

## Frecuencia de *Vibrio cholerae* O1 en hortalizas que se expenden en los mercados "La Rinconada" y "Palermo" de la ciudad de Trujillo, Perú.

CHAVEZ CASTILLO, Milciades; BENITES CASTILLO, Santiago;  
LUJAN VELASQUEZ, Manuela; ROBLES CASTILLO, Heber; MUÑOZ GANOZA, Eduardo

### RESUMEN

Se determinó la presencia y frecuencia de *Vibrio cholerae* O1 en hortalizas que se expenden en los mercados "La Rinconada" y "Palermo" de la ciudad de Trujillo, Perú. Se analizó muestras de *Asparagus officinalis* "espárrago", *Brassica napus* "nabo", *Beta vulgaris* var *rapa* forma *rubra* "beterraga", *Brassica oleraceae* var *capitata-alba* "repollo", *Lactuca sativa* "lechuga", *Daucus carota* "zanahoria", *Spinacea oleracea* "espinaca", *Petrocelium sativum* "perejil", *Lycopersicum esculentum* "tomate" y *Raphanus sativus* "rabanito", durante los meses de Enero a Octubre del 2003. El aislamiento, identificación bioquímica y serológica de *V. cholerae* O1 se realizó siguiendo las técnicas recomendadas por CDC y ICMSF. De 1000 muestras de hortalizas procedentes de los dos mercados estudiados, se aisló *V. cholerae* O1 en 1,2% de las muestras; los serotipos identificados fueron Ogawa 0,0%, Inaba 1,1% e Hikojima 0,1%. La presencia de *V. Cholerae* O1 se debería a que éstas hortalizas se cultivan y expenden en malas condiciones higiénico sanitarias, siendo un riesgo potencial para la salud humana, ya que el consumo de estos productos contribuye a la endemidad del cólera en la ciudad de Trujillo, por lo que es necesario un adecuado control sanitario de estos alimentos.

**Palabras clave:** *Vibrio cholerae* O1; aislamiento; frecuencia; hortalizas.

### ABSTRACT

The frequency of *Vibrio cholerae* O1 was investigated in vegetables that are sold in the principal markets "La Rinconada" and "Palermo" in Peru, Trujillo city. There were analyzed samples of *Asparagus officinalis* "asparagus", *Brassica napus* "turnip", *Beta vulgaris* var *rapa* forma *rubra* "beet", *Brassica oleraceae* var *capitata-alba* "cabbage", *Lactuca sativa* "lettuce", *Daucus carota* "carrot", *Spinacea oleracea* "spinach", *Petrocelium sativum* "parsley", *Lycopersicum esculentum* "tomato" and *Raphanus sativus* "raphanus", from January to October of 2003. The identification, the isolation and serological investigation of *V. cholerae* O1 was made in accordance to the techniques of CDC and ICMSF. *V. cholerae* O1 was isolated in 1,2% from 1 000 samples, of "La Rinconada" and "Palermo" markets. The identified serotypes were Ogawa 0,0%, Inaba 1,1% and Hikojima 0,1%. This investigation shows that *V. cholerae* O1 is present in vegetables being a high risk for the human being, because from the epidemiological point of view, the consumption of these products contribute to increase the morbimortality of Cholera in Trujillo city. That is why is necessary an appropriate sanitary control of these foods.

**Key words:** *Vibrio cholerae* O1; isolation; frequency; vegetables.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de la gran variedad de productos vegetales de consumo humano, las hortalizas constituyen un componente importante en la alimentación, por su contenido en vitaminas, sales minerales, oligoelementos y en menor grado por sus hidratos de carbono, proteínas, grasas, además de celulosa; cumpliendo una función muy importante en el metabolismo intestinal (1).

Los alimentos se pueden comportar como vehículo de agentes infecciosos al ser contaminados con microorganismos patógenos, los que generalmente causan disturbios gastrointestinales en el hombre (2,3,4). Entre los alimentos involucrados en enfermedades entéricas se encuentran las hortalizas, que pueden ser contaminadas cuando son regadas con aguas servidas, cuando el material cloacal sin tratamiento previo se emplea como fertilizante o cuando son lavadas o "refrescadas" con agua contaminada; además esta contaminación puede presentarse por las condiciones de transporte, almacenamiento y manipulación (1,5,6,7,8). Las hortalizas al ser cultivadas, deben ser regadas con agua libre de patógenos entéricos, sin embargo, en nuestro medio, el agua para los regadíos con frecuencia no se encuentra en buenas condiciones higiénico sanitarias 9); incluso algunos horticultores de los alrededores de Trujillo y de los pueblos cercanos a esta ciudad utilizan aguas de desagüe; por esta razón las hortalizas al ser contaminados se convierten en potencialmente peligrosas para el consumo humano, esta contaminación puede aumentar cuando son manipuladas por portadores (6).

