

24. 1977



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO BACTERIOLOGICO DEL OSTION Crassostrea virginica  
(GMELIN, 1790) CENTRO DE DISTRIBUCION DE PRODUCTOS  
PESQUEROS DEL D. F.

(MOLLUSCA : OSTREIDAE)

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

ALMA LUZ YELA MIRANDA

México, D. F.

1981



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	4
ANTECEDENTES	4
ALGUNOS ASPECTOS DE LA BIOLOGIA DEL OSTION	8
BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACION FECAL	17
ORIGEN DE LAS ENFERMEDADES ENTERICAS	28
METODOLOGIA	41
RESULTADOS	47
DISCUSION	49
BIBLIOGRAFIA	55
TABLAS	60

## INTRODUCCION.

El aire, el agua y los alimentos son esenciales para la vida por lo que es importante que ninguno de ellos se vea afectado por los desechos de origen antropogénico (Buss y Lördstad, 1975). Sin embargo, los riesgos de contaminación se han incrementado debido al crecimiento industrial y poblacional.

La contaminación de los alimentos, ya sea química y/o biológica, es un aspecto que preocupa a la mayoría de los países en desarrollo, la primera la pueden producir, los metales pesados (mercurio, plomo, etc.), los residuos de la tecnología agrícola (plaguicidas, fertilizantes, etc.) y los sistemas de elaboración de alimentos (nitrosaminas, hidrocarburos polinucleares, etc.); y la segunda la causan microorganismos patógenos y toxinas producidas por hongos, bacterias y algas. Estos últimos se incluyen aquí por ser sus metabolitos los que alteran la calidad del producto, aunque también pueden ser clasificados químicamente (FAO/OMS, 1975).

Los alimentos contaminados son vehículos de gran cantidad de enfermedades. Entre las principales se encuentran infecciones entéricas, parasitarias o manifestaciones clínicas asociadas con disturbios gastrointestinales que pueden ser confundidos con padecimientos infecciosos. Los productos comestibles que con mayor frecuencia son responsables

de una amplia variedad de enfermedades originadas por bacterias, virus, protozoarios y metazoarios; son aquellos que se consumen crudos o parcialmente cocidos, por ejemplo; moluscos bivalvos, peces, vegetales, - frutas, etc. (Holden, 1970). Las enfermedades que resultan de su ingestión se consideran de las más peligrosas y esto último depende de:

1. - Su ceptibilidad de cada individuo a las enfermedades.
2. - Toxemia de alimentos; natural o accidentalmente contaminados con toxinas de origen bacteriano, tales como: Clostridium botulinum, Clostridium perfringens y Staphylococcus sp.
3. - y de contenido de microorganismos patógenos que pueden producir infecciones parasitarias y bacterianas: fiebre tifoidea, disentería, cólera, salmonelosis, etc. (Burrows, 1973).

Uno de los aspectos importantes desde el punto de vista sanitario de las aguas costeras y estuarinas, es la contaminación de los diversos productos de explotación pesquera, ya que son regiones donde el impacto de la actividad del hombre es mayor. Estas áreas son de gran valor por el desarrollo de diversas especies, tales como: moluscos bivalvos, crustáceos y peces, así como para la reproducción y alimentación de muchas otras (EPA, 1973; Wood, 1972).

Los ostiones, almejas y mejillones obtenidos o explotados de dichas aguas contaminadas, en especial por desechos domésticos, pueden conte

ner gran número de bacterias que normalmente se encuentran en las heces tanto humanas como en aquellos animales de sangre caliente (Wood, 1972 ; Evison, 1979). Aunque no todas ellas son nocivas, pueden existir bacterias y virus patógenos. Además la concentración de dichos microorganismos en los moluscos bivalvos puede ser alta, ya que en el proceso de su alimentación y respiración filtran grandes cantidades de agua. Pueden también acumular otros materiales peligrosos: pesticidas, biotoxinas, metales pesados y radionúclidos (Wood, 1979). Estos factores pueden afectar a los organismos o bien actuar como portadores pasivos en la transmisión de enfermedades (Coetzee, 1962; Salvato, 1972).

Dado que los moluscos bivalvos son un recurso natural manejable y renovable de gran importancia económica, la calidad del agua en áreas de crecimiento es esencial para su protección. Otra razón que refuerza la necesidad de su vigilancia sanitaria, es que estos organismos, han sido causa de innumerables epidemias (Salvato, 1972; Wood, 1972; Levin, 1978; Hedström y Lycke, 1963).

Un problema importante de contaminación lo constituye la producción y comercialización de alimentos, debido a que durante su procesamiento y manejo (desde la captura hasta el almacenamiento), no se toma en cuenta el control sanitario de aparatos y utensilios empleados ni de las personas que los manipulan, las cuales pueden ser portadores causales o crónicas de bacterias infecciosas (Burrows, 1973).

Lo anterior proporciona un panorama de la importancia que reviste el continuo análisis de los alimentos, poniendo especial énfasis en los organismos acuáticos que se consumen crudos y que de alguna forma pueden ser contaminados por microorganismos (patógenos) ya sea en el sitio donde se cultivan o bien durante su manipulación.

#### OBJETIVO.

Evaluar el contenido bacteriano del ostión en diferentes condiciones de manejo estableciendo una comparación con límites permisibles establecidos en Estados Unidos para su consumo. Para ellos se analizarán ostiones desconchados en el laboratorio, previo lavado, así como aquellos manipulados en el mercado de la Viga.

Para tener una idea de las bacterias que adquiere el organismo en su habitat se muestrearán algunos centros ostrícolas importantes.

#### ANTECEDENTES.

Los cuerpos de agua sujetos a explotación pesquera, requieren de una vigilancia continua en lo que respecta a su contenido de bacterias y virus, sin dejar de considerar a los protozoarios y gusanos parásitos, así como las formas enquistadas de todos ellos (Wood, 1972). Dentro de las bacterias de importancia sanitaria se encuentran: Vibrio parahaemolyticus, Escherichia coli enteropatógena, Salmonella, Vibrio cholera, Shigella, Clostridium perfringens, Bacillus cereus y Staphylococcus (Levin, 1978; Salvato, 1972; Wood, 1972). Y entre los virus que son excre-

tados en heces y que infectan el tracto gastrointestinal y otras partes del cuerpo humano, están: Poliovirus, Coxsackie virus, Echovirus, - Reovirus, Adenovirus y el virus de la hepatitis. Este último merece especial atención ya que se ha detectado frecuentemente en el agua. Actualmente los virus son difícilmente aislados en el laboratorio, a pesar de ser difundidos en grandes cantidades en las excretas de portadores sanos y sobre todo por presentar mayor sobrevivencia en las plantas de tratamiento de agua que los organismos normalmente usados como indicadores de contaminación fecal, como en el caso del tratamiento biológico, en el cual los virus son removidos por absorción-floculación y ya en el sedimento permanecen vivos largos períodos de tiempo (Bitton, 1978).

Por el hecho conocido de que los ostiones, a través de la filtración retienen indiscriminadamente diversos microorganismos. (Hunt, 1972; Wood, 1979), se considera de alto riesgo la existencia de los patógenos en su medio, pues existen evidencias que indican que dentro del ostión la tasa de sobrevivencia de algunos de ellos aumenta, por ejemplo: Shigella flexneri sobrevive aproximadamente 48 horas, si se presenta en concentraciones altas ( $4 \times 10^3$  organismos/ostión), en el caso de Salmonella typhimurium cerca de 14 días y por lo menos 11 días a Francisella tularensis (Levin, 1978; Jansen, 1974). Mientras que los virus entéricos pueden ser retenidos en el ostión por cerca de 30 días a temperaturas bajas (Wood, 1972; Bitton, 1978). Se ha detectado Salmonella typhi en ostiones colectados en zonas contaminadas por aguas re-



aliduales, examinados cierto tiempo después de su captura (Coetzee, - 1962).

Esto ha provocado en diversos países epidemias significativas. - Entre 1900 y 1925 el consumo de moluscos bivalvos derivó una epidemia de fiebre tifoidea que condujo al Servicio de Salud Pública de Estados - Unidos (USPHS) a la certificación de los expendios incluyendo el embarg que, a través de agencias locales reguladoras, evaluando un número re- presentativo de plantas procesadoras y de manejo del producto (Salvato, 1972). Belin en 1934 (citado por Levin, 1978) estimó que en 15 años se habían presentado más de cien mil casos de fiebre tifoidea, de los cua- les veinticinco mil causaron la muerte, este hecho ocurrió en Francia debido al consumo de moluscos bivalvos. Brison (citado por Levin, - 1978) en el mismo año reportó que en Toulon en menos de seis meses se habían presentado 14 casos de salmonelosis debidos al consumo de mejillones contaminados. La potencialidad de estos organismos de con- centrar microorganismos, fué también responsable de tres brotes de colera en Italia entre agosto y septiembre de 1973, (Cortesi y Della, - 1977; Levin, 1978). En 1975 en Estados Unidos fueron reportados al Cen- tro de Control de Enfermedades 27 epidemias, de las cuales 17 (248 per- sonas) fueron asociadas con la ingestión de pescado contaminado y 10 - (212 personas ) con moluscos bivalvos. El organismo causal, encontra- do en las dos epidemias más grandes, en un 70% de los casos fué Vibrio parahaemolyticus, este mismo fué el responsable de la contaminación -

del alimento en un 20% en el Japón (Wood, 1972; Levin, 1978).

