

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**"PREVALENCIA DE (*Vibrio cholerae*) EN MARISCOS EXPENDIDOS EN LOS
MERCADOS DE LA CIUDAD DE HUÁNUCO - 2018"**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

TESISTA:

Bach. Wilfredo SANTILLÁN PÉREZ.

ASESOR:

Mg. Miguel Ángel CHUQUIYAURI TALENAS

HUÁNUCO - PERÚ

2018

DEDICATORIA

Dedico este trabajo; en primer lugar, a Dios, que nos brinda sabiduría y que nuestro esfuerzo será bien recompensado; y a mis padres que siempre me brindaron con su apoyo, consejos y estuvieron incondicionalmente.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme otorgado una familia maravillosa, quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándome a valorar todo lo que tengo. Lo que ha contribuido a la consecución de este logro. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

Agradecer a la universidad que nos abrió las puertas para ser mejores personas y buenos profesionales.

A los catedráticos que con el pasar de los años se convirtieron en nuestro ejemplo a seguir.

A mis compañeros ya que con ellos vivimos buenos y malos momentos que solo se viven dentro de la universidad.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue identificar la presencia o ausencia de *Vibrio cholerae* en mariscos expedidos en los principales mercados de Huánuco -Perú, 2019; fue una investigación observacional directa, se analizaron un total de 30 muestras entre marisco mixto, choros y camarones, sembrados en agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) para determinación de *Vibrio cholerae* y luego identificado mediante pruebas bioquímicas. Además de realizar una ficha epidemiológica para saber el modo de expendio de estos alimentos por parte de los comerciantes. El resultado obtenido fue del 100% de crecimiento en el medio TCBS, luego se realizaron las pruebas bioquímicas resultando positivas a *Vibrio cholerae* lo que se relaciona con las malas prácticas de manipulación de los comerciantes al momento de vender estos productos al público, lo que resulta en un potencial peligro para la salud pública, trayendo consigo enfermedades grato intestinales muy peligrosos para los consumidores.

Palabras clave: Marisco, *Vibrio cholerae*, expendio.

SUMARY

The objective of the study was to identify the presence or absence of *Vibrio cholerae* in shellfish issued in the main markets of Huánuco - Perú, 2019; It was a direct observational investigation, a total of 30 samples were analyzed among mixed shellfish, choros and shrimp, seeded on TCBS agar (thiosulfate citrate bile sucrose) for determination of *Vibrio cholerae* and then identified by biochemical tests. In addition to making an epidemiological record to know how to sell these foods by traders. The result obtained was 100% growth in the TCBS medium, then the biochemical tests were carried out, positive for *Vibrio cholerae*, which is related to the bad handling practices of the merchants when selling these products to the public, which results in a potential danger to public health, bringing with it very dangerous gastrointestinal diseases for consumers.

Keywords: Shellfish, *Vibrio cholera*, expense.

ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	V
SUMARY	vi
INDICE	vii
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO TEORICO	3
1.1. Antecedentes:	3
1.2. Hipótesis.	8
1.3. Variables.	8
1.4. Objetivos, población y muestra.	9
II. MARCO METODOLÓGICO	10
2.1. METODOS, TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE DATOS.	10
2.1.1. Método.	10
2.1.2. Materiales:	10
2.1.3. Técnicas.	11
2.1.4. Instrumentos.	11
2.2. FUENTES, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS:	11
2.2.1. Fuentes:	11
2.2.2. Técnicas:	12
2.3. ANÁLISIS, PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE DATOS:	15
III. DISCUSION DE RESULTADOS	16
3.1. DESCRIPCION DE RESULTADOS.	16
DISCUSION	24
CONCLUSIONES	26
SUGERENCIAS	27
BIBLIOGRAFÍA	28
ANEXOS	31

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Frecuencia y porcentaje de contaminación por <i>V. cholerae</i> mariscos expendidos en mercados de Huánuco mediante el cultivo en agar TCBS.	16
Tabla 2: Procedencia de la muestra de estudio	18
Tabla 3: Procedencia del total de muestras.	19
Tabla 04: Resultado significativo de la identificación e higiene del manipulador de mariscos	20
Tabla 05: Resultado significativo de la exposición de la identificación y características del puesto y enseres.	21
Tabla 06: Resultado significativo de las características de buenas prácticas de manufactura	22

LISTA DE GRÁFICOS

	Pag.
Gráfico 1. Frecuencia y porcentaje de contaminación por <i>V. cholerae</i> mariscos expendidos en mercados de Huánuco mediante el cultivo en agar TCBS.	16

LISTA DE IMÁGENES

	Pag.
Imagen 1: Mercado de Paucarbamba	33
Imagen 2: Mercado Modelo de Huánuco	33
Imagen 3: Mercado Las Moras	34
Imagen 4: Mercado Mollecito.	34
Imagen 5: Recolección de las muestras de marisco de mercado de Paucarbamba	35
Imagen 6: Recolección de muestras de marisco del mercado modelo	35
Imagen 7: Preparación de medio TCBS para Vibrio.	36
Imagen 8: Agua peptona alcalina (APA)	36
Imagen 9: Siembra de las muestras de marisco en el medio TCBS	37
Imagen 10: Incubación de las muestras en el medio TCBS por 24 horas.	37
Imagen 11: Crecimiento bacteriano en el medio TCBS después de 24 horas de incubación	38
Imagen 12: Crecimiento bacteriano de Vibrio sp en el medio TCBS después de 48 horas.	38
Imagen 13: Resultado de las pruebas bioquímicas.	39

INTRODUCCIÓN

La incidencia de enfermedades por consumo de mariscos contaminados, especialmente ostras crudas, es un problema primario de la industria alimenticia y de salud pública **(Kelly y Stroh, 1988)**.

Las bacterias *Vibrio spp.* Son gram negativas, facultativamente anaeróbicas, motrices, en forma de bastón curvilíneo, con un único flagelo polar. El género comprende al menos doce especies patógenas para los seres humanos, ocho de las cuales pueden causar, o estar asociados con enfermedades transmitidas por alimentos. La mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos son causadas por *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* o *Vibrio vulnificus* **(Oliver y Kaper, 1997)**; La mayoría de los países tienen directrices para detectar *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* O1 y O139 en los mariscos, mientras que pocos las tienen para *V. vulnificus*.