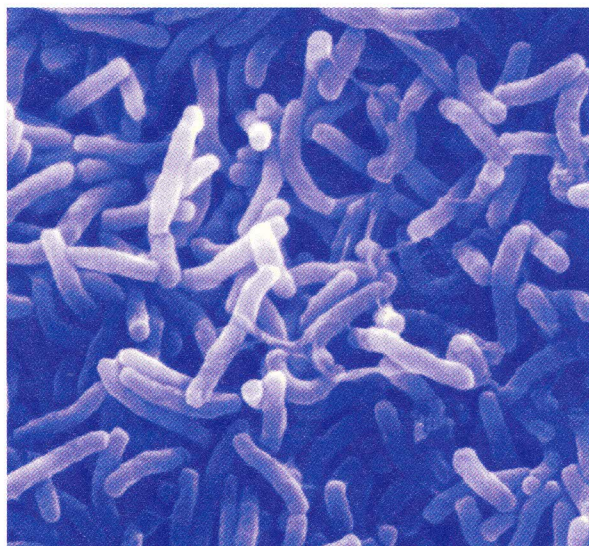
Entre los microorganismos patógenos importantes que pueden estar presentes en hortalizas que se comercializan en los mercados de Trujillo, están los pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* como *Salmonella*, *E. Coli*, etc. y los miembros de la familia *Vibrionaceae*, siendo *Vibrio cholerae* O1 el patógeno más importante, tanto por presentar elevadas tasas de morbimortalidad (10), como por su gran capacidad de diseminación a través del agua y los alimentos (2,10,11). Además, lo que contribuye a aumentar los casos de infecciones causadas por estos patógenos entéricos, es la costumbre mayoritaria de la población de consumir hortalizas crudas, ya sea como ensaladas o mezclándolas con otros alimentos, hecho que le da características especiales a la epidemiología de las enfermedades transmitidas por estos alimentos (11,12).

Es necesario indicar, que hay escasas publicaciones acerca del aislamiento de *V. cholerae* a partir de alimentos. Sin embargo, algunos estudios realizados en países con

problemas de salud, reportan aislamientos de patógenos entéricos de agua, bebidas, frutas, heces (12). La Organización Panamericana de la Salud informa que en los países en desarrollo, en diversas ocasiones se ha tratado, sin éxito, de aislar vibriónes de hortalizas y alimentos obtenidos de mercados en zonas donde el cólera es endémico; también informa la posible supervivencia de *V. cholerae* en hortalizas frescas, reportando que *V. cholerae* sobrevive en hortalizas de uno a diez días; uno a tres días a temperatura ambiente y hasta diez días a temperatura de refrigeración (10).

Por otro lado, es importante tener presente, que en los primeros meses del año 1991 se desarrolló en el Perú y otros países de Sudamérica, una epidemia de cólera de gran magnitud. Aunque en los años siguientes, el número de casos registrados ha disminuido, el cólera no ha sido erradicado definitivamente, muy por el contrario Trujillo se ha convertido en una zona donde el cólera es endémico presentándose casos en todos los meses del año, principalmente en verano (8,9,10,13).

En relación a la endemicidad del cólera, en nuestro medio, no se ha hecho estudios que permitan aclarar las modalidades de transmisión y los vehículos de mayor riesgo relacionados con los hábitos de la comunidad. Para hacer frente a ésta situación, considerando que las hortalizas podrían desempeñar un papel importante como vehículo de transmisión del cólera, generando condiciones de alto riesgo para la salud de la comunidad, y teniendo en cuenta la forma cómo son regadas, cómo se transportan y manipulan estos vegetales en los diferentes mercados, se propone investigar la presencia y frecuencia de aislamiento de *Vibrio cholerae* O1 en hortalizas que se expenden en los mercados zonales "La Rinconada" y "Palermo" de la ciudad de Trujillo.



En razón a lo anteriormente expuesto, en el presente estudio se planteó como interrogante: ¿Cuál es la frecuencia de aislamiento de *Vibrio*

*cholerae* O1 en hortalizas que se expenden en los mercados La Rinconada y Palermo de la ciudad de Trujillo, entre Enero a Octubre del 2003 ?