El papel de los moluscos en la transmisión de la hepatitis está bien fundamentado y frecuentemente se asocia al consumo de almejas y ostiones. La primera epidemia de hepatitis en 1955 debida al consumo de ostiones crudos fué reportada en Suecia (91 casos), (Hunt, 1972; Hedström y Lücke, 1973; Levin, 1978), la segunda fué en la Bahía Raritan y Pasca-goula (Hunt, 1972), y en 1961 se presentó en Mississipi y Alabama, varias epidemias menos severas se localizaron en la mitad del Atlántico y Estado de Nueva Inglaterra (Hunt, 1972; Hedström y Lücke, 1973).

En 1973 en Houston, Texas, se vieron afectadas 268 personas por la ingestión de ostiones, los cuales se presumía habían sido cosechados en un área ostrícola, certificada para dicha explotación, en el estado de Louisiana (Hunt, 1972). En 1975 se detectó el virus de la hepatitis en almejas también de áreas aprobadas por el Servicio de Salud Pública (Levin, 1978). El Centro de Enfermedades de hepatitis en Estados Unidos, reportó que el 8.6% de los casos de hepatitis A fueron asociados con el consumo de moluscos bivalvos (Hunt, 1972).

Desde ese tiempo hasta la fecha se han presentado 17 brotes en Estados Unidos, donde quedan incluidas 1344 personas (Levin, 1978).

La contaminación biológica de los alimentos juega un papel importante en el mantenimiento de estas enfermedades en forma endémica. Por ejemplo la tifoidea, permanece a pesar del control higiénico del agua, leche y alimentos, debido a su manejo, ya que existen manipula-

dores portadores de tifoidea, que contribuyen a la transmisión de enfermedades (Burrows, 1973). Esto puede ser agravado por el descuido en el manejo sanitario, protección, procesamiento, refrigeración o almacenamiento de los alimentos; así como el inadecuado tratamiento, distribución o protección de los aportes de agua, o bien por higiene personal y saneamiento general, todo ello incrementando la probabilidad de que se presente una epidemia (Salvato, 1972).

#### ALGUNOS ASPECTOS DE LA BIOLOGIA DEL OSTION.

Entre los moluscos bivalvos comercialmente importantes se encuentran los ostiones, las almejas y los mejillones. Son organismos estrictamente acuáticos, se caracterizan por habitar la zona intermedia de las marismas y el litoral, lugares como, esteros, desembocaduras de ríos, lagunas costeras o formaciones litorales, que están sujetos a variables fisicoquímicas como son: profundidad, temperatura, salinidad, y oxígeno disuelto. Sin embargo muchos géneros de mejillones y ostiones pueden vivir hasta profundidades de 40 m (Barnes, 1969; Ramírez y Sevilla, 1965).

Los organismos que se desarrollan en dichas zonas además de estar expuestos a la baja mar y por lo tanto a la desecación, altas temperaturas y salinidades arriba y abajo de 35‰, todo ello correlacionado con variaciones climáticas, grado y exposición a la acción de las olas y secundariamente con la intensidad y duración de la energía solar, -

humedad, oxígeno disuelto y alimento disponible. (Wilbur y Yonge, 1966).

De tal manera que un organismo sésil que vive en los esteros, como es el caso del ostión, esté adaptado a tolerar salinidades bajas, fluctuaciones osmóticas en cada ciclo de marea, cambios de temperatura (diurnos y nocturnos), variaciones de pH y de oxígeno disuelto que son más amplios en estuarios que en el mar. Además de corrientes de características diferentes (salinidad, velocidad, etc.), alto contenido de material suspendido y sedimentable. (Wilbur y Yonge, 1966). Es evidente que la contaminación del agua va a ser un factor que alterará en gran medida el comportamiento de los organismos sujetos a ella.

La capacidad de los ostiones de retener agua en la cavidad del manto es una adaptación útil para lograr soportar condiciones desfavorables causadas por inundaciones y presencia temporal de tóxicos o sustancias irritantes en el agua ya que mantienen sus órganos protegidos de la desecación a pesar de no estar en contacto con su ambiente acuático, permaneciendo sus valvas herméticamente cerradas (Galtsoof, 1964).

Los moluscos bivalvos se caracterizan por presentar las branquias muy desarrolladas cumpliendo una doble función ya que intervienen en la alimentación así como en la respiración. En las ostras, se incrementa el área de la superficie branquial por el gran número de laminillas plegadas que presentan (Barnes, 1969), que los hace eficientes en la toma de alimento aunque también influye, la cantidad de alimento presente en el agua y la tasa de bombeo. En Crassostrea virginica por ejemplo -

se ha descrito que filtra de 4 a 15 litros por hora (Wilbur y Yonge, 1966).

El hecho de atrapar el alimento por filtración ha impuesto una dieta, en la que la mayor parte de los bivalvos ingieren diminutas partículas de plancton, esencialmente fitoplancton (Barnes, 1969).

Se ha encontrado poca relación entre el tamaño de la partícula y su retención en las branquias. En *C. virginica* el porcentaje de células encontradas de *Chlorella* sp. (5 $\mu$ ) varía de 0-02%, de *Euglena viridis* (60 $\mu$ ) del 15-80%. No solo retienen diatomeas, dinoflagelados y partículas de grafito (2-3 $\mu$ ), sino que además permite el paso a través de sus branquias del 70-90% de *Escherichia coli* (1-2 $\mu$ ). La producción de una sustancia mucosa contribuye en la retención de bacterias y materia coloidal (Wilbur y Yonge, 1966). Pueden también alimentarse de organismos como: copepodos, larvas y huevecillos de diferentes moluscos, etc. (Sevilla, 1959).

Una vez que las partículas se retienen, son llevadas al estómago en donde son digeridas por liberación enzimática, en la que contribuye el estilete al diluirse en amilasa. El pH bajo del estómago (5-6) facilita la liberación de las partículas contenidas en los filamentos mucosos (Barrington, 1967; Wood, 1972). El contenido del estómago parcialmente digerido es pasado a la zona de clasificación, en donde son separadas las partículas más voluminosas y son enviadas al intestino, las más finas son retenidas en dicha zona y dirigidas a las glándulas digestivas en donde son tomadas por células epiteliales fagocíticas, ya que la dige

ción es principalmente intracelular (Barrington, 1967).

Los productos del metabolismo del ostión, son liberados al líquido de la cavidad del manto y después al exterior. Si la concha está cerrada los desechos, mucosa y células sanguíneas descargadas a través del manto y las branquias, permanecen en el organismo provocando que su alcalinidad disminuya durante el tiempo que se encuentra cerrada. En condiciones de acidez extrema, la acción amortiguadora del carbonato de calcio disuelto de la concha lo contrarresta. (Galtsoof, 1964; Vasconcelos, 1966 b).

Los factores ecológicos que influyen en la reproducción, crecimiento y actividad alimenticia son las siguientes:

#### Temperatura

La actividad alimenticia de Crassostrea virginica, aumenta proporcionalmente entre 8 - 16°C y de 16 - 28°C se muestra estable y aumenta nuevamente de los 28 a los 32°C. Encontrándose que su temperatura óptima está arriba de los 25°C. La temperatura influye en la abertura de las valvas, siendo más amplia a los 20°C, en ostiones intactos. Al aumentar la temperatura tienden a cerrarse a pesar de que la actividad ciliar se incrementa, la mayoría de los bivalvos cierran sus valvas cuando la temperatura baja a 8°C pero en este caso la actividad ciliar también disminuye.

En el caso de C. virginica la actividad ciliar cesa a los 4°C (Wilbur, 1966), aunque se ha reportado que a los 12°C deja de latir el corazón,

esto no significa que no haya movimiento vascular ya que hay contracción de corazones accesorios y la contracción de branquia y manto causan movimiento de sangre (Winston, 1957). Cuando la temperatura disminuye se produce el fenómeno mencionado anteriormente y se denomina hibernación. Sin embargo los ostiones del Golfo de México no están expuestos a ello, ya que la temperatura no llega a descender a tal grado - (Ramírez y Sevilla, 1965).

#### **Turbidéz.**

En el caso de los moluscos filtradores, además de algunas adaptaciones en la amplitud de la cavidad palial, el tamaño de las branquias y palpos que facilitan la filtración, no se conocen los efectos deletéreos - que pueden producir la concentración de partículas, a menos que aumente la densidad de microorganismos, o su tamaño o bien que este material llegue a producir turbidéz como: el sedimento, el limo, etc. ya que ello reduciría el bombeo y la toma de alimento (Wilbur y Yonge, 1966). Contradictorio por el hecho de que la materia orgánica en suspensión provee elementos nutritivos tanto para adultos como para larvas (Stuardo y Villarreal, 1976), no se conoce la explicación sobre la disminución del movimiento branquial aunque se sugiere que tienen efectos químicos y mecánicos que afectan la filtración. Puede afirmarse que los ostiones se alimentan más eficazmente si el agua contiene cantidades relativamente bajas de partículas en suspensión que incluyen organismos (Ramírez y Sevilla, 1965).