Algunas especies se asocian principalmente con enfermedades gastrointestinales (*V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*), mientras que otras pueden causar enfermedades no intestinales, como la septicemia (*V. vulnificus*). En las regiones de clima tropical y templado, las especies de vibrio que causan enfermedades están presentes naturalmente en el medio marino, costero y estuarino (salobre). Los vibrios patógenos, en particular *V. cholerae*, también pueden recuperarse de las cuencas de agua dulce de los estuarios **(Desmarchelier, 1997)**, donde además pueden introducirse por contaminación fecal. La presencia de estas bacterias no suele guardar relación con el número de coliformes fecales y puede que la depuración del marisco no reduzca el número de éstas. No obstante, es posible encontrar una correlación positiva

entre la contaminación fecal y los niveles de *V. cholerae* en zonas donde se dan brotes de cólera. También se ha demostrado en varias partes del mundo que existe una correlación positiva entre la temperatura del agua y el número de vibrios. Por otra parte, según datos procedentes de los Estados Unidos de América y Dinamarca, existe una correlación positiva entre la temperatura del agua y el número de vibrios aislados que son patógenos para los seres humanos, y entre aquélla y el número de infecciones humanas notificadas. **(Cato, 1998).**

La mayoría de las epidemias de enfermedades alimenticias son producidas por *Vibrio* sp., el cual es autóctono o proviene del medio marino, y han ocurrido por almacenamiento inadecuado o contaminación de fuentes de alimentos crudos **(Berry et al, 1994).**

Durante los meses de verano, la prevalencia de *Vibrios* patógenos **(Sarkar et al, 1987)** y halofílicos en alimentos marinos constituye un peligro para la salud pública en países subtropicales **(Leyva et al, 1996).**

Vibrio cholerae es una importante causa de cólera en los humanos, causando formas severas como diarrea profusa, vómitos y dolores musculares. La transmisión de este organismo está asociada con el consumo de alimentos contaminados, principalmente de origen marino, y con frecuencia de aguas contaminadas **(Gatti y Estacio, 1991).**

I. MARCO TEORICO

1.1. Antecedentes:

En el estudio realizado en México se analizaron un total de 260 muestras de almejas obtenidas a lo largo de un ciclo anual, en la porción norte del Estado de Veracruz, Golfo de México, se estudiaron para determinar la presencia de *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae* y organismos coliformes fecales. La metodología usada fue la recomendada por el Manual de Bacteriología Analítica de la Administración de Alimentos y Medicamentos (BAM-FDA). Del total de las muestras analizadas, en el 7% se aisló *Vibrio cholerae* 01 (Inaba toxigénico), *Salmonella spp.* En el 11%, *Vibrio cholerae* no 01 en el 21.5% y el 100% de las almejas presentó coliformes fecales. Durante todo el período de muestreo, fue posible aislar a los microorganismos en estudio, teniendo la mayor contaminación en los meses de verano. La presencia de organismos patógenos manifiesta la contaminación y el riesgo del consumo de estos productos. La incidencia de organismos coliformes fecales señala por lo general asentamientos humanos mal planificados que facilitan la contaminación del agua con heces. **(Quiñones et al, 2000).**

En el estudio realizado en el Golfo de México se ha reportado la presencia de *Vibrio cholerae* 01 Inaba (ctx+) durante la época de lluvias (julio-septiembre) en 100% de las muestras de ostiones (*Crassostrea virginica*) extraídos de las lagunas: la Mancha y Alvarado, Veracruz. Los estudios en el ostión (*C. virginica*) extraído del sistema lagunar

Mandinga, Veracruz, durante los años 2008 - 2012, indican la influencia de la época estacional en la presencia de genes patogénicos. El análisis de exposición a *V. cholerae* no-O/no-139 en el ostión cosechado de esta laguna mostró un mayor riesgo relativo (0.6) relacionado con la temporada de estiaje, indicando que existen más probabilidades de que una persona se enferme por el consumo de ostiones contaminados durante los meses de marzo, abril, mayo y junio, Con respecto a la patogenicidad, 25% de 200 UFC/g ambientales de *V. cholerae* no-O1/no-O139 en muestras de ostiones presentaron el gen *chxA* patogénico. **(Pardío et al, 2012).**

En el estudio realizado por Bryan Canal tuvo como objetivo evaluar, aislar e identificar bacterias del genero *Vibrio* en muestras de *Aulacomya atra* “choro” procedentes del terminal pesquero de Villa María del Triunfo, Lima, Perú, que los vinculan con brotes de afecciones entéricas. Se analizaron un total de 30 muestras del molusco bivalvo. Se centró el interés por especies del género *Vibrio*, utilizándose la metodología recomendada por la “Food and Drug Administration” (FDA) y “Bacteriological Analytical Manual” (BAM) para el aislamiento de *Vibrio* en muestras de origen marino. De las 30 muestras analizadas se aislaron un total de 8 cepas de *Vibrio*, con predominancia *Vibrio alginolyticus*. No hubo presencia de *Vibrio cholerae*. Siete cepas correspondieron a *Vibrio alginolyticus* y 1 cepa a *Vibrio parahaemolyticus*, responsable de la gastroenteritis por el consumo de mariscos crudos o poco cocidos. **(Bryan C. et al 2017)**

El estudio realizado por José Franco Monsreal, tuvo como objetivo el determinar si los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo por las especies *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria. Se obtuvo un listado de 38 establecimientos especializados en la venta de alimentos marinos para consumo humano. El número de alimentos marinos en dichos establecimientos fue 400. Para la homogeneización y el enriquecimiento de cada muestra, así como para el aislamiento y la identificación de las especies se procedió según la metodología descrita en el Bacteriological Analytical Manual (**FDA, 1992**). Por el método de Cornfield se construyeron intervalos de estimación al nivel de confianza del 95%. De las 400 muestras estudiadas en 22 (5.50%), 14 (3.50%), 10 (2.50%), 16 (4.00%), 12 (3.00%), 10 (2.50%), 15 (3.75%), 12 (3.00%), 16 (4.00%), 26 (6.50%) y 25 (6.25%) muestras se aisló un número igual de cepas cuyas características bioquímicas correspondieron a *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. Se concluye que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente

cocidos con calor representan factores potenciales de riesgo para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria. **(José Franco-Monsreal, et al, 2014)**

En el estudio realizado por Virginia L. Castillo se analizaron 100 muestras de ostiones frescos para la determinación cualitativa de *Vibrio cholerae*. En el 95 % de las muestras analizadas se aislaron 275 cepas del género *Vibrio*, de las cuales 69 fueron *Vibrio cholerae* no-o1, 22 fueron *Vibrio cholerae* no-o1 grupo II de Heiberg, una fue de *Vibrio mimicus* y 183 fueron *Vibrio* sp halófilos. **(Virginia L. C. et al, 1996)**

En la tesis realizada por Rosado Salazar, Armando A. cuyo objetivo del estudio fue la detección, tanto fenotípica como molecular de estas especies en la acuicultura langostinera. Se obtuvieron 61 aislados de *Vibrio* de langostinos de crianza de la región Tumbes. Se realizaron dos pruebas bioquímicas para la diferenciación presuntiva a nivel de especie: Fermentación de Sacarosa y Halotolerancia, obteniéndose 8 cepas de *Vibrio cholerae*, 3 cepas de *V. mimicus*, 11 cepas de *V. harveyi*, 9 cepas de *V. vulnificus*, 8 cepas de *V. parahaemolyticus* y 9 cepas de *V. alginolyticus*. Mediante PCR Múltiple, usando cebadores específicos para cada especie, se obtuvieron: 8 cepas de *Vibrio mimicus*, 17 cepas de *V. parahaemolyticus* y 4 cepas de *V. alginolyticus*.

