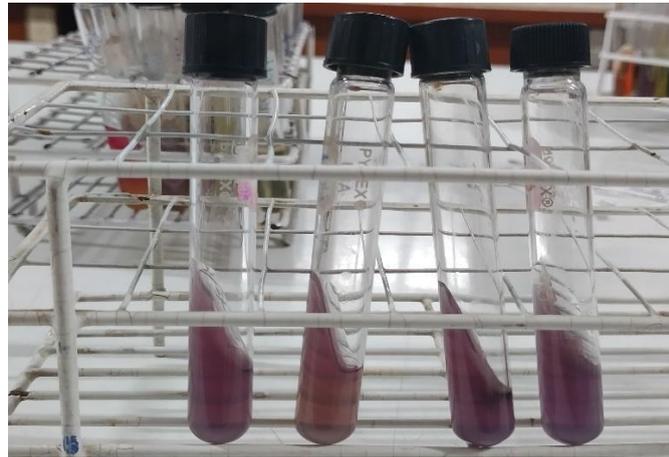


Figura 13: Pruebas bioquímicas LIA para identificación de *Vibrio parahaemolyticus*

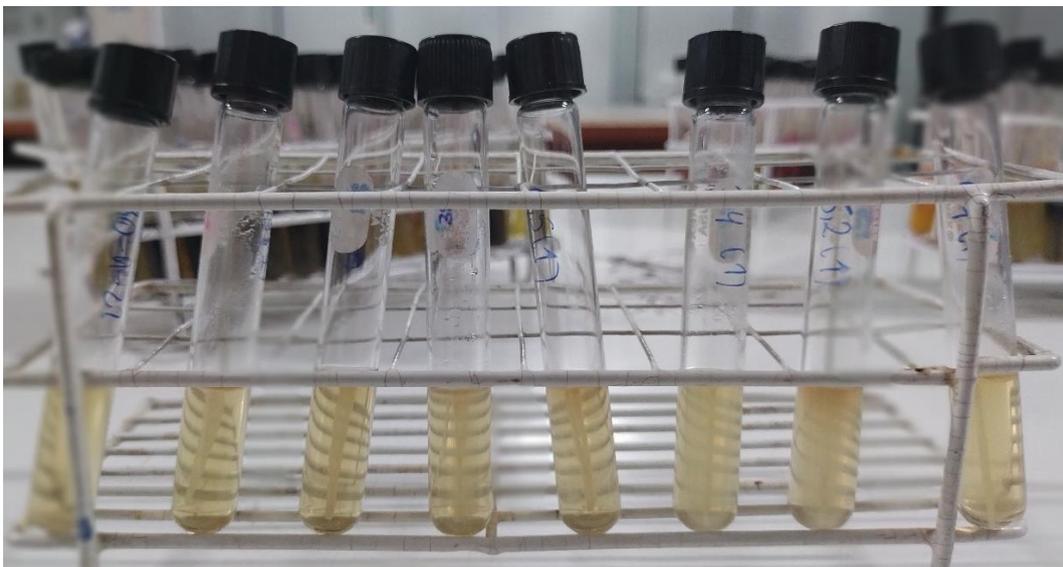


Figura 14: Pruebas bioquímicas SIM para identificación de *Vibrio parahaemolyticus*

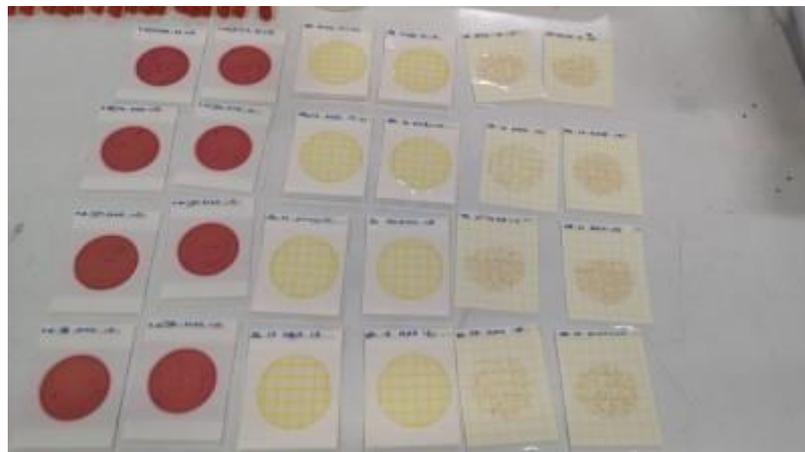


Figura 15: Sembrado en placas petrifilm para identificación de mesófilos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*



Figura 16: Presencia/ausencia y recuento de mesófilos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*



Figura 17: Antibiograma con cuatro antibióticos Trimetoprim/ sulfametoxa (SXT25), tetraciclina (TE30), cloranfenicol (C30) y furazolidona (FX100)