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1.0. MATERIAL BIOLÓGICO

El estudio abarcó 1 000 muestras procedentes de los mercados La Rinconada y Palermo, de las siguientes especies de hortalizas: *Asparagus officinalis* espárrago, *Brassica napus* nabo, *Beta vulgaris* var *rapa* forma *rubra* beterraga, *Brassica oleraceae* var *capitata-alba* repollo, *Lactuca sativa* lechuga, *Daucus carota* zanahoria, *Spinacea oleracea* espinaca, *Petrocelyum sativum* perejil, *Lycopersicum esculentum* tomate y *Raphanus sativus* rabanito.

### 2.0. TOMA DE MUESTRA Y TRANSPORTE

La toma de muestra se realizó una vez por semana en los mercados antes mencionados durante los meses de Enero a Octubre del 2003. Las muestras se tomaron empleando primero el muestreo estratificado y luego el muestreo aleatorio o al azar, a fin de asegurar una representación de todas y cada una de las partes del lote. Se colocaron en bolsas de polietileno de primer uso, luego se sellaron con cinta adhesiva y se transportaron de inmediato al Laboratorio de Bacteriología de la Universidad Nacional de Trujillo.

### 3.0. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS.

#### AISLAMIENTO

- Se pesó asépticamente en recipientes estériles 25 g de muestra cortada en pequeños trozos; porciones tomadas de diferentes áreas, para que sea representativa de la muestra en estudio (1,7).
- Al recipiente que contenía los 25 g de muestra se agregó 225 ml de Agua Peptonada Alcalina (APA pH 8,6), como medio de enriquecimiento y se mezcló cuidadosamente: suspensión madre (7).
- Se incubó la suspensión a 35 - 37°C durante 6 horas (12).

- Se sembró una asa del medio de enriquecimiento: suspensión madre, en la superficie de cada uno de los siguientes medios de aislamiento selectivos (medios sólidos en placa): Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), Agar Mac Conkey y Agar Gelatina. Se sembró en estría para que pudieran crecer colonias aisladas (7).
- Las placas se incubaron a 35 - 37°C durante 18 - 24 horas (7).
- De las colonias aisladas con características macroscópicas típicas de *V. cholerae* se hizo observaciones microscópicas con tinción de Gram y en gota pendiente para ver la morfología y movilidad características (7,14).
- Las colonias típicas aisladas en los medios sólidos en placa se repicaron a tubos con Tryptic Soy Agar (TSA), los que se incubaron a 35 - 37°C por seis horas para obtener cultivos puros, que sirvieron para hacer la identificación bioquímica presuntiva, confirmativa y la identificación serológica (15).

#### IDENTIFICACION BIOQUIMICA PRESUNTIVA

Se realizó sembrando en los medios TSI (o KIA) y LIA. Además se hizo las pruebas Ox-ferm, Oxidasa, Catalasa, String test, Movilidad (SIM) e Indol (12,14,16).

#### IDENTIFICACION BIOQUIMICA CONFIRMATIVA

Se hizo mediante las pruebas de Tolerancia a la sal (NaCl), Lisina, Arginina, Ornitina, Glucosa, Lactosa, Sacarosa, Manitol, Inositol, Manosa, ONPG y Sensibilidad a O/129 (17,18,19). También se hizo la diferenciación de los biotipos de *V. cholerae* O1 clásico y El Tor (7).