Los resultados obtenidos permiten actualizar la información referente a las especies de *Vibrio* presentes en la acuicultura langostinera. Finalmente, la implementación del protocolo de PCR Múltiple permitirá conocer de manera precisa y con mayor rapidez la presencia de especies de *Vibrio* con potencial patogénico para la industria langostinera, realizar estudios de prevalencia y toxicidad de estos microorganismos y tomar adecuadas medidas preventivas. **(Rosado Salazar, Armando A., 2019)**

En el trabajo realizado por Quevedo y colaboradores, los autores discuten los efectos de la reciente epidemia del cólera sobre la comercialización y consumo de productos pesqueros para los países sudamericanos. Se discute igualmente el riesgo real de transmisión del cólera por alimentos y por consumo de productos pesqueros, y se proponen las bases para efectuar la correspondiente evaluación de riesgos.

Finalmente, se presentan brevemente las medidas de prevención que se recomiendan para evitar la transmisión del cólera por productos pesqueros. **(F. Quevedo, et al, 1997)**

En el estudio realizado por la FAO, menciona que Prestar asesoramiento científico a los países miembros de la FAO y la OMS sobre la evaluación de riesgos de *Vibrio spp.* En pescados y mariscos sobre la base de la documentación disponible y de los debates mantenidos tuvieron lugar durante la Consulta de Expertos. Donde se admitió que era difícil adaptar el modelo de *V. parahaemolyticus* en

ostras (basado en la variable predictiva de temperatura-número de *V. parahaemolyticus*) al modelo de cepas O1 y O139 de *V. cholerae* coleragénicas en camarones de aguas templadas debido a la falta de una variable predictiva adecuada para el número de *V. cholerae* en camarones, y, por tanto, se requeriría mucho trabajo para elaborar un modelo completamente nuevo. **(FAO, 2002)**

1.2. Hipótesis.

Hi: Existe prevalencia del *Vibrio cholerae* en mariscos expendidos en los mercados de la ciudad de Huánuco.

Ho: No existe prevalencia del *Vibrio cholerae* en mariscos expendidos en los mercados de la ciudad de Huánuco.

1.3. Variables.

Variable dependiente

Presencia de *Vibrio cholerae* en mariscos.

Variable independiente

Manipulación local de los mariscos asociados a la contaminación en el expendio en los mercados.

1.4. Objetivos, población y muestra.

1.4.1. Objetivo general:

- Determinar la prevalencia de *Vibrio cholerae* en mariscos expendidos en los mercados de la ciudad de Huánuco.

1.4.2. Objetivos específicos:

- Describir la presencia de *Vibrio cholerae* en los mercados de la ciudad de Huánuco.
- Describir el expendio de mariscos en los mercados de la ciudad de Huánuco.
- Describir las variables epidemiológicas vinculado al *Vibrio cholerae* y el expendio de mariscos en los mercados de la ciudad de Huánuco.

1.4.3. Población y muestra:

- **Población:**

Mercado Modelo ----- 10 puestos

Mercado Central ----- 1 puesto

Mercado de Abastos Paucarbamba ----- 8 puestos

Mercado las moras ----- 1 puesto

- **Muestra:** De cada puesto se recolectaron 100 g de cada tipo de marisco disponible. Llegando a un total de 30 muestras
- **Muestreo:** El muestreo es no aleatorizado por conveniencia.

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1. METODOS, TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE DATOS.

2.1.1. Método.

Análisis microbiológico mediante Cultivo e Identificación de microorganismos.

2.1.2. Materiales:

- 30 muestras de mariscos.
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL y 1000 mL.
- Agua peptonada alcalina (APA) con pH=8.6.
- Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa).
- tubos de 16 x 150.
- Mechero Bunsen.
- 1 pipeta estéril con algodón de 1.0, 5.0 y 10.0 mL.
- Pipetas Pasteur estériles.
- Caja de Petri estéril.
- Incubadora.
- Balanza.
- Cucharas estériles u otros instrumentos apropiados para transferir muestras de alimentos.
- Asas bacteriológicas de 3 mm de diámetro.
- Tijeras y pinzas estériles

2.1.3. Técnicas.

Determinación de *Vibrio sp.*, Manual de Análisis Microbiológico de Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos **(FDA, 1992)**.

2.1.4 Instrumentos.

Ficha de recolección de muestras.

2.2. FUENTES, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

2.2.1. Fuentes:

Se compró el marisco surtido de los puestos de los mercados y luego se colectaron en bolsas nuevas de polietileno. Las muestras se identificaron usando una rotulación donde se describa la fecha, hora, número y mercado del que se tomó la muestra, sellándose para su transporte hacia el Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNHEVAL. Se tomó una muestra para el análisis de acuerdo lo que se describe en el Manual de Análisis Microbiológico de Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos **(FDA, 1992)**.

2.2.2. Técnicas:

Enriquecimiento:

El principal medio para el enriquecimiento de *V. cholerae* en crustáceos y moluscos bivalvos frescos, refrigerados o congelados es el **agua peptona alcalina (APA)** lo cual contiene: Triptona 30 g, extracto de levadura 10 g, cloruro de sodio 20 g, agua 1 litro, pH 8,6.

Procedimiento en crustáceos:

- Se recolectó las muestras del mercado en una bolsa ziplok.
- Se preparó un matraz Erlenmeyer 225 mL de APA.
- Se añadió a la bolsa de la muestra aproximadamente 20 ml de APA.
- Se homogenizó por un espacio de 2 min y llevado a la incubadora a 35°C por 24 h.
- Después de la incubación y sin agitar el sobrenadante, se tomó con el asa bacteriológica un inóculo de la muestra para realizar el aislamiento en el medio de cultivo TCBS.

Procedimiento en moluscos bivalvos:

- Se recolectó las muestras de moluscos del mercado en una bolsa ziplok.

- Se procedió a separar las valvas de los moluscos dentro de las bolsas.
- Se preparó un matraz Erlenmeyer 225 mL de APA.
- Se añadió a la bolsa de la muestra aproximadamente 20 ml de APA.
- Se homogenizó por un espacio de 2 min y llevado a la incubadora a 35°C por 24 h.
- Después de la incubación y sin agitar el sobrenadante, se tomó con el asa bacteriológica un inóculo de la muestra para realizar el aislamiento en el medio de cultivo TCBS.