### Salinidad.

Es un parámetro que fluctura en los esteros por la influencia de los ríos y el mar. C. virginica tolera intervalos de salinidad que van de 14 a 29‰, aunque pueden soportar salinidades del orden de 1 a 3‰ durante tres meses. Esta disminución en la salinidad retarda el crecimiento, reproducción y fijación de larvas (Ramírez y Sevilla, 1965), como una consecuencia del cese de la actividad ciliar de las branquias - que afecta la velocidad de alimentación (Wilbur y Yonge, 1966).

### Oxígeno disuelto.

La disponibilidad del oxígeno disuelto en el agua está influenciado por la temperatura, como se sabe al aumentar la temperatura el oxígeno disuelto disminuye, pero también aumenta la actividad metabólica de los ostiones y por lo tanto requieren más oxígeno cuando su concentración es baja (Ayres, 1978).

La velocidad con la que se realiza la filtración es importante para la respiración. La cantidad de agua que se pone en contacto con las branquias, en el caso de C. virginica tiene un óptimo al presentar una temperatura entre los 25-30°C. Bajo 5°C la corriente es producida como consecuencia de la carencia de coordinación del movimiento ciliar a lo largo de la superficie de las branquias (Wilbur y Yonge, 1966).

### pH.

El pH del agua también afecta los procesos fisiológicos del ostión. El intervalo óptimo para su desarrollo se encuentra entre 6.2 y 6.8 -



aunque algunos llegan a soportar hasta 5 (Salvato, 1972). Por debajo o encima de lo tolerado, no se efectúa su alimentación.

Las sustancias responsables de la variación han sido originadas por la contaminación petrolera y en general la salmuera de los pozos (Ramírez y Sevilla, 1965).

Otros factores.

La calidad y cantidad de alimento, edad, latitud, especie y los parámetros antes mencionados pueden tener efectos concomitantes sobre el transporte activo y el metabolismo (Wilbur y Yonge, 1966).

Las características del sedimento en los diferentes cuerpos de agua son de gran importancia para la fijación de larvas y adultos y no deben estar sujetos a desplazamientos (Ramírez y Sevilla, 1965), por ejemplo C. virginica crece mejor en fondos suaves que en duros (Wilbur y Yonge, 1966).

Los movimientos de agua, afectan la distribución de larvas, transporte de alimento, oxígeno disuelto y por lo tanto reproducción y crecimiento del ostión (Ramírez y Sevilla, 1965).

Cuando por alguna causa el organismo no se alimenta, el tracto digestivo se vacía y el crecimiento es bajo o ausente (Wilbur y Yonge, 1966). Por lo que los ostiones a pesar de tolerar oscilaciones de los factores antes mencionados, su permanencia prolongada puede resultar letal (Ramírez y Sevilla, 1965).

Las diversas respuestas fisiológicas que se presentan en C. virgi-

nica proporcionan un indicio de que existen varias razas fisiológicas, (Winston, 1957).

La contaminación del ostión en su medio ambiente.

El ostión vive en agua salobres ya sea en estuarios o lagunas costeras en los que comunmente se descarga agua residual de origen doméstico acompañado de una gran cantidad de organismos fecales (Wood, 1970). Se ha reportado que un efluente no tratado puede contener 20 700 E. coli/ml y uno tratado cerca de 4 900 E. coli/ml presentando ambos gran número de bacterias y virus patógenos.

Después que el agua residual es descargada en el mar, la concentración de bacterias decrece por efectos físicos, tales como: dilución, absorción y sedimentación. Su mortalidad también es importante y es influenciada por la temperatura del agua, salinidad, penetración de luz, presencia de microorganismos competidores y depredadores (Holden, 1970; Levin, 1978).

No obstante el ostión por filtrar indiscriminadamente partículas suspendidas puede acumular bacterias, y su concentración puede variar ampliamente dependiendo de los factores físicos o químicos que alteren su filtración. En general cuando hay aumento en la temperatura la concentración bacteriana aumentará (Wood, 1970). Por lo que en los meses de verano tendrán un mayor contenido que en los meses de invierno (EPA, 1973).

Sin embargo hay evidencia de que los virus al ser adsorbidos a

los tejidos del ostión son más estables que en el agua de mar y además las fuerzas de adsorción son mayores a bajas temperaturas (Hedström y Licke, 1963 ; Wood, 1979). En tales condiciones los ostiones situados en aguas conteniendo aún bajos números de E. coli pueden no ser adecuados para el consumo humano a no ser que se sometan a un tratamiento (Holden, 1970).

Otro factor que influye en la calidad del agua en términos de bacterias fecales, es la variación con relación a la dirección de las corrientes marinas, se ha observado que los ostiones y mejillones responden casi inmediatamente a los cambios en la calidad del agua en temperaturas óptimas (Wood, 1979; Holden, 1970). Se ha demostrado que al cambiar el ostión a agua libre de contaminación biológica lleva a cabo una autopurificación ya que en uno o dos días quedara relativamente libre de coliformes y virus principalmente (Salvato, 1972). Sin embargo la mayoría de las aguas naturales llevan consigo cloro residual (en concentraciones de 6 ppm) lo que esteriliza parcialmente la concha, pero no al ostión ya que esto no permite el paso del agua a través de su organismo (Hedström y Licke, 1963). El hipoclorito de calcio reduce la irritación en el ostión, pudiendo realizar su actividad fisiológica normalmente (Weiser, 1962). Actualmente se practica más, la purificación del agua por medio de luz ultravioleta, que después circula por los tanques en donde es mantenido el ostión. (Ayres, 1978).

Desde otro punto de vista, los ostiones, debido a las reacciones que presentan ante los diversos contaminantes y su tolerancia a ellos los ha hecho útiles como indicadores de su presencia en el medio acuático, por lo tanto la calidad del ostión provee evidencias de gran utilidad para evaluar las condiciones ambientales que prevalecen en una area determinada. (Hunt, 1972; Wood, 1979).

Es evidente que todos los factores antes mencionados deber ser tomados en cuenta, cuando se determina la calidad sanitaria de los moluscos bivalvos que van a ser comercializados (Holden, 1970).

#### BACTERIAS INDICADORAS DE CONTAMINACION FECAL.

A pesar de que la flora bacteriana de aguas marinas ha sido poco estudiada, parece ser que presenta similitudes con la de los medios dulceacuícolas, presentando en común las bacterias fijadoras de nitrógeno, las fluorescentes y varias formas pigmentadas entre otras. Las bacterias de los sistemas acuáticos son agentes importantes en la degradación de la materia orgánica, además de formar parte primordial en los ciclos biogeoquímicos (Holden, 1970).

En adición a las bacterias nativas, el agua puede contener una variedad de microorganismos provenientes de fuentes externas (suelo, aire, excretas humanas y animales), que actúan como contaminantes. Por lo que los objetivos del exámen microbiológico del agua es determinar si esta ha sido expuesta a contaminación fecal, la cual puede causar un

serlo problema de salud pública (Holden, 1970; Metcalf, 1978). Se hace entonces necesaria la detección de organismos patógenos en el agua tales como: bacterias, virus, protozoarios, gusanos y hongos. Sin embargo su identificación, como medida rutinaria, es compleja, por lo que se requiere de técnicas de mayor sensibilidad y selección además de tiempo. Todo ello se debe a que el número de patógenos en el agua es variable y su densidad es usualmente baja. Lo cual hace necesario llevar a cabo una aproximación indirecta para "medir" la calidad microbiana del agua (EPA, 1973).

Un indicador de contaminación en el agua puede ser cualquier agente microbiano, químico o físico, que ponga de manifiesto el peligro potencial al que están expuestos los organismos, principalmente la salud del hombre. Se elegirá a un cierto tipo de indicador de acuerdo al uso que se le da al agua, considerando que el idóneo será aquel cuya densidad se correlacione con los daños producidos a la salud (Cabelli, 1978).

Al comparar pruebas químicas y biológicas, se llegó a la conclusión de que las evaluaciones bacterianas son de mayor utilidad ya que mediante ellas es fácil distinguir la contaminación de tipo fecal, de tal forma que se ha podido detectar una Escherichia coli en 100 ml., lo que no sería posible tratándose de un compuesto químico, en tal grado de dilución. Las pruebas bacteriológicas dan resultados cuantitativos confiables que pueden ser relacionados con riesgos de infección tanto humana como animal, y en lapsos de tiempo razonables (Metcalf, 1978).

Por su simplicidad relativa, rapidéz y especificidad, las pruebas bacterianas han sido adoptadas con gran éxito como indicadores de contaminación, eligiendo aquellas que se apeguen más a las siguientes características: estar presentes en densidades suficientes aún cuando la cantidad de bacterias patógenas esté por debajo de la dosis mínima infecciosa; su sobrevivencia deberá ser mayor a la de los patógenos en el agua así como su resistencia a desinfectantes y cambios ambientales bruscos - (Wood, 1972; Cabelli, 1978; Millipore Corpo., 1973).

Los indicadores de calidad sanitaria del agua, más ampliamente usados desde 1880, han sido las bacterias coliformes, ya que se demostró que dentro de las bacterias normalmente descargadas en las heces humanas se encontraban: Bacillus coli comunis (E. coli), estreptococos fecales y Bacillus enteriditis esporogenes (C. perfringens) (Cabelli, 1978; EPA, 1973). Sin embargo la correlación de estos coliformes con la contaminación fecal, no suele ser adecuada, debido a que este es un grupo ecológicamente heterogéneo y con una amplia distribución en el ambiente, esto es, que no son específicos de materia fecal. Lo cual hace difícil la interpretación de datos para determinar si el agua está o no contaminada. Dentro de los coliformes también se incluyen patógenos de vegetales y otros microorganismos de taxonomía incierta, cuyo significado sanitario es cuestionable (EPA, 1973).