#### IDENTIFICACION SEROLOGICA

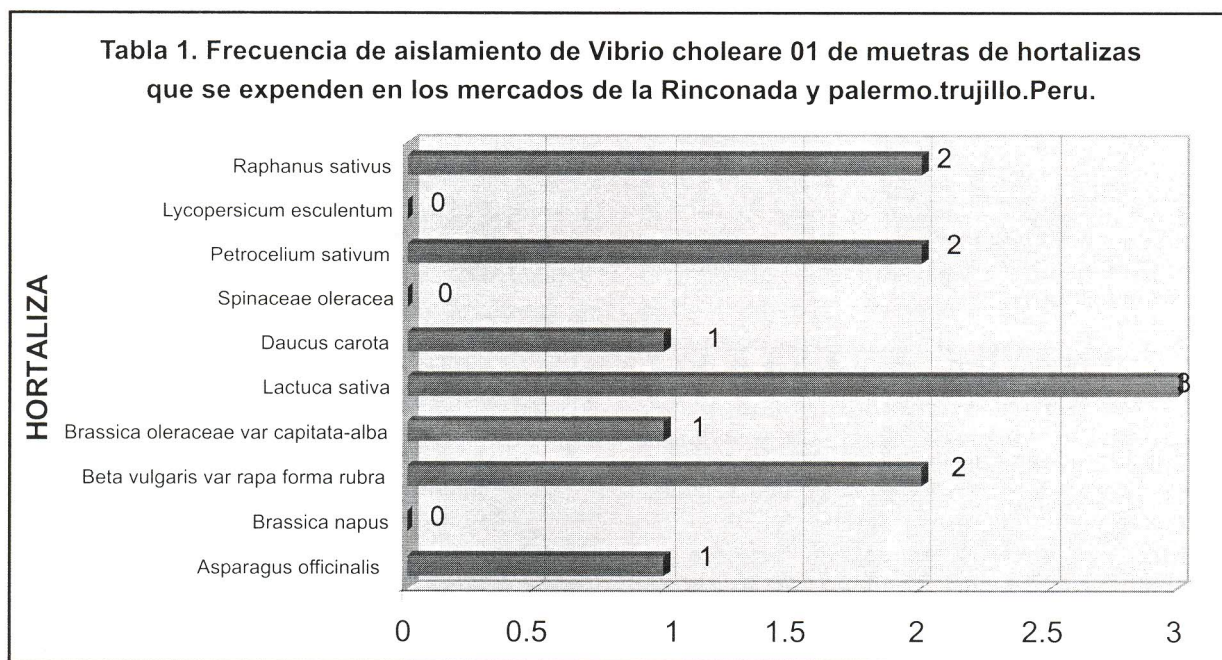
Se realizó empleando *Vibrio cholerae* antisuero polivalente O1, *Vibrio cholerae* antisuero Ogawa y *Vibrio cholerae* antisuero Inaba, mediante el procedimiento descrito por los Centers for Disease Control (9, 20).

### RESULTADOS

De las 1 000 muestras de hortalizas procedentes de los mercados La Rinconada y Palermo se aisló *V. cholerae* O1 biotipo El Tor, obteniéndose una frecuencia de aislamiento de 1,2 %; lográndose aislar de espárrago, beterraga, repollo, lechuga, zanahoria, perejil y rabanito; no habiéndose aislado de nabo, espinaca y tomate (Tabla 1).

De los aislamientos positivos de *V. cholerae* O1, según el mercado de procedencia se obtuvieron 5 (1,0%) de La Rinconada y 7 (1,4%) de Palermo (Tabla 2).

De las 12 (1,2%) muestras positivas, 0 (0,0%) correspondió al serotipo Ogawa, 11 (1,1%) al serotipo Inaba y 1 (0,1%) al serotipo Hikojima (Tabla 3).



**Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de *Vibrio cholerae* O1 según especie de hortaliza y su procedencia de dos mercados de la ciudad de Trujillo, Perú.**

Hortaliza	Procedencia de la muestra					
	Mercado "La Rinconada"			Mercado "Palermo"		
	Muestras Examinadas	Muestras positivas	%	Muestras examinadas	Muestras positivas	%
<i>Asparagus officinalis</i>	50	0	0,0	50	1	0,2
<i>Brassica napus</i>	50	0	0,0	50	0	0,0
<i>Beta vulgaris</i> var rapa forma rubra	50	1	0,2	50	1	0,2
<i>Brassica oleraceae</i> var capitata-alba	50	1	0,2	50	0	0,0
<i>Lactuca sativa</i>	50	1	0,2	50	2	0,4
<i>Daucus carota</i>	50	1	0,2	50	0	0,0
<i>Spinaceae oleracea</i>	50	0	0,0	50	0	0,0
<i>Petrocelium sativum</i>	50	1	0,2	50	1	0,2
<i>Lycopersicum esculentum</i>	50	0	0,0	50	0	0,0
<i>Raphanus sativus</i>	50	0	0,0	50	2	0,4
<b>TOTAL</b>	<b>500</b>	<b>5</b>	<b>1,0</b>	<b>500</b>	<b>7</b>	<b>1,4</b>

**Tabla 3. Serotipos de *Vibrio cholerae* O1 aislados de hortalizas que se expenden en los mercados "La Rinconada" y "Palermo" de la ciudad de Trujillo, Perú.**