Siembra:

Preparación del medio AGAR TCBS:

- Apariencia del deshidratado es un polvo homogéneo, suelto y de color beige claro a beige-verde.
- En una balanza se pesó 88 gr del medio de cultivo.
- Se vertió el polvo del agar TCBS en un matraz con 1 Lt de agua destilada.
- En una estufa se calentó la solución agitando frecuentemente y hasta que hirvió por un minuto para disolver completamente el medio.
- Una vez homogenizado se dejó enfriar para luego aplicar en las placas Petri.
- Apariencia del preparado es color verde o verde bosque

y ligeramente opaco.

- No se llevó a la autoclave.
- Se realizó la siembra usando un asa bacteriológica, se extrajo un inóculo y se pasó a la placa Petri mediante siembra en estrías.
- Se llevó a la incubadora a 35°C durante 24 horas.
- Se observó las colonias de 2 a 3 mm de diámetro, color amarillo, lisas, con centro opaco, periferia traslúcida, sin halo negro. Compatible con *Vibrio cholerae*.

Confirmación.

- Se realizó las pruebas de confirmación utilizando los medios TSI (Hierro-Triple Azúcar), LIA (Lisina Hierro Agar) y AGAR HIERRO KLIGLER.
- Con el asa bacteriológica con punta recta se tomó una colonia y se inóculo en los medios descritos.
- Estos medios se llevaron a incubar 35°C durante 24 horas.
- Pasado el tiempo se realizó la lectura.
- En la lectura se observó crecimiento bacteriano, presencia de gas. Lo que indica presencia de *Vibrio cholerae*.

2.3. ANÁLISIS, PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE DATOS:

Técnicas de recojo

Se realizará un muestreo aleatorio en los mercados, donde se expenden mariscos en la ciudad de Huánuco (principales mercados), para lo cual se registrarán todos los datos en una ficha de recolección de muestras, identificación de procedencia, identificación del vendedor y/o manipulador y características de expendio. Previamente elaborado y validado por expertos (Ver anexo).

III. DISCUSION DE RESULTADOS

3.1. DESCRIPCION DE RESULTADOS.

3.1.1. Análisis descriptivo de los resultados.

Los resultados a *Vibrio cholerae* de los mariscos mediante los cultivos en medio TCBS, se obtuvo que del total de muestras analizadas (N=30), el 100% dieron positivo a *V. cholerae*. (tabla1, grafico 1)

Tabla 1. Frecuencia y porcentaje de contaminación por *V. cholerae* mariscos expendidos en mercados de Huánuco mediante el cultivo en agar TCBS.

Resultados a V. cholerae	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	30	100 %
Negativo	0	0 %
Total	30	100%

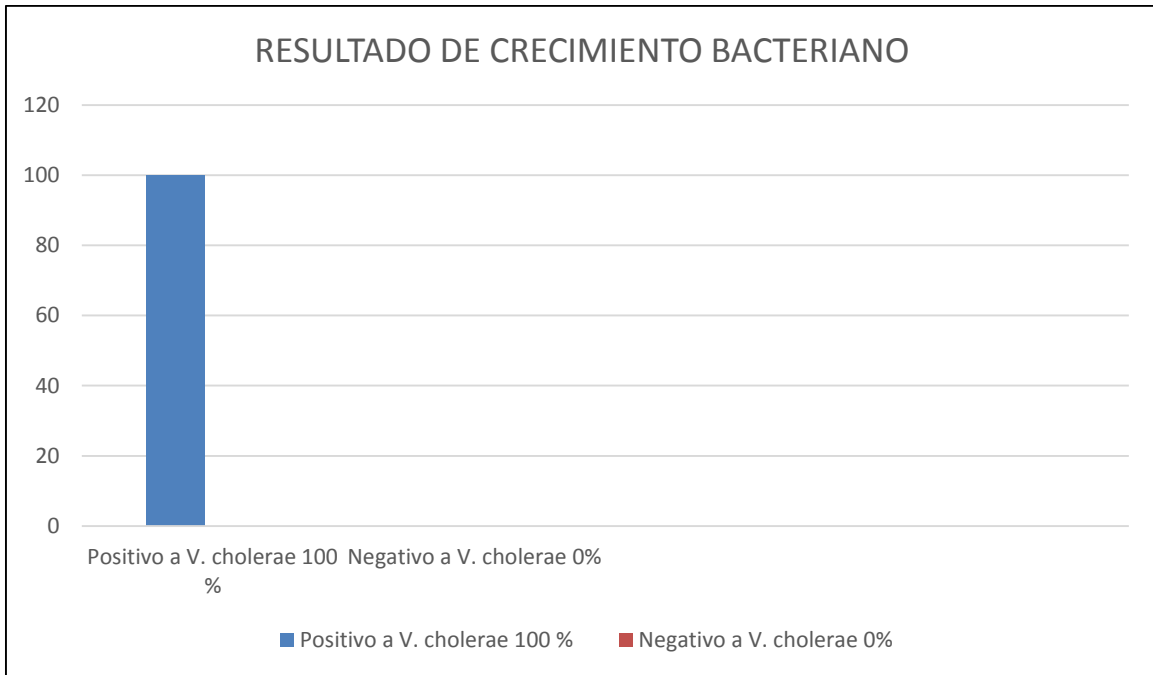


Gráfico 1. Frecuencia y porcentaje de contaminación por V. cholerae mariscos expendidos en mercados de Huánuco mediante el cultivo en agar TCBS.

3.1.1. Presentación de los resultados de la encuesta aplicada a los comerciantes de mariscos en los mercados de Huánuco.

Del total de muestras (N=30) de mariscos que se expenden en los diferentes mercados, el 50 % corresponde al mercado de Paucarbamba (n=15), seguido de mercado Modelo con 40.0% (n=12), las Moras 6,7 % (n=2) y Mollecito 3,3 % (n=1) (tabla 2, gráfico 2). Con respecto al lugar de toma de muestra, el número asignado a cada muestra para la investigación y el lugar de procedencia de la muestra se observa en la tabla 3.

Tabla 2: Procedencia de la muestra de estudio.

Lugar de procedencia de la muestra	Frecuencia	Porcentaje
Mercado Paucarbamba	15	50.0%
Mercado Modelo	12	40.0%
Las Moras	2	6,7%
Mollecito	1	3,3%
Total	30	100,0%

Fuente: Encuesta a comerciantes de los mercados.

Tabla 3: Procedencia del total de muestras.