Un indicador bacteriano más específico de la contaminación producida por desechos de organismos de sangre caliente son los organismos coliformes fecales que se han definido como microorganismos que fer-

mentan la lactosa a temperatura de incubación de 44,5°C produciendo gas. Este grupo está compuesto principalmente por E. coli y Klebsiella sp., encontrándose en heces humanas un 96,2% sobre la población total de coliformes y un 93% en animales de sangre caliente. Por lo tanto su presencia indica una fuente probable de patógenos. Sin embargo se ha cuestionado en el uso de esos microorganismos como indicadores por las siguientes razones:

- Es difícil diferenciar las tasas de mortalidad de coliformes y patógenos, particularmente en agua de mar.
- Los virus y salmonelas son más resistentes a la acción de la luz solar y a otros factores ambientales que las coliformes, por lo que pueden dar la falsa impresión de que no existen patógenos.
- La multiplicación de coliformes fecales puede ocurrir en aguas contaminadas, produciendo dificultades en su interpretación.
- Son más sensibles a la clorinación que los enterovirus, bacteriofagos y otros (Cabelli, 1978; EPA, 1973; Evison, 1979).

A pesar de esto las correlaciones de E. coli con salmonelas indican que al aumentar la densidad de estas coliformes fecales, el riesgo potencial de daños a la salud se hace mayor. (EPA, 1973).

Por lo que se deben hacer cuantificaciones específicas de microorganismos o sustancias químicas indicadoras en el agua de suministro potable, en las recreacionales, las de uso agrícola y en aquellas en las

cuales se desarrollan diversos tipos de organismos. Estas difieren entre sí por la fuente de contaminación, grado y ruta de contacto, su historia, así como por el hecho de que algunos son capaces de sostener bioacumuladores (Cabelli, 1978).

**Aguas de Suministro Potable.** Los agentes infecciosos de origen acuático incluyen microorganismos patógenos, provenientes de desechos fecales y urinarios del hombre y animales inferiores, que podrían contaminar el agua potable o sus sistemas de distribución. En adición hay microorganismos que bajo ciertas condiciones se multiplican en agua como: Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas hydrophila y ciertas micobacterias que son causantes probables de gastroenteritis de etiología desconocida (Cabelli, 1978). El agua destinada para beber tiene vía de entrada directa al organismo por lo que las densidades de coliformes deben ser bajas, del orden de 0-2 por 100 ml. de agua (Legislación Vigente en Materia de Salubridad y Disposiciones Conexas).

El estándar para suministros provenientes de aguas superficiales crudas es: para coliformes fecales 2,000/100 ml. y coliformes totales 20000/100ml, considerados como medias geométricas, cuyo tratamiento es indispensable para introducirse en los sistemas de distribución (Evison, 1979).

**Aguas Recreacionales.** Es importante definir el tipo de actividad recreacional ya que la calidad microbiológica en relación a pesca y navegación es de menor importancia que en las que hay un contacto humano



con el agua como en el caso de nadadores que pueden tener serias implicaciones. Se han reportado en E.U.A., enfermedades en oídos, ojos, nariz, garganta; irritaciones de la piel, gastroenteritis y otros, en un porcentaje mayor en nadadores.

Entre los agentes causales más comunes se incluyen: Pseudomonas aeruginosa en infecciones de oídos e irritaciones de la piel, Salmonella y Shigella en infecciones gastrointestinales; enfermedades virales como hepatitis, coxsackievirus; Vibrio y Aeromonas hydrophila; meningocelitis amibiana primaria, leptospirosis y tularemia (Cabelli, - 1978).

La calidad del agua se basa principalmente en el contenido de coliformes y coliformes fecales cuya densidad, no deberá exceder las 200 coliformes fecales /100 ml. para aguas recreacionales de contacto directo. Otros microorganismos que deberían de incluirse son: Staphylococcus aureus o Pseudomonas aeruginosa (Evison, 1979).

Aguas para uso agrícola. La calidad del agua usada para irrigación es importante, por la posibilidad de dañar la salud del hombre y la dispersión de patógenos vegetales, en este último punto, puede verse afectada la producción agrícola.

Los patógenos humanos y animales pueden ser llevado en aguas de riego, derivados de fuentes superficiales contaminadas por desechos industriales y domésticos. La irrigación por aspersión, con estas aguas resulta de alto riesgo ya que el agua y los organismos son directamente

aplicados a cultivos que pueden ser consumidos crudos por el hombre y animales. La EPA recomienda en este caso que el agua de irrigación debe contener un número de 1 000 coliformes fecales/100 ml.

Aguas para el desarrollo de organismos. Los requerimientos son similares a los requerimientos de uso recreacional, sin embargo a causa de la bioacumulación de material particulado por peces y moluscos - bivalvos el peligro es aún mayor, al ser consumidos. Se ha demostrado en investigaciones recientes que este tipo de agua con 1-20 coliformes fecales/100 ml. ya ha sido posible la detección de salmonelas en un 4.7% de las muestras. Los ostiones que crecen en estas aguas acumulan de 33 a 2 200 coliformes fecales/100 g, y el aislamiento de salmonelas es del 6.1% aproximadamente. A pesar de que hay evidencias que parecen indicar que estas proporciones son mas bajas en aguas estuarinas que - en aguas dulces (Evison, 1979).

Debido a la variabilidad en la prevalencia de enfermedades en diferentes comunidades, se han establecido criterios microbiológicos específicos para cada región.

La U.S. Public Health Service (USPHS), ha dividido las aguas en donde crecen moluscos bivalvos en tres categorías dependiendo del grado de contaminación (Coetzee, 1962):

<u>Categoría</u>	<u>NMP*</u> <u>Coliformes totales/100 ml</u>
Area aprobada	70
Moderadamente contaminada	70 - 700
Fuertemente contaminada	mayor de 700

En Francia las áreas de crecimiento se clasifican (Wood, 1972):

		<u>E. coli/100 ml.</u>
Clase I	Satisfactorio	0
Clase II	Aceptable	1 - 6
Clase III	Sospechosa	60 - 120
Clase IV	Desfavorable	mayor de 120

En Holanda y el Reino Unido no es usada la calidad del agua como base control, sino el contenido de E. coli en moluscos bivalvos (Coetzee, 1962; Evison, 1979):

		<u>E. coli/ml. de tejido</u>
Grado I	Satisfactorio	<5
Grado II	Sospechoso	6 - 15
Grado III	Insatisfactorio	>15

Se ha sugerido en Estados Unidos que el criterio de calidad debería estar basado en la densidad del indicador en los moluscos bivalvos y no en el agua que los rodea, considerando que: los ostiones desconchados en su sitio de origen no deberán mostrar un NMP mayor de 230 coliformes.

\* NMP= número más probable.

mes fecales/100 g. aunque puede ser permitido un NMP de 24 000 coliformes/100 g. ocasionalmente. Clasificándose según el contenido de coliformes totales en (Salvato, 1972; Wood, 1972):

<u>Categoría</u>	<u>NMP coliformes/100 ml.</u>	<u>Conteo en placas/ml.</u>
Aceptable	<16, 000	< 50, 000
Condicionamente	<160, 000	<1, 000 000
Rechazado	>160, 000	>1, 000 000

En Italia los valores de coliformes deberán ser <1 coliforme fecal/100 ml (Cortesi, 1977).

Los problemas para establecer indicadores de calidad de agua son:

a) Determinar las enfermedades más frecuentes en una comunidad, y detectar si están asociados con el uso particular del agua y así poder correlacionar las bacterias indicadoras con las dosis infectivas de patógenos.

b) Seleccionar el organismo indicador apropiado, según el cual pueda reflejarse el daño sobre la salud a la que el hombre está expuesto. Actualmente no se han podido designar organismos indicadores que no sean entéricos, como en el caso de bacterias que infectan la piel en albercas o las que causan enfermedades a los vegetales (Evison, 1979).

Como se ha mostrado los coliformes son normalmente empleados para establecer criterios de calidad. Pero deben considerarse algunas limitaciones en cuanto a que muchos de sus miembros pueden multipli-

carse en moluscos bivalvos, mantenidos en un amplio rango de condiciones; Se ha demostrado que en invierno cuando las temperaturas bajan a 10°C, no es posible detectar a las bacterias en los ostiones y almejas cosechados de aguas altamente contaminadas, sin embargo en esta misma época han ocurrido brotes de hepatitis, sugiriendo que este virus puede persistir después que los moluscos permanecen en letargo. Así mismo se ha observado que el comportamiento de coliformes fecales en moluscos bivalvos almacenados, está cercanamente correlacionado con cambios en la densidad de salmonelas (Cabelli, 1978).

Por las causas antes mencionadas se han sugerido otros indicadores bacterianos:

**Streptococos fecales.** Estos microorganismos son usados principalmente en el análisis de alimentos congelados por su resistencia a condiciones adversas. Ha sido recomendado junto con E. coli en la examinación de ostiones, alimento y agua potable. El inconveniente es que estos organismos sufren multiplicación masiva en moluscos bivalvos que se almacenan en temperaturas de 11°C.

