



EFECTO CITOTOXICO DE *Vibrio mimicus* AISLADO DE ALIMENTOS

Tercero Alburo J. Julio¹ Gonzáles Vázquez Erika², Elsa Irma Quiñónez Ramírez¹, Vázquez Salinas Carlos².

¹Laboratorio de Microbiología Sanitaria, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional Prolongación Carpio S/N, Col. Casco de Santo Tomás México, Distrito Federal ²Laboratorio de Inocuidad Alimentaria, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. U.A.M. Campus Iztapalapa. San Rafael Atlixco No. 89 Col. Vicentina C.P. 09340 México, D.F. juliotercero@gmail.com

Palabras clave: Citotoxicidad, hemolisina, gastroenteritis.

Introducción. *Vibrio mimicus* es una bacteria de hábitat acuático; se ha aislado de costas, estuarios, y ríos de zonas templadas o cálidas, se encuentra formando parte de la microbiota del zooplancton, crustáceos y moluscos que se alimentan por filtración. Es capaz de sobrevivir a la congelación (hasta 0°C), es un contaminante importante en agua y productos de la pesca. Los alimentos que han estado involucrados en su transmisión son; ostras, huevos de tortuga, camarón y pescado, que se consumen crudos o poco cocidos (Wong *et al.* 1994).

El mecanismo de patogenicidad de esta bacteria no está del todo comprendido, se han descrito algunos factores de virulencia; entre ellos una hemolisina termolábil, llamada VMH, la cual está presente en el 98% de los aislamientos, tanto clínicos como ambientales (Shinoda *et al.* 2004), está relacionada con la hemolisina termolábil de *V. cholerae*; la VMH tiene una función de enterotoxina, ya que es capaz de formar poros de 2.8 a 3.5 nm de diámetro sobre la superficie de las células del huésped, es capaz de inducir la producción de AMP_c en los enterocitos, y a su vez activar un canal de iones de Cl⁻ (CFTR), lo que provoca el desequilibrio de electrolitos y genera diarrea (Bi, *et al.* 2001; Li, *et al.* 2005); también se ha encontrado una hemolisina termoestable la Vm-TDH, relacionada con la TDH de *V. parahaemolyticus*, esta toxina le da la capacidad de producir diarrea tipo disentería; *V. mimicus* obtiene este gen por transferencia horizontal de DNA, ya que el gen de la TDH se encuentra en un transposón (Terai, *et al.* 1991).

Asimismo, se ha descrito la presencia de proteasas, una de ellas llamada VMP es capaz de cambiar la permeabilidad de los vasos sanguíneos, generar edema y causar la acumulación de fluido en asa ligada de conejo (Chowdhury, *et al.* 1991). No existen antecedentes en México sobre el estudio de factores de virulencia en *V. mimicus*, el presente trabajo pretende demostrar que las cepas aisladas en la costa de México pueden estar involucradas en enfermedades gastrointestinales.

Metodología. Se trabajó con 20 cepas de *Vibrio mimicus* aisladas a partir de muestras de agua (6), pescado (5) y ostión (9) procedentes de la laguna de Pueblo Viejo, Veracruz. Por medio de la PCR se amplificó el gen *vmhA*, y se evaluó el efecto de la toxina sobre la línea celular CHO.

Resultados y discusión. De las 20 cepas probadas, el 35% (7/20) a las 3 horas presentaron efecto citotóxico sobre la monocapa de la línea celular CHO, destruyéndola a las 6 horas. Por otro lado, el 65% (13/20) a las 6 horas presentó efecto citotóxico. En cuanto a la reacción de la PCR, el 100% (20/20) de las cepas estudiadas amplificaron el gen de

la hemolisina (*vmh*) presentando un amplificado de 389 pb. A pesar de que todas las cepas tienen el gen de la *vmh*, existe una diferencia en el efecto citopático de una cepa a otra, lo que indicaría que no todas las cepas expresan el gen de la hemolisina. En nuestra experiencia, en un estudio anterior, todas las cepas presentaron actividad de β-hemólisis en eritrocitos de carnero y conejo, esto indica claramente que no solo la VMH está causando el daño en la línea celular. Existen reportes de otros factores de virulencia como las proteasas, fosfolipasas y toxina tipo cólera, que pueden contribuir al efecto sobre la línea celular. Campos y cols. en 1996 al hacer un ensayo de citotoxicidad sobre la línea celular Y-1 observaron la destrucción de la monocapa. Se sabe que la hemolisina de *V. cholerae* es capaz de vacuolizar célula VERO (Figuroa-Arredondo *et al.* 2001), asimismo la hemolisina *vmh* de *V. vulnificus* tiene un efecto de alargamiento y destrucción sobre las células CHO (Kreger, *et al.* 1981), en nuestro caso observamos que *V. mimicus* provoca primero un arredondamiento, y posteriormente una lisis. Este dato es una contribución en la patogénesis de este microorganismo.

Conclusión. Este estudio nos lleva a considerar que el consumo de alimentos de origen marino crudos o con deficiente cocción pueden ser vehículos importantes para padecimientos como la gastroenteritis causada por *V. mimicus*.

Bibliografía.

1. Bi, K., S. Miyoshi, K. Tomochika, S. Shinoda, 2001. Detection of Virulence Associated Genes in Clinical Strains of *Vibrio mimicus*. Microbiol. Immunol. 45: 613-616.
2. Campos E., H. Bolaños, M. Acuña. 1996. *Vibrio mimicus* Diarrhea following of Raw Turtle eggs. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1141-1144
3. Chowdhury, M., H. Yamanaka. 1989. Ecology of *Vibrio mimicus* in aquatic Environments. Appl. Microbiol. 55: 2073-2078.
4. Kreger, A., and D. Lockwood. 1981. Detection of extracellular toxin (s) produced by *Vibrio vulnificus*. Infect. Immun. 33:583-590
5. Li, Y., K. Okamoto, E. Takahashi. 2005. A Hemolysin of *Vibrio mimicus* (VMH) Stimulates Cells to Produce ATP and Cyclic AMP Which Appear to Be Secretory Mediators. Microbiol. Immunol. 49: 73-78
6. Shinoda, S., T. Nacagawa, K. Bi. 2004. Distribution of Virulence-Associated Genes in *Vibrio mimicus* Isolates from Clinical and Environmental Origins. Microbiol. Immunol. 48:547-551.
7. Terai, A., K. Baba, H. Shirai. 1991. Evidence for Insertion Sequence-Mediated Spread of the Thermostable Direct Hemolysin Gene among *Vibrio* Species. J. Bacteriol. 173: 5036-5046
8. Wong, H., L. Chen, Yu. 1994. Survival of Psychrotrophic *Vibrio mimicus*, *Vibrio fluvialis* and *Vibrio parahaemolyticus* in Culture Broth at Low Temperatures. J. Food Protec. 57: 607-610.