MUESTRA	MERCADO	NÚMERO DE PUESTO	PIEZA DEL ALIMENTO
1	PAUCARBAMBA	1	MARISCO MIXTO
2	PAUCARBAMBA	2	MARISCO MIXTO
3	PAUCARBAMBA	2	CHOROS
4	PAUCARBAMBA	3	MARISCO MIXTO
5	PAUCARBAMBA	3	CAMARONES
6	PAUCARBAMBA	4	MARISCO MIXTO
7	PAUCARBAMBA	4	CHOROS
8	PAUCARBAMBA	5	MARISCO MIXTO
9	PAUCARBAMBA	6	CAMARONES
10	PAUCARBAMBA	7	MARISCO MIXTO
11	PAUCARBAMBA	8	MARISCO MIXTO
12	PAUCARBAMBA	8	CAMARONES
13	PAUCARBAMBA	9	MARISCO MIXTO
14	PAUCARBAMBA	10	MARISCO MIXTO
15	PAUCARBAMBA	10	CHOROS
16	MERC MODELO	1	MARISCO MIXTO
17	MERC MODELO	1	CHOROS
18	MERC MODELO	2	MARISCO MIXTO
19	MERC MODELO	2	CAMARONES
20	MERC MODELO	2	CHOROS
21	MERC MODELO	3	MARISCO MIXTO
22	MERC MODELO	4	CAMARONES
23	MERC MODELO	5	CHOROS
24	MERC MODELO	6	MARISCO MIXTO
25	MERC MODELO	6	CAMARONES
26	MERC MODELO	7	MARISCO MIXTO
27	MERC MODELO	8	MARISCO MIXTO
28	LAS MORAS	1	MARISCO MIXTO
29	LAS MORAS	2	CHOROS
30	MOLLECITO	1	MARISCO MIXTO

3.1.2. Análisis de los resultados significativos de la encuesta aplicada a los comerciantes de mariscos en los mercados de Huánuco. (Tabla N°)

3.1.2.1. Análisis descriptivo de la identificación e higiene del manipulador de mariscos.

Del total de los puestos (N=21), se observa la forma que expenden los mariscos, en los diferentes mercados se encuentra el 38.1% (n=8) tiene educación secundaria, el 76.2% (n=16) que no cuentan con uniforme completo y limpio para el expendio de mariscos, un total del 66.7% (n=14) no tiene capacitación en manipulación de alimentos (Tabla 04).

Tabla 04: Resultado significativo de la identificación e higiene del manipulador de mariscos.

CATEGORIA MERCADO		SEXO		NIVEL DE EDUCACION				EPISODIO RECIENTE DE ENFERMEDAD		HERIDAS AFECCIONES EN PÍEL MANOS O ROSTRO		MANOS Y UÑAS LIMPIAS, SIN ADORNOS		CUENTA CON UNIFORME COMPLETO Y LIMPIO		TIENE CAPACITACION EN MANIPULACION DE ALIMENTOS	
		H	M	P	S	SC	SE	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PAUCARBAMBA	N	2	8	3	4	2	1		10	1	9	5	5	2	8	2	8
	%	20	80	30	40	20	10		100	10	90	50	50	20	80	20	80
MODELO	N	2	6	2	4	2		2	6	1	7	6	2	3	5	4	4
	%	25	75	25	50	25		25	75	12.5	87.5	75	25	37.5	62.5	50	50
LAS MORAS	N	0	2			2		1	1		2	2			2	1	1
	%	0	100			100		50	50		100	100			100	50	50
MOLLECITO	N	1	0			1			1		1	1			1		1
	%	100	0			100			100		100	100			100		100
TOTAL (N=21)		5	16	5	8	7	1	3	18	2	19	14	7	5	16	7	14
TOTAL %		23.8	76.2	23.8	38.1	33.3	4.8	14.3	85.7	9.5	90.5	66.7	33.3	23.8	76.2	33.3	66.7

3.1.2.2. Análisis descriptivo la exposición de la identificación y características del puesto y enseres.

En cuanto a la exposición del producto se encontró un 52.3% (n=11) no cuenta con una superficie de procesado en buen estado y limpia para exhibir el producto, llevando así a encontrarse que el 57.1 % (n= 12) no tiene un trapo o paño limpio para secar la superficie de exhibición, al 71.4% (n=15) de los puestos cuentan con materiales en buen estado ya que la mayoría cuenta con agua potable. (Tabla 05).

Tabla 05: Resultado significativo de la exposición de la identificación y características del puesto y enseres.

MERCADO	CATEGORIA	SUPERFICIE DE PROCESADO EN BUEN ESTADO Y LIMPIA		EQUIPOS Y UTENSILIOS EN BUEN ESTADO Y LIMPIOS		MESA DE EXPENDIO EN BUEN ESTADO Y LIMPIO		PAÑOS, ESPONJAS, SECADORES LIMPIOS		BASURA BIEN DISPUESTA		CUENTA CON AGUA POTABLE		EXPENDIO DE PESCADOS Y MARISCOS CON OTROS PRODUCTOS	
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PAUCARBAMBA	N	4	6	5	5	8	2	3	7	5	5	10			10
	%	40	60	50	50	80	20	30	70	50	50	100			100
MODELO	N	6	2	8		7	1	5	3	4	4	8			8
	%	75	25	100		87.5	12.5	62.5	37.5	50	50	100			100
LAS MORAS	N		2	1	1	2		1	1		2	1	1		2
	%		100	50	50	100		50	50		100	50	50		100
MOLLECITO	N		1	1			1		1		1		1		1
	%		100	100			100		100		100		100		100
TOTAL (N=21)		10	11	15	6	17	4	9	12	9	12	19	2		21
TOTAL %		47.7	52.3	71.4	28.6	81.0	19.0	42.9	57.1	42.9	57.1	90.5	9.5		100

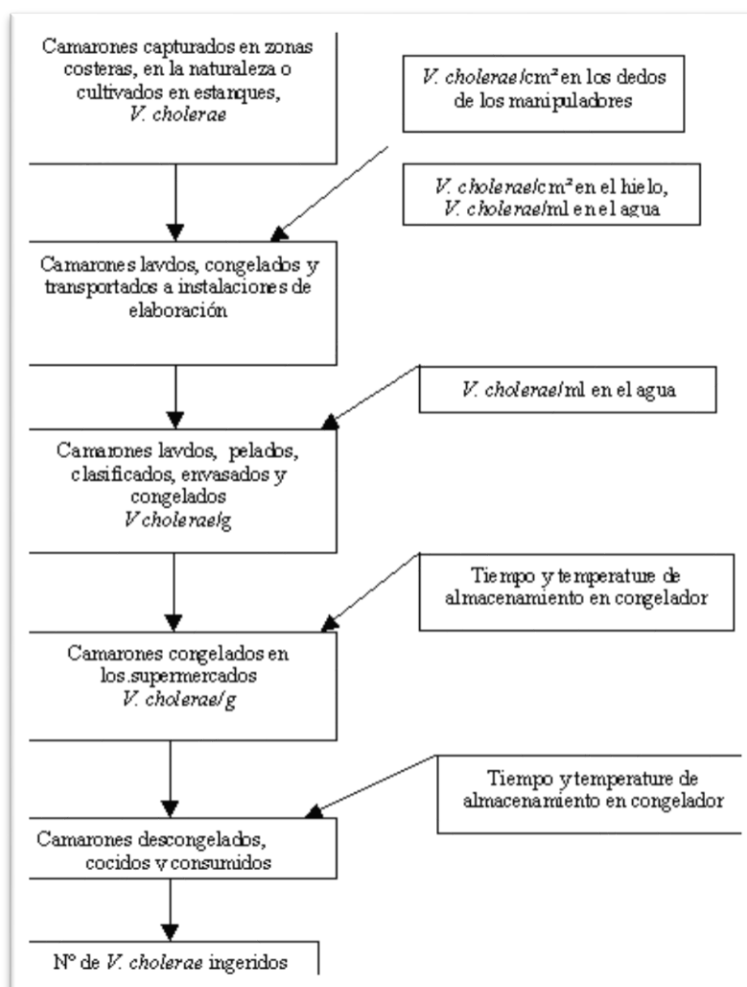
3.1.2.3. Análisis descriptivo de las características de buenas prácticas de manufactura.