**Anaerobios.** El más ampliamente usado es Clostridium perfringens por ser el más común en heces, aguas residuales y suelo, pero puesto que sus esporas son muy resistentes a los cambios ambientales adversos su significado como indicador de contaminación reciente es cuestionable, sin embargo, la resistencia de virus en agua de mar y la capacidad de algunas cepas de E. coli a multiplicarse fuera del cuerpo, lo su-

gieren como un útil indicador. A pesar de esto, en la actualidad no es usado en la determinación de calidad sanitaria de moluscos bivalvos y sus áreas de crecimiento.

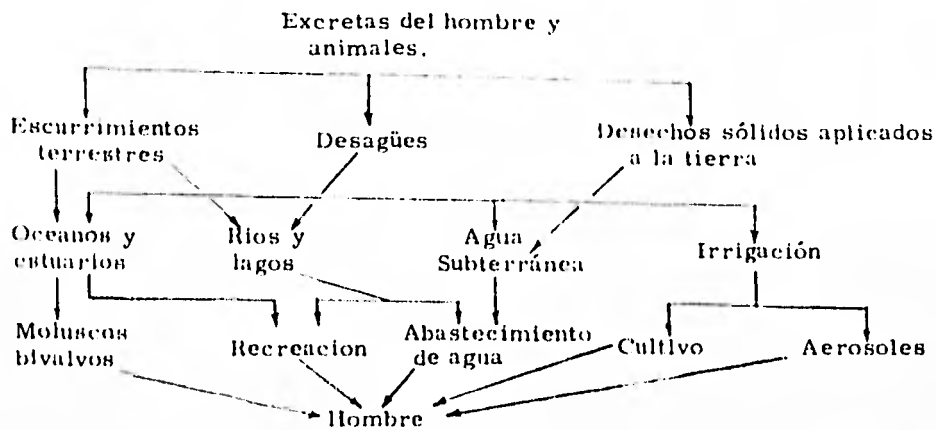
**Colifagos.** La evidencia de que algunos de estos organismos en altas densidades se aproximan a aquellas de coliformes durante varios estadios de tratamiento, los hacen útiles indicadores, aunque su uso sería dudoso puesto que su presencia en heces humanas es esporádica y depende del tipo de organismos estudiados, y de las enfermedades prevalentes de la zona estudiada.

Vibrio parahaemolyticus. Este organismo ha sido responsable de varios brotes usualmente similares a la salmonelosis, por el consumo de productos marinos crudos. Es un organismo restringido a aguas costeras tropicales y su distribución actual ha sido debida al aumento en el comercio internacional de alimentos congelados. Japón ha sugerido un límite permisible de estos microorganismos, de tal forma que no deben encontrarse en número mayor a  $10^4$  en un gramo de tejido. Sin embargo es sabido que difícilmente se aíslan de los alimentos y no pueden ser cultivados en medios selectivos para enterobacterias (Cortessi, 1977; Levin, 1978).

## ORIGEN DE LAS ENFERMEDADES ENTERICAS.

La diseminación de patógenos en el ambiente es compleja y normalmente cíclica (Pike y Carrington, 1979), ya que se incluyen a las excretas humanas como el vehículo primario de bacterias infecciosas, el agua o alimento pueden ser el vehículo secundario y final o puede haber un tercer estadio en su distribución. El agua se considera el vehículo más importante de distribución, puesto que la liberación de desechos fecales en esta introduce una amplia variedad de patógenos intestinales que encierran peligro, principalmente cuando se utiliza para: enfriamiento de alimentos (leche); lavado de utensilios; baño, cultivo de vegetales, moluscos bivalvos y otros productos (Holden, 1970). Por este hecho uno de los alimentos que puede ser inmediatamente responsable en la transmisión de enfermedades es el ostión.

Todo lo dicho anteriormente sobre los posibles medios de transmisión de enfermedades entéricas puede quedar resumido en el siguiente cuadro (Bitton, 1978):



Como se ha podido observar el agua juega, entonces, una función directa o indirecta en la dispersión de enfermedades, por lo que se considera que los microorganismos patógenos pueden llegar al hombre a través del agua contaminada (Dart y Stretton, 1977; Holden, 1970).

En la siguiente table se enlistan los organismos y las enfermedades que producen al hombre.

ORGANISMO	ENFERMEDAD	SITIO AFECTADO
<b>Bacterias:</b>		
* <u>Salmonella typhi</u>	fiebre tifoidea	Tracto gastrointestinal
* <u>S. choleraesuis</u>	salmonelosis gastroenteritis	Tracto gastrointestinal
* <u>S. enteritidis</u> y otros serotipos }		Tracto gastrointestinal
* <u>Shigella</u> sp.	disenteria	Tracto gastrointestinal
* <u>Vibrio cholera</u>	colera I	Intestino delgado
* <u>E. coli</u> enteropatógena	gastroenteritis	Tracto gastrointestinal
<u>Francisella tularensis</u>	tularemia	Tracto respiratorio Tracto gastrointestinal Nódulos linfáticos
<u>Leptospira icterohaemorrhagiae</u>	leptospirosis	Generalizado
<u>Mycobacterium tuberculosis</u>	tuberculosis	Pulmones y otros órganos
<b>Virus:</b>		
Enterovirus		
* Poliovirus	parálisis, meningitis aseptica.	
Coxsackievirus	herpangia, meningitis, infección respiratoria, fiebre, pleuritis,	
Echovirus	infección respiratoria, meningitis, diarrea, pericarditis, miocarditis, fiebre, salpullido	



Reovirus	infección respiratoria	
Adenovirus	gastroenteritis conjuntivitis aguda, infección respiratoria superior aguda, infec- ción de los ojos.	
*Hepatitis viral	hepatitis.	
Protozoarios:		
* <u>Entamoeba histolytica</u>	amibiasis	Tracto gastrointestinal
<u>Giardia lamblia</u>	giardiasis	Tracto gastrointestinal
<u>Naegleria gruberi</u>	meningoencefalitis amibiana	Sistema nervioso central
Gusanos parásitos:		
* <u>Taenia saginata</u>	teniasis	Tracto gastrointestinal
* <u>Ascaris lumbricoides</u>	ascariasis	Intestino delgado
* <u>Schistosoma mansoni</u>	} esquistosomiasis	Vejiga
* <u>Schistosoma japonica</u>		
* <u>Schistosoma haematobium</u>		
<u>Necator americanus</u>		
<u>Ancylostoma duodenales</u>	} anquilostomiasis	Tracto gastrointestinal
<u>Diphyllobothrium latum</u>	difilobotriasis	Tracto gastrointestinal
<u>Echinococcus granulosus</u>	equinococosis	Higado y pulmones.
<u>Anisakis sp.</u>	anisaquiiasis	Tracto gastrointestinal

Nota: \* Enfermedades que se presentan más comunmente.

Los patógenos encontrados en agua contaminada varían de acuerdo a la zona geográfica o regional y dependen también de los factores culturales, socioeconómicos y sanitarios de cada lugar (Metcalf, 1978). Por lo que es importante hacer determinaciones de patógenos en el agua residual de cada comunidad y así conocer las enfermedades que prevalecen en dicha zona. Los patógenos humanos pueden ser portados por otros animales de sangre caliente adquiridos durante la ingestión de agua o alimento contaminado, por lo que pueden ser directa o indirectamente la fuente de contaminación de los alimentos (principalmente a través de

sus heces) (Bitton, 1978); Frazier, 1967). A continuación se describirán a los organismos patógenos más frecuentes.

### Salmonella sp.

Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos gram negativos, no esporulan, pueden ser móviles o no, fermentan la glucosa - con producción de gas, pero no a la lactosa. Crecen en un amplio rango de temperatura y pH. Con temperaturas máximas cerca de 45.0°C y - óptimas de 37°C. Las especies difieren en resistencia al calor y factores ambientales para su crecimiento, solo se multiplican en el intestino y en los alimentos (Holden, 1970; Frazier, 1967).

Estos bacilos son responsables de la fiebre entérica que incluyen fiebre tifoidea y paratifoidea causados por Salmonella typhi, que es el agente etiológico del hombre, y Salmonella paratyphi B que son comúnmente encontradas en animales, principalmente en aves y reptiles (salvajes y domésticos), que actúan como portadores asintomáticos. Un gran número de serotipos de Salmonella son patógenos al hombre y la frecuencia de su aislamiento varía de país en país y de año en año (Dart y Stretton, 1977; Holden, 1970). El vehículo principal de infección es el agua y el alimento contaminado aunque este último es aparentemente el más frecuente responsable de pequeños brotes de fiebre paratifoidea (Gunter, - 1980).

En lo referente a su distribución, nunca son encontrados en: desechos, suelo, agua, moluscos bivalvos, leche o vegetales excepto cuando

son contaminados recientemente.

Los portadores son seres aparentemente de buena salud que excretan en la orina o heces estas bacteria. Como regla general los portadores han padecido la enfermedad pero no fueron diagnosticados, es común que en las epidemias de fiebre entérica un pequeño porcentaje de pacientes se mantenga como portador, ya sea temporal o intermitentemente - durante toda su vida (Holden, 1970).