HORTALIZA	SEROTIPOS			
	Ogawa	Inaba	Hikojima	Total
<i>Asparagus officinalis</i>	0	1	0	1
<b>Brassica napus</b>	0	0	0	0
<b>Beta vulgaris</b> var <i>rapa</i> forma <i>rubra</i>	0	2	0	2
<i>Brassica oleraceae</i> var <i>capitata-alba</i>	0	1	0	1
<i>Lactuca sativa</i>	0	2	1	3
<i>Daucus carota</i>	0	1	0	1
<i>Spinaceae oleraceae</i>	0	0	0	0
<i>Petrocelyum sativum</i>	0	2	0	2
<i>Lycopersicum esculentum</i>	0	0	0	0
<i>Raphanus sativus</i>	0	2	0	2
<b>TOTAL</b>	0 (0,0%)	11 (1,1%)	1 (0,1%)	12

## DISCUSIÓN

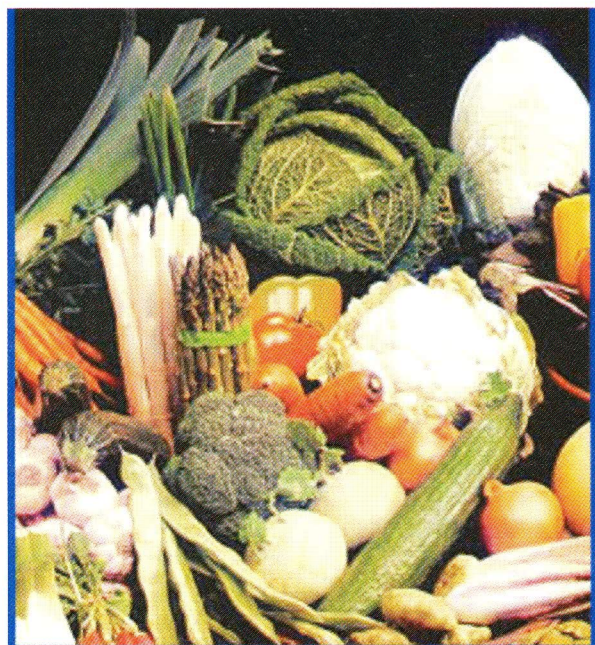
En los países en desarrollo, el consumo de hortalizas puede presentar riesgo para la salud humana, principalmente aquellas que se riegan con aguas residuales no tratadas (Mossel et al., 1985). Algunos estudios que se han realizado en países con problemas de salud reportan aislamientos de patógenos entéricos de agua, bebidas, frutas, heces, etc. (21).

En el presente estudio con 1 000 muestras de hortalizas, se demuestra la presencia de *V. cholerae* O1 en 12 muestras alcanzando una frecuencia de 1,2%. Esta frecuencia de aislamiento no guarda relación con lo encontrado por Córdova, quien reporta 53% de positividad, considerado demasiado alta, tal vez por el hecho de que trabaja solamente dos meses (Marzo y Abril) del año 1993; en cambio la presente investigación abarcó 10 meses (Enero a Octubre) del año 2003, o sea que se ha realizado en diferente tiempo y condiciones. Sin embargo cabe indicar que la frecuencia de aislamiento de este microorganismo, relativamente baja (1,2%) a pesar que se ha examinado gran número de muestras, está al parecer en relación estrecha con el número cada vez menor de casos de cólera registrados en los establecimientos de salud de Trujillo.

En relación a la frecuencia de aislamiento de *V. cholerae* O1 según el mercado de procedencia de la muestra se encontró en el mercado "La Rinconada" una frecuencia de 1,0% y en el mercado "Palermo" una frecuencia de 1,4%. Estos resultados se relacionan en cierto modo con los obtenidos al investigar la presencia de patógenos entéricos como *Salmonella* en hortalizas que se expenden en Trujillo (22), en donde se obtuvo aislamientos positivos en los mismos mercados en los que se ha

encontrado *V. cholerae* O1.