En la tabla N° 06 con respecto a las características de buenas prácticas de manufactura se observó que el 100% (n=21) no cuenta con cama de hielo para mantener en exhibición a los mariscos, solo un 9.5% (n=2) protege al alimento exhibido en una vitrina de vidrio, un 76.2% (n=16) no desinfecta los utensilios usados durante todo el día y un 42.9 % (n=9) usa una envoltura adecuada para la exhibición de los mariscos.

Tabla 06: Resultado significativo de las características de buenas prácticas de manufactura.

CATEGORIA		APLICACIÓN DE FRIO EN CAMA DE HIELO		USO DE AGUA SEGURA		PROTEGE EL ALIMENTO EXHIBIDO		DESINFECTA UTENSILIOS, SUPERFICIES Y EQUIPOS		USA ENVOLTURA ADECUADA	
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PAUCARBAMBA	N		10	6	4		10	3	7	4	6
	%		100	60	40		100	30	70	40	60
MODELO	N		8	8		2	6	2	6	5	3
	%		100	100		25	75	25	75	62.5	37.5
LAS MORAS	N		2	1	1		2		2		2
	%		100	50	50		100		100		100
MOLLECITO	N		1		1		1		1		1
	%		100		100		100		100		100
TOTAL (N=21)			21	16	5	2	19	5	16	9	12
TOTAL %			100	76.2	23.8	9.5	99.5	23.8	76.2	42.9	57.1

3.1.2.4. Modelo conceptual para la evaluación de riesgos asociados a *V. cholerae* en mariscos.



Fuente: FAO.ORG

Los factores principales que influyen en el número de *V. cholerae* presente en los mariscos son el tiempo y la temperatura durante la manipulación, elaboración y almacenamiento, sobre distribuciones de tiempo y temperatura en tales condiciones. En concreto, la duración del almacenamiento en congelador antes del consumo reducirá de manera significativa el número de *V. cholerae*. Se disponía de información limitada sobre los niveles de contaminación cruzada fecal durante la manipulación y multiplicación de *V. cholerae* en mariscos crudo.

DISCUSION

- Según los resultados se obtuvo un 100% en crecimiento de *Vibrio* de las muestras analizadas, y estos resultados fueron similares a los obtenidos por Virginia L. C. (et al, 1996), que el 95% de sus muestras. Resultaron positivas a *Vibrio*. De las cuales 65% es *Vibrio cholerae*.
- El manejo en el expendio de los mariscos es deficiente puesto que un 66.7% de los comerciantes no tiene capacitación sobre manipulación de alimentos, y según Quevedo, et al, manifiesta que en un manejo inadecuado de los productos marinos que provienen de aguas contaminadas son un potencial riesgo para que las personas sufran de enfermedades gastroentéricas.
- Según los resultados obtenidos, la falta de un adecuado manejo en el expendio y falta de conocimiento por parte de los comerciantes de buenas prácticas de higiene de los mariscos genera un problema grave para la salud pública y según el estudio de José Franco Monsreal, (et al, 2014) estos factores representan potenciales de riesgo para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído, septicemia primaria y septicemia secundaria de los consumidores.
- No había datos sobre el nivel de *V. cholerae* que podrían transmitir los manipuladores de los mariscos, por ejemplo, con las manos. Lo que se concluyó que si habría contaminación de *V. cholerae* por contaminación cruzada fecal. Así como menciona el estudio de la (FAO, 2002) sobre la evaluación de Evaluación de riesgos de *Campylobacter spp.* en pollos para asar y *Vibrio spp.* en pescados y mariscos. Donde menciona que, sin datos disponibles, se tuvo que adoptar una hipótesis sobre la

transmisión de *V. cholerae* para la contaminación cruzada fecal.

CONCLUSIONES

- De las 30 muestras recolectadas se obtuvo un 100 % de contaminación por el *Vibrio cholerae*.
- Tras el estudio realizado, se observó que, la presencia de *V. cholerae* estaba ampliamente distribuido en el ambiente, no son cepas que producen la toxina del cólera y que no pertenecen a los serotipos O1 y O139.
- La contaminación de los mariscos, podría ocurrir durante la manipulación en el expendio.
- La evaluación de riesgos cualitativa (descriptiva) mostró que no existía un problema de salud pública asociado con el consumo reciente de mariscos.
- Según los resultados obtenidos se puede determinar que el *Vibrio cholerae* es peligroso para la salud, pero al no haber casos registrados en Huánuco. Se concluye que es un patógeno controlado. Pero es un riesgo potencial latente.
- Existen especies de *Vibrio* que no son patógenos, aunque si son de importancia para la salud pública.
- Se evidencio que la manipulación de los mariscos es deficiente, puesto que los vendedores no tienen buenas prácticas de manejo de alimentos.

SUGERENCIAS

- Realizar capacitaciones sobre un buen manejo de productos marinos a los comerciantes de los mercados.
- Dar a conocer a la población sobre el riesgo de esta enfermedad latente, que puede causar daño a su salud. Evitando comprar productos en mal estado o con varios días de exposición.
- Dar a conocer este trabajo a todas las instituciones vinculadas a salud, para que así tengan conocimiento de la situación en que es comercializado estos productos.
- Sugerir a las autoridades municipales mejorar la situación de venta y mantenimiento de los puestos que expenden productos marinos, así tener un orden e higiene en la comercialización de estos productos.
- Seguir investigando sobre el *Vibrio cholerae* y demás especies de *Vibrio*, así como otras bacterias patógenas en diferentes productos que se comercializan en todo el departamento de Huánuco.
- Trabajar en conjunto la Facultad de Medicina Veterinaria con las entidades competentes, para evitar daño a la salud pública ya que es parte de la función del Médico veterinario el velar por la salud de toda la población.
- Se debería incluir en las evaluaciones de riesgos asociados a *Vibrio sp.* un asesoramiento bien definido sobre las especies, los serogrupos, los serotipos y los genotipos que deberían examinarse por ser de interés para la salud pública en relación con el comercio y el consumo de pescados y mariscos.