Otra fuente de contaminación es el procesamiento, empaque y preparación del alimento que aumenta el número de salmonelosis. El manipuleo a gran escala por comisarios e instituciones tiende a incrementar el problema de diseminación (Frazier, 1967).

Después de que los bacilos son ingeridos invaden la corriente sanguínea y son llevados a otras partes del cuerpo (bacterémia) los síntomas aparecen a los 10 o 14 días y son frecuentemente, gastroenteritis aguda con diarrea y dolores abdominales, fiebre, náuseas, vómito, pérdida de apetito, garganta inflamada y dolores de cabeza. Puede variar de ligeros síntomas a la muerte (Holden, 1970; Dart y Strelton, 1977; Frazier, 1967).

Teóricamente la ingestión de una bacteria podría causar la enfermedad y el desarrollo de anticuerpos específicos usualmente es variable por lo que la inmunidad puede ser natural o adquirida (Holden, 1970; Frazier, 1967).

#### Shigella sp.

Es también de la familia Enterobacteriaceae, tolera condiciones -

estuarinas a pesar de que presentan menor capacidad de sobrevivencia, y son susceptibles, al igual que las salmonelas, de ser depredadas por Bdellovibrio bacteriovorus y protozoarios. Su aislamiento en cuerpos de agua contaminadas es improbable por la carencia de técnicas selectivas y adecuadas, además que las características coloniales de Shigella pueden cambiar después de un tiempo en un ambiente natural (Dart y Stretton, 1977; Holden, 1970).

Causan disenteria bacilar, pudiendo ser los organismos infecciosos: Shigella flexneri, Shigella dysenteriae y Shigella sonnei. Esta enfermedad es más común en los trópicos que en zonas templadas, caracterizada por síntomas tales como, diarrea y paso de mucosa y sangre en las excretas, dolor abdominal, dolor de cabeza, puede no haber fiebre. El período de incubación es corto y su inicio repentino (Holden, 1970).

En este caso el alimento contaminado es más importante para su diseminación, aunque también se han reportado brotes originados por el consumo de agua de baja calidad, por contacto de persona a persona (Dart y Stretton, 1977; Holden, 1970) y por personas que manipulan el alimento, contribuyendo de manera importante a la contaminación (Gunter, 1979; Holden, 1970).

#### Escherichia coli enteropatógena.

Es un microorganismo común de la flora intestinal, sin embargo se han encontrado 14 diferentes serotipos, que pueden causar gastroenteritis en niños menores de 5 años, principalmente, aunque pueden

afectar también a los adultos y posteriormente tener un papel de portadores. Los síntomas son: diarrea con mucosa, náuseas, deshidratación y fiebre.

Su sobrevivencia fuera de su ambiente natural depende de factores como la temperatura, pH, nivel de nutrientes y presencia de depredadores (Dart, 1977; Holden, 1970).

#### Vibrio sp.

La enfermedad denominada cólera es causada por la bacteria Vibrio cholera, son bacilos cortos curvados gram negativos, con un flagelo polar móvil, no esporulan y son anaerobios. Sobreviven en condiciones de salinidad intermedia, baja temperatura, alto contenido orgánico, pH neutro y ausencia de microflora competidora (Holden, 1970; De Paola, 1981). En condiciones adecuadas pueden permanecer vivos en heces y suelo por 3 semanas, pero bajo condiciones naturales desaparecen antes de este tiempo, mueren más rápidamente en agua contaminada que en limpia (Dart, 1977; Holden, 1970).

Esta enfermedad (cólera) es distribuida principalmente por medio de agua y alimento contaminado. Aquí también los portadores juegan un papel importante en la diseminación. Muchos organismos semejantes a este se encuentran en el suelo y agua, y es probable que el hombre por sí solo perpetúe la enfermedad ya que Vibrio cholera no puede vivir fuera de su huésped por largos períodos de tiempo.

Se caracteriza por diarrea severa, vómito, dolores abdominales y musculares, supresión de orina, baja temperatura y presión. El periodo de incubación es corto variando de horas a pocos días (Holden, 1970).

Hay muchos vibrios semejantes a este, bioquímicamente, y otros que son patógenos al hombre como Vibrio parahaemolyticus, nativo del medio ambiente marino y en consecuencia común en organismos que viven en estuarios, su ingestión causa gastroenteritis (Cabelli, 1978; Mitchell y Chet, 1978). Estos microorganismos pueden ser correlacionados con la temperatura ya que en invierno no son detectados (están presentes en los sedimentos), y en la primavera cuando la temperatura del agua alcanza 14°C son liberados de los sedimentos. Esto los hace comunes de agua subtropical, como la del Golfo de México (Mitchell y Chet, 1978).

#### Virus.

Los virus excretados en las heces que pueden ser transmitidos a través de agua contaminada; más frecuentes son poliovirus y el virus de la hepatitis. En general su sobrevivencia es afectada por los mismos factores que afectan a las bacterias patógenas, tales como, la temperatura del agua, presencia de microorganismos competidores, etc. aunque suelen ser más resistentes que las bacterias (Dart y Stretton, 1977; Holden, 1970).

#### Poliovirus.

Causa la poliomielitis, que se caracteriza por fiebre y parálisis que puede ser permanente. La vía de entrada es la boca y el primer sitio de

infección es la faringe y tracto digestivo, sin evidencia clínica. Han sido aislados de heces, antes de 3 semanas de iniciarse los síntomas y después de 10 a 14 días de iniciado el cuadro clínico.

Ha sobrevivido cerca de 180 días en agua de río artificialmente inoculada, y mantenida a 4°C de temperatura, aunque es susceptible al calor (60°C), es resistente a agentes químicos como solventes y detergentes. La ausencia de material orgánico y la presencia de cloro es suficiente para inactivarlo.

Concerniente a la poliomielitis de origen alimenticio, es comúnmente el resultado de contaminación secundaria, la cual implica agua, superficies de contacto, insectos y especialmente manipuladores de alimento (Bitton, 1978; Holden, 1970).

#### Hepatitis.

Puede ser distribuido por agua contaminada con alto contenido de material fecal. El contacto de persona a persona es también una forma de diseminación. Es más resistente al cloro residual que poliovirus, y sobrevive por cerca de diez meses a temperaturas de 8-10°C en comparación con Escherichia coli que desaparece más rápido bajo estas condiciones (Holden, 1970).

En general la susceptibilidad del hombre a las enfermedades infecciosas, varía con las especies y cepas de los microorganismos y el número de bacterias ingeridas (Frazier, 1967; Holden, 1970).

### Protozoarios.

#### Entamoeba histolítica.

Es el agente causal de la disentería amibiana o amibiasis intestinal. La infección se transmite a través de agua o alimento contaminado. Los síntomas que la caracterizan son malestar abdominal, diarrea con paso de sangre y mucosa, alternada con estreñimiento, demacración y desarrollo de abscesos hepáticos. Los huevos de este organismo, son excretados en las heces, y son los responsables de la diseminación de la enfermedad por su resistencia. Se ha encontrado que resisten temperaturas de congelación por cerca de tres meses, disminuyendo su sobrevivencia al aumentar la temperatura. Son más resistentes al cloro residual que las bacterias coli-aerógenas (Dart, 1977; Holden, 1970).

### Platelmintos.

Taenia solium, parasita el intestino, tiene una longitud aproximada de 4 m y los huevos (si son ingeridos) pueden distribuirse a través del torrente sanguíneo a otras partes del cuerpo, como músculo, hígado y cerebro, desarrollándose en cisticercos. El cerdo es importante como huésped intermediario en su ciclo de vida y es una fuente de transmisión para el hombre (Holden, 1970).

Taenia saginata, mide de 6 a 7 m, puede ser propagada por el ganado vacuno o agua contaminada, y el hombre la contrae por ingerir carne de vaca o agua que los contenga. Los huevos son resistentes a condiciones de baja temperatura y humedad (Dart, 1977; Holden, 1970).



En general las especies de Schistosoma parasitan las venas del hombre, por lo que comunmente producen anemia. Los huevos son excretados en la orina o heces y se caracterizan por presentar una espina. Su ciclo de vida depende de una fase en moluscos de agua dulce en donde alcanzan su estado larval, y otra fase en el hombre, roedores o en el ganado (Dart, 1977). El período de sobrevivencia de cercarias en el agua es de aproximadamente 48 horas.

El agua residual puede proveer un medio rico en alimento para muchas bacterias, pero la temperatura, pH, etc., pueden ser desfavorables para muchos microorganismos, así como para los parásitos estrictos del hombre (Holden, 1970). Aunado a esto el agua sirve también como un medio de dilución de organismos patógenos (Coetsee, 1962), para lo que, las principales causas de brotes epidemiológicos son la contaminación de los sistemas de distribución del agua, las deficiencias en su tratamiento o bien por el uso de agua residual no tratada (Gunter, 1979).

El problema con los ostiones y otros organismos filtradores es que si estos se encuentran en aguas contaminadas pueden concentrar durante su alimentación, junto con pequeñas partículas de detritus, microorganismos patógenos que pueden ser transmitidos al hombre al consumirlos. Las enfermedades asociadas por la ingestión de peces y moluscos bivalvos contaminados pueden ser:

Enfermedades parasitarias. Se adquieren principalmente por ingerir pescado crudo o mal procesado, en las que se incluyen tremátodos,

céstodos y nemátodos. Entre los tremátodos se encuentran cerca de 40 especies que tienen como huésped intermediario a los moluscos, peces y finalmente el hombre, pudiendo parasitar los conductos biliares, hígado e intestino. Otros como Paragonimus pueden invadir los pulmones. Los céstodos tienen copéodos como huéspedes intermediarios que dentro del hombre maduran en tenias causando debilidad y anemia. Diphyllobothrium migra a la piel causando esparagonosis. (FAO/SIDA, 1978).