La presencia de *V. cholerae* O1 se debería a que las raíces, los tallos y hojas de crecimiento bajo de las hortalizas se pueden contaminar fácilmente cuando se utilizan aguas servidas para su riego (5,13) o cuando al cosecharlas son lavadas en las acequias con aguas polucionadas antes de transportarlas al mercado. El transporte también es inapropiado, se hace en vehículos y triciclos no protegidos de la contaminación, se almacenan en el suelo, los puestos de ventas son mesas que no se lavan frecuentemente, están cerca a lugares donde se arroja basura y en donde abundan vectores como moscas, cucarachas, hormigas, etc. También hay que tener en cuenta que estas hortalizas son mojadas o "refrescadas" con agua contaminada



(8,10) para darles la apariencia de estar frescas y la manipulación y venta se hace con las manos sucias; siendo esto el común denominador en los mercados La Rinconada y Palermo. La presencia de *V.*

*cholerae* O1 se debería a que estas hortalizas se cultivan, transportan y expenden en malas condiciones higiénicas sanitarias, siendo un riesgo potencial para la salud humana.

## CONCLUSIONES

- \* La frecuencia de aislamiento de *V. cholerae* O1 encontrada en hortalizas que se expenden en los mercados estudiados es relativamente baja 1,2% pero muy significativa, debido al poder patógeno de esta bacteria, a su elevada tasa de morbimortalidad y a su gran capacidad de diseminación a través del agua y los alimentos.
- \* *V. cholerae* O1 no debería estar presente en estas especies de hortalizas que generalmente se consumen crudas; su presencia contribuye a la indemicidad del cólera de la ciudad de Trujillo, siendo necesario un estricto control sanitario de estas hortalizas a fin de evitar potenciales brotes epidémicos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pascual, M. 1992. Microbiología alimentaria. Edit. Díaz de los Santos. Madrid. España.
2. Brock, T. y M. Madigan. 1998. Microbiología 8va. ed. Prentice Hall Hispanoamérica. México.
3. Olarte, J. 1992. Etiología de las diarreas infecciosas: viejos y nuevos agentes. Boletín Médico del Hospital Infantil de México. 49(3):143-149.
4. Jay, J. 1993. Microbiología moderna de los alimentos. 3ra. ed. Acribia. S.A. Zaragoza. España.
5. Frazier, W. y D. Westhoff. 1993. Microbiología de los alimentos. 4ta. ed. Acribia S.A. Zaragoza. España.
6. Benites, S. 1991. Características epidemiológicas del cólera en la ciudad de Trujillo-Peru, aspectos bioquímicas y serológicos del *Vibrio cholerae*. Tesis Br. Microbiología. UNT.
7. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1993. Microorganismos de los alimentos. 2da. ed. Acribia S.A. Zaragoza. España.
8. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 1991. Riesgo de transmisión del Cólera por alimentos. Boletín Epidemiológico. 12 (1):21-24.
9. Centers for Disease Control (CDC). 1988. *Vibrio cholerae* O1. Reference Antisera. US. Department of Health and Human Services. Georgia. GA. EE.UU.
10. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 1992. Programa Regional de Control de Enfermedades Diarreicas. Pautas para el control del Cólera. Grupo CID. Ministerio de Salud Pública del Perú (UNICEF) 1-6.
11. Mossel, D. y B. Moreno. 1985. Microbiología de los alimentos. Acribia S.A.. Zaragoza. España.
12. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1998. Microorganismos de los alimentos. Acribia S.A. Zaragoza. España.
13. Pan American Health Organization (PAHO). 1996. Cholera situation in the Americas. 2(1):17-23.
14. Instituto Nacional de Salud (INS). 1991. Manual de Laboratorio. Colera. Normas técnicas. N° 2. Lima. Perú.
15. Instituto Nacional de Salud (INS). 1994. Manual de Procedimientos para el diagnóstico del Cólera. Lab. Nac. de Referencia de Enteropatógenos. Lima. Perú.
16. Merck. 2000. Microbiology Manual. Darmst. Alemania.
17. Farmer, J., F. Hickman y M. Kelly. 1991. *Vibrio*. In : Lennette, A.; A. Ballows y H. Shadomy. Manual of Clinical Microbiology. Washington. EE.UU.
18. Mac Faddin, J. 1983. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2da. ed. Williams y Wilkins. Baltimore. London.
19. Koneman, E., D. Allen, V. Dowell, W. Janda, P. Schrecckenberger y W. Winn. 1999. Diagnóstico Microbiológico. 5ta. ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
20. Centers for Disease Control (CDC). 1991. Cholera in Peru. MMWR 40(6).
21. Carpenter, C. 1990. Mechanisms of bacterial diarrheas. Am. Journal of Medicine. 1990: 68-313.
22. Calonge, F. 1995. Investigación de *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* en hortalizas que se expenden en tres mercados de la ciudad de Trujillo, Perú. Tesis de Biologo-Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.