BIBLIOGRAFÍA

Berry TM, Park DL y Lightner DV. **Comparison of the microbial quality of raw shrimp from China, Ecuador of México at both wholesale and retail levels** (1994); 57: 150-153.

Bryan Canal, Sergio Cruz; Valeria Valle-Riestra; Juan Carlos Ramos & Tomas Agurto. **Isolation And Identification Of Bacteria Of The Genus Vibrio On Samples Of Aulacomya Atra "Choro" From The Fishing Terminal Of Villa Maria Del Triunfo, Lima, Peru.** 2017; 14(1), jan-jun: 35-39.

Cato, J.C. 1998. **Economic values associated with seafood safety and implementation of seafood, Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) programmes.** Documento técnico sobre Pesca de la FAO. N° 381. Roma, FAO. 1998.

Desmarchelier, P.M, A.D. Hocking, G. Arnold, I. Jenson, K. Newton. Pathogenic Vibrios. **Foodborne Microorganisms of Public Health Significance 5th Edition.** North Sydney, Australian Institute of Food Science and Technology Inc., (1997); p. 285-312

FAO. **Evaluación de riesgos de Campylobacter spp. En pollos para asar y Vibrio spp. En pescados y mariscos.** Informe de una Consulta Mixta de Expertos FAO/OMS. Bangkok, Tailandia, 2002.

Food and Drug Administration. **Bacteriological analytical manual for foods.** Association of Official Analytical Chemistry, C. L. F. Washington, D. C, 1992.

Gatti M y Estacio G. **Plan estratégico de acción ante posible epidemia de cólera. Componente Laboratorio.** Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Oficina Sectorial de Laboratorio. MSAS; (1991).

José F. Monsreal, Erika B. Lara Zaragoza, Nemesio Villa Ruano, Lizbeth Mota Magaña, Lidia E. Serralta Peraza, Valeria B. Cuevas Albarrán, Florinda Sosa Castilla. **Especies de importancia clínica del género Vibrio en alimentos marinos de origen animal de establecimientos de Puerto Ángel, Oaxaca, México** 2014. Ciencia y Mar 2014, XX (52): 3-30.

Kelly MT y Stroh EM. **Temporal relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in patients and the environment.** J Clin Microb (1988); 26: 1754-1756.

Leyva V, Valdés E, Cisneros E y Pérez B. **Aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba.** Rev. Cubana Aliment. Nutr. (1996).

Oliver J. D, Koper J.B, M.P. Doyle, L.R. Beauchat y T.J. Montville, **Vibrio Species Eds. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.** Washington, D.C., ASM Press, (1997); p. 228-264.

Pardío V, Lizárraga Partida ML, López KM, Gómez-Gil Wong I, y Méndez E, et al. **Detection of Cholix toxin from *Vibrio cholera* non-O1 / non-O: 139 in oysters (*Crassostrea virginica*) harvested from Mandinga Lagoon, México.** Las Vegas NV, Institute of Food Technologists, Annual Meeting and Food Expo (2012); June 25-28.

Quevedo, F. Primo Arámbulo III, J A Escalante, J. Estupiñán, C. Almeida & J. Cuella, **Riesgos de transmisión del cólera por productos pesqueros: perspectiva regional en Sudamérica, 1997.** fiev. sci. tech. Off. int. Epiz., 1997,16 (2), 673-683.

Quiñones REI, Vázquez SC, Pedroche FF, Moreno SL y Rodas SOR. **Presencia de los géneros *Vibrio* y salmonella y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México.** México, Hidrobiológica (2000); 10(2):131-138.

Rosado Salazar, Armando Andrés. **Detección de especies patogénicas del género vibrio en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) de centros de crianza de la región Tumbes, mediante la aplicación de un protocolo de PCR múltiple. 2019.** Extraído de <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/7028>.

Sarkar BL, Kumar R, De SP y Pal SC. **Hemolytic activity of and lethal toxin production by environmental strains of *Vibrio parahaemolyticus*.** Appl. Environ. Microb (1987); 3: 2696-2698.

Virginia Leyva Castillo, Eugenio Cisneros Despaigne, Eliana Valdés Amey, Vicente Vallejo Rodríguez, Beatriz Pérez Solar y Olga Pérez Rodríguez, **Determinación de *Vibrio Cholerae* en ostión fresco, Puerto Esperanza, 1996**, Revista Cubana Aliment Nutr 1996;10(1)

X. ANEXOS

EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA DE PESCADOS Y MARISCOS EXPENDIDOS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE HUÁNUCO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE PESCADOS Y MARISCOS/VENDEDOR MANIPULADOR

Ficha N°

Mercado.....Fecha.....Hora.....

1. Identificación de la muestra

1.1. Pieza del alimento recolectado:.....

1.2. Aspecto normal del pescado:

.....

1.3. Aspecto normal del marisco:

.....

2. Identificación e higiene del manipulador (a)

2.1 Edad:.....Sexo.....

2.2. Nivel de educación:

2.3. Episodio actual o reciente de enfermedad: Si () No ()

2.4. Sin heridas ni infecciones en piel o mucosas: Si () No ()

2.5. Con manos y uñas limpias. Sin adornos: Si () No ()

2.6. Cuenta con uniforme completo y limpio: Si () No ()

2.7. Tiene capacitación en manipulación de alimentos Si () No ()

3. Identificación y características del puesto y enseres

3.1. Mercado.....

Mercadillo.....

3.2. Puesto () Tienda () Mesa () Tarima () Otros ()

3.3. Superficie de procesado en buen estado y limpia: Si () No ()

3.4. Equipos y utensilios en buen estado y limpios: Si () No ()

3.5. Mesa de expendio en buen estado y limpio: Si () No ()

3.6. Paños, esponjas, secadores limpios: Si () NO ()

3.7. Basura bien dispuesta: Si () NO ()

3.8. Cuenta con agua potable: SI () NO ()

3.9. Expendio de pescados y mariscos con otros productos: SI ()NO ()

4. Características de Buenas Prácticas de Manufactura

4.1 Aplicación de frio en cama de hielo: Si () NO ()

4.2 Uso de agua segura: Si () NO ()

4.1. Protege el alimento exhibido Si () NO ()

4.2. Desinfecta utensilios, superficies y equipos: Si () NO ()

4.3. Usa envoltura adecuada: Si () NO ()



Imagen 1: Mercado de Paucarbamba



Imagen 2: Mercado Modelo de Huánuco



Imagen 3: Mercado Las Moras



Imagen 4: Mercado Mollecito.