La enfermedad anisakiasis afecta el tracto gastrointestinal, esta es causada por la ingestión de arenque inadecuadamente cocido y otros peces marinos que contengan estados larvales de nemátodo. El agente infeccioso es Anisakis sp. cuyo ciclo de vida es desconocido (Dart, 1977; FAO/SIDA, 1978).

Enfermedades bacterianas. Dentro de estas las más frecuentes, debidas al consumo de productos marinos, se encuentran:

Vibrio parahaemolyticus, que se multiplica en el alimento más rápidamente que muchos otros patógenos. Vibrio cholera, persiste en peces y moluscos bivalvos cerca de 2 o 5 días a temperatura ambiente y en refrigeración de 1 a 2 semanas. Salmonella sp., en climas tropicales el riesgo de contraer una infección por ingerir pescado o moluscos bivalvos que contengan dicha bacteria, es mayor. Clostridium botulinum, esta bacteria al crecer en alimentos marinos mal procesados produce toxinas que son las responsables del botulismo en el hombre. Estas toxinas son peligrosas ya que no producen cambios de sabor y olor en el ali-

mento.

**Enfermedades virales.** La hepatitis ha sido frecuentemente reportada al ser adquirida por el consumo de ostiones y almejas tomados de agua de mar contaminada.

No se conoce aún que las enfermedades virales y micóticas que atacan a peces y moluscos bivalvos sean transmitidas al hombre, aunque sí lo son algunas bacterianas y paracitarias. Estas enfermedades en los peces, pueden alterar su sabor y apariencia, haciéndolos inaceptables para su consumo, sin embargo no afectan la salud del hombre.

Dentro de las bacterias que afectan peces y moluscos bivalvos así como al hombre y animales de sangre caliente son: Vibrio, Mycobacterium y Aeromonas. Algunos helmintos que infectan a peces en su estadio larval pueden causar infecciones en humanos así como parasitarlos (FAO/SIDA, 1978). Es por lo tanto importante hacer estudios sobre el destino de huevos, quistes de parásitos y virus, así como su remoción del agua para disminuir el riesgo de transmisión de enfermedades tanto al hombre como a los animales (Pike y Carrington, 1979).

## METODOLOGIA.

Para la realización de este estudio, se llevó a cabo: trabajo de campo y de laboratorio.

### -Trabajo de campo:

Este consistió principalmente en la adquisición de ostión en el mercado; obteniéndose ostiones manipulados (desconchados y envasados) y ostiones completos (sin desconchar). Además se realizaron muestreos en lagunas del Golfo de México para tener un punto de comparación, aproximado, del contenido bacteriano de ostiones no procesados.

El principal distribuidor de productos pequeños en el D.F. es el mercado de la "Viga", por lo que fué elegido para realizar el estudio. La obtención de muestras fué al azar considerando todos los expendios, se hizo primeramente una visita para trazar un mapa del mercado, enumerando cada uno de sus puestos y eligiendo dos diferentes locales cada vez que se compraban los productos. En un número de locales muy reducido, se podían obtener los dos tipos de muestras (principalmente se obtenían ostiones desconchados), por lo que en los resultados aparece un número mayor de datos en ostiones desconchados. Los frascos y bolsas conteniendo las muestras se etiquetaban y trasladaban al laboratorio en hielo, en aproximadamente 45 min.

La selección de sitios de muestreo en las lagunas, fué hecha con el criterio, de que, en ellas existiera una explotación ostrícola importante (Gutiérrez, 1965), con el conocimiento previo que la zona del Golfo de México es la que principalmente abastece de ostión al mercado del D.F.

Las lagunas muestreadas en este trabajo fueron: El Conchal, Ver., Mecoacan, Tab. y Tamiahua, Ver.

La recolección de muestras se realizó intercalada a los muestreos efectuados en el mercado del D.F.

Se hicieron tres muestreos en El Conchal, Ver. y Mecoacan, Tab. en diferentes épocas, y solamente se realizó un muestreo en Tamiahua, Ver. En cada laguna se eligieron tres estaciones tomando en cuenta el área de mayor producción ostrícola. En ellas se muestreó agua, sedimento y ostión.

Muestras de agua. Se utilizaron botellas de vidrio borosilicado con tapón esmerilado, tanto la boca como el tapón fueron forrados con papel aluminio, por separado, para su fácil manejo. La esterilización se llevó a cabo en una estufa a  $160^{\circ}\text{C}$  durante 1h, (APIA, 1970; Standard Methods, 1976). La toma de la muestra se realizó, introduciendo la botella aproximadamente 0.5m (con la mano), se tomaron en cuenta todas las recomendaciones establecidas (Millipore Corp., 1973; SRH). Cada frasco se llenó aproximadamente hasta las dos terceras partes de su capacidad para facilitar su posterior agitación. Se etiquetaron y se mantuvieron en hielo durante su transporte al laboratorio.

Muestras de sedimento. En este caso se emplearon frascos de vidrio de boca ancha y tapas de rosca, las cuales se forraron con papel aluminio y se esterilizaron a  $121^{\circ}\text{C}$  y 15 lbs. de presión durante 15 min. La toma de muestras se efectuó por buceo con una pala de plástico estéril. Los

frascos fueron llenados hasta la mitad, etiquetados y transportados en hielo hasta su llegada al laboratorio.

Muestras de ostión. Se colectó por buceo y en algunos casos por medio de gafas, ostión de un tamaño lo más cercano a su talla comercial (80-150 mm), se colectaron en bolsas de polietileno, una por lote (12-20 ostiones), en cada estación de la laguna. Las bolsas se cerraban con ligas y se etiquetaron. Fueron también transportados en hielo.

El traslado de las muestras fué por transporte terrestre, con una duración no mayor de 12h, tomando en cuenta la recomendación de procesarlas antes de 24h (APHA, 1970). Se vigiló la refrigeración de las muestras, ya que, en la literatura se ha reportado el hecho de que se presenta un incremento de bacterias después de una hora de su colección si no son refrigerados.

El muestreo se llevó a cabo del mes de mayo de 1979 al mes de julio de 1980.

-Trabajo de laboratorio.

El análisis bacteriológico de las muestras se realizó por el método de tubos múltiples de fermentación (APHA, 1970), obteniéndose el número más probable de bacterias por cada 100ml de muestra (NMP).

El método de tubos múltiples de fermentación, es el más ampliamente utilizado para cuantificar coliformes totales en material sólido, mediante dos pruebas: la prueba presuntiva, en la que se utiliza caldo luctosado como medio de cultivo y la prueba confirmativa, en donde se

emplea caldo de bilis verde brillante (BVB).

#### Prueba presuntiva.

Análisis del agua. Las muestras antes de ser analizadas se mantuvieron fuera de la hielera para que alcanzaran aproximadamente la temperatura ambiente, posteriormente fueron agitadas durante 10 seg para homogeneizar la muestra, se tomaron las alícuotas con pipetas estériles de 1 ml, , junto al mechero para inocular el caldo lactosado. Las diluciones principalmente usadas fueron de 1 ml, 0.1 ml y 0.01 ml, aunque en ocasiones se tomaron otras diluciones según la turbidez de las muestras.

Análisis del sedimento. Se pesaron 10g de sedimento en un vaso de precipitado estéril(en balanza granataria), se le agregaron 100ml de agua de dilución, homogeneizandose mediante agitación para posteriormente llevar a cabo la inoculación al caldo lactosado, con diluciones de 0.1ml, 0.01ml y 0.001ml.

#### Análisis del ostión.

Ostión en concha. La concha era lavada con agua corriente, cepillando para quitar todo exceso de sedimento adherido a ella, se colocaron en toallas de papel para escurrirlas, se abrieron con un cuchillo estéril cortando el músculo aductor que mantiene las valvas unidas, se vertió la parte blanda del ostión a un vaso de precipitados estéril cuya capacidad era de 500ml, la cantidad requerida fué de 100g, por lo que el número de ostiones variaba según su tamaño, se adicionaron 100 ml de agua de

dilución (con una probeta de 100ml estéril). Se homogeneizó todo en un vaso de licuadora estéril durante 1 min. Las diluciones realizadas fueron de 0.01ml, 0.001ml y 0.0001ml., en algunos casos se realizaron a partir de 1ml.

Ostión desconchado y envasado en el mercado. Los ostiones se sacaron del frasco con pinzas estériles (el líquido se desechó) y se depositaron en un vaso de precipitados con capacidad de 500ml, siguiendo el procedimiento citado anteriormente.

Para las diluciones se utilizó solución buffer de fosfatos "agua de dilución" (APHA, 1970). En todos los análisis, para cada dilución se inocularon series de 5 tubos.

Después de la inoculación los tubos fueron incubados a  $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante 48 h, llevándose a cabo la primera lectura a las 24 h, anotando el número de tubos positivos para cada dilución. Los tubos positivos eran los que al presentar multiplicación de bacterias mostraban producción de gas, quedando éste atrapado en el tubo invertido, esto se comprobaba también con la producción característica de burbujas al rotar el tubo. Si no se presentaban estas condiciones, la lectura se consideraba negativa.

#### Prueba confirmativa.

La prueba confirmativa, fué realizada por la inoculación de los tubos positivos de la prueba presuntiva a los tubos conteniendo medio de cultivo BVB, por medio de una asa de 30mm de diámetro aproximada-



mente (las muestras positivas a las 24h se inoculaban). Se incubaron a 35  $^{\circ}\text{C}$ , efectuando lecturas a las 24 h y a las 48 h. Las lecturas positivas y negativas se consideraron de la forma antes mencionada. El NMP aparece en el "Standard Methods, 1976" obteniéndose el número de coliformes totales.

#### Prueba de coliformes fecales.

El análisis de coliformes fecales se efectuó simultáneamente a la prueba confirmativa de coliformes totales. Los tubos conteniendo medio de cultivo "caldo E C" fueron inoculados con una asada de los tubos positivos de la prueba presuntiva. El período de incubación fué de 24 h en baño maría a una temperatura de 44.5  $^{\circ}\text{C}$ . Los tubos positivos se consideraron aquellos que mostraron gas en el tubo invertido. El NMP se calculó también de las tablas del "Standard Methods, 1976".

De los tubos positivos de caldo lactosado se tomaron tres asadas respectivamente para inocular a los tubos con caldo BVB y EC, teniendo la precaución de quemar el asa cada vez que se inoculaba de un medio a otro.

#### Detección de bacterias patógenas.

Se seleccionó al caldo tetrionato como medio de enriquecimiento (una vez que fué comprobada su efectividad con respecto a otros medios), y agar SS para el aislamiento de las colonias (Rodier, 1975; Millipore Corp 1973).

De las muestras de agua y homogenizado de sedimento y ostión se tomaron alícuotas de 10ml y se inocularon en 100ml de medio de enriquecimiento, respectivamente. Con las precauciones de esterilidad recomen

dadas,

La incubación se realizó en baño maría a una temperatura de  $42 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante 18 h.

El aislamiento se efectuó en placas de agar SS, por estrías, a partir del caldo de enriquecimiento. La incubación fué a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24-48 h.

Las diferentes cepas que crecieron sobre las placas se reaislaron en cultivo puro, usando placas de agar tripticaana soya y posteriormente, se identificaron las bacterias por diversas pruebas bioquímicas (Buchanan y Gibbons, 1974; Cowan, 1974; Jang, 1978).

## RESULTADOS

Los resultados de los análisis bacteriológicos realizados en este estudio se presentan en las tablas I - X.

En las tablas I y II se muestra que la media geométrica del contenido de bacterias coliformes totales y fecales, es más alta en ostiones desconchados en el mercado ( $3.3 \times 10^4$ ,  $8.4 \times 10^2$ ), que la de los ostiones desconchados en el laboratorio ( $1.2 \times 10^3$ ,  $3.4 \times 10^2$ ).

En las tablas III y IV, se observa un incremento de bacterias durante el procesamiento del ostión en el mercado, que va desde 360 a 10 veces en coliformes totales y de 70 a 2.2 veces de coliformes fecales, siendo en ambos casos más altos en el mes de mayo.

En la tabla V, puede notarse que el 76% y 63% de ostiones desconchados y en concha respectivamente, muestran valores por arriba del límite permisible para coliformes fecales (230/100 g), propuesto por Estados Unidos, para consumir el ostión sin peligro. En la tabla VI se muestra que el 59% de ostiones desconchados en el mercado presentan un contenido mayor de coliformes totales, al límite permisible (16 000/100 g) y solo un 13% de lotes de ostión procesados en el laboratorio rebasaban dicho límite.

Se puede observar, en la tabla VII que el ostión procedente de la laguna de Tamiahua, Ver, durante el tiempo de muestreo, tuvo la mejor calidad bacteriológica.

Los resultados bacteriológicos cualitativos, se presentan en las tablas VIII - X. Notándose una mayor diversidad de bacterias aisladas en ostiones desconchados en el mercado (tabla VIII) a diferencia de los ostiones desconchados en el laboratorio y de ostiones de los centros ostrícolas (tabla IX y X respectivamente).

Para determinar si existía diferencia significativa entre el contenido de bacterias en el ostión desconchado en el laboratorio y en el mercado se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon (Sokal y Rohlf, 1969) la cual indicó que para el caso de los coliformes totales  $W_1 = 3.9$  nos permite aceptar la  $H_0$  con una probabilidad de error por decisión  $< .05$  y con una  $W_2 = 1.08$  rechazar la  $H_0$  en el caso de coliformes fecales con la misma probabilidad de error, en ambos casos se compararon los valores con una  $Z_{\alpha(0.05)} = 1.96$

## DISCUSION.

La situación geográfica de nuestro país, con 10 000 Km de litoral y su gran superficie de ríos, lagos, esteros y cuerpos artificiales le permiten llevar a cabo una intensa actividad pesquera (Gutiérrez, 1965). Sin embargo dado el acelerado crecimiento poblacional e industrial, ha provocado alteraciones en los ecosistemas acuáticos, debido a que sus desechos son vertidos a ellos provocando modificaciones en la composición biótica.

Las lagunas costeras y esteros son ampliamente explotados por el hombre obteniendo entre otros organismos a los moluscos bivalvos que por el hecho de ser organismos bentónicos sésiles con hábitos filtradores se convierten en un vector importante de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas para el hombre (EPA, 1973).

En México no existe a la fecha una reglamentación que establezca la calidad del agua para el desarrollo de organismos acuáticos. Pero al analizar la vigente en Estados Unidos se puede asegurar que la calidad del agua de las zonas ostrícolas es de lo más estricta en lo que se refiere al contenido de biotoxinas, metales pesados, hidrocarburos y microorganismos patógenos. Ya que durante su respiración y alimentación pueden acumular a estos de  $10^3$  a  $10^6$  veces más de los que se presentan en el agua (Phillips, 1976).

La mala planeación de zonas habitacionales en nuestro país ha traído como consecuencia que las aguas negras sin previo tratamiento

sean vertidas a los cuerpos de agua aledaños permitiendo el desarrollo de diversos microorganismos, que al contaminar a los organismos acuáticos hacen que pierdan su calidad como alimento. Esto pudo observarse en el centro ostrícola, El Conchal en Veracruz, ya que al analizarse muestras de ostión, agua y sedimento se encontró un alto contenido de bacterias totales y fecales, sobrepasándose el límite permisible (16 000/100 g y 230/100 g respectivamente), establecido para poder consumir el ostión.

Así mismo los resultados obtenidos en la laguna de Mecocan, Tab. sobrepasaron dicho límite, ello se relacionó con los grandes núcleos poblacionales existentes en la zona de Veracruz (aproximadamente 10 millones de habitantes) y en Tabasco (aproximadamente 6 millones), (Gutiérrez, 1965). En el caso de la laguna de Tamiahua el contenido bacteriano fué bajo, ello se atribuye principalmente a las pocas zonas habitacionales establecidas en sus alrededores, así como el gran volumen con el que cuenta la laguna, llevando a cabo eficientemente el proceso de dilución y autodepuración, sin dejar de considerar el efecto bactericida del agua marina (Anson y Ware, 1975). Otro punto que debe tomarse en cuenta es el efecto contaminante causado por los desechos de la actividad petroquímica, que además de disminuir la producción ostrícola (Ramírez y Sevilla, 1965) altera de manera importante el contenido real bacteriano (Holden, 1970).

Estos centros son los que principalmente abastecen de ostión al centro de la República (Gutiérrez, 1965) de aquí la importancia de vigilar la calidad del producto, no solo durante su desarrollo sino también durante su transporte, almacenamiento y procesamiento, ya que es un organismo que comunmente es consumido crudo.

Generalmente el ostión es transportado en sacos de yute; cuyos requerimientos sanitarios son, el de estar limpios y secos, pues se ha comprobado el desarrollo de Salmonella typhi y Salmonella paratyphi B, en aquellos que permanecen húmedos (Holden, 1970 y Ericksen, 1966). Los ostiones almacenados en hielo pueden permanecer frescos durante dos semanas, sufriendo variaciones en cuanto el tipo de bacterias presentes en los primeros cuatro o cinco días (Martín, et. al., 1978). En cambio, al ser congelados pueden ser mantenidos vivos por cerca de seis meses (Salvato, 1972), debido al cierre de sus valvas y a la disminución de su actividad metabólica a bajas temperaturas. La sobrevivencia del ostión en altas temperaturas varía de dos a diecisiete días cuando este se encuentra entre 14-23°C. Si el cierre de sus valvas ocurre a temperaturas ambientales, de 30-35°C que es la que frecuentemente se registra en la zona costera del país, hay una considerable mortalidad en aproximadamente 24 horas (Lund, 1957), iniciándose el proceso de autólisis que implica el incremento de ciertas bacterias. Esto puede explicar el porqué en el mes de mayo se detectó un mayor contenido bacteriano adjudicándose este hecho al aumento de la temperatura ambiental.

La gran demanda del ostión se debe a su alto contenido protéico por lo que este se distribuye fácilmente a través de mercados y supermercados en los cuales el aspecto sanitario es deficiente durante el procesamiento