Imagen 5: Recolección de las muestras de marisco de mercado de Paucarbamba



Imagen 6: Recolección de muestras de marisco del mercado modelo



Imagen 7: Preparación de medio TCBS para Vibrio.

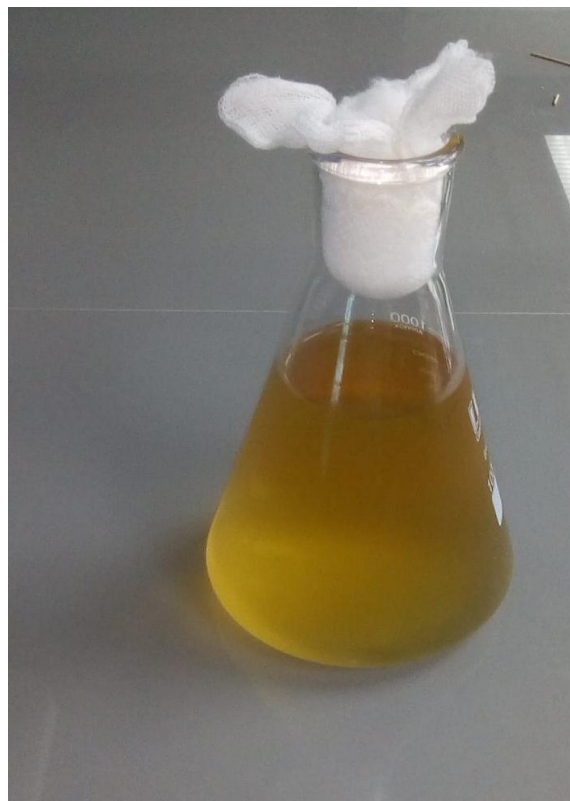


Imagen 8: Agua peptona alcalina (APA).



Imagen 9: siembra de las muestras de marisco en el medio TCBS.



Imagen 10: Incubación de las muestras en el medio TCBS por 24 horas.

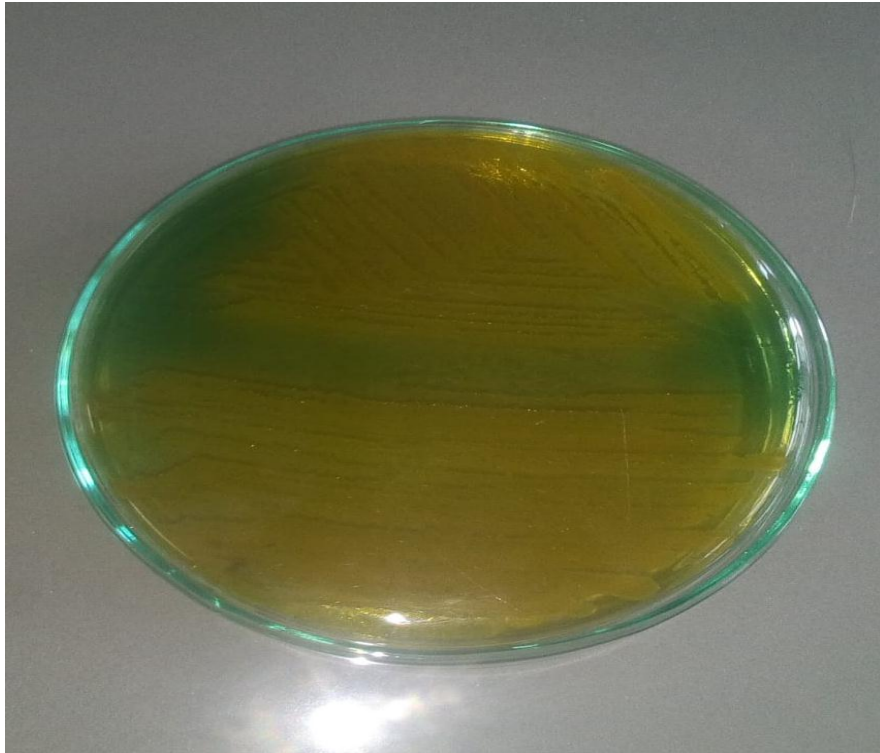


Imagen 11: Crecimiento bacteriano en el medio TCBS después de 24 horas de incubación.

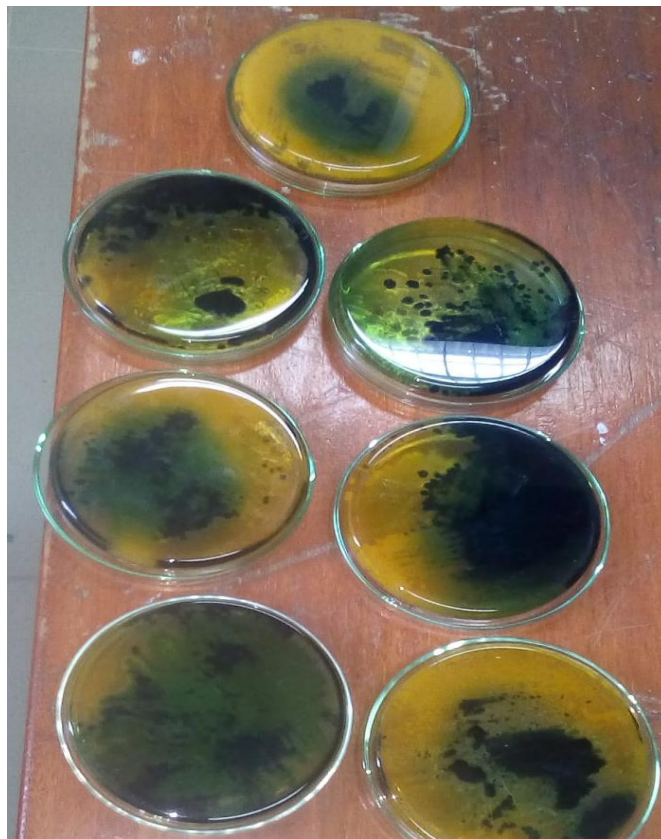


Imagen 12: Crecimiento bacteriano de *Vibrio* sp en el medio TCBS después de 48 horas.



Imagen 13: Resultado de las pruebas bioquímicas.

NOTA BIOGRÁFICA



Wilfredo SANTILLAN PEREZ

Nací un 11 de marzo de 1987, mis estudios primarios lo realicé en la I.E.P “SAN SEBASTIAN”, Distrito, Provincia y Departamento de Huánuco; la educación secundaria lo realicé en el Colegio Nacional “JOSÉ GALVEZ BARRENECHEA”, distrito de Uchiza, Provincia de Tocache, Departamento San Martin.

Mis estudios superiores lo realicé en la Universidad Nacional “HERMILIO VALDIZAN, en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en el distrito de Pillco Marca, Provincia de Huánuco, 2007 – 2013, obteniendo el grado de bachiller en Medicina Veterinaria en el año de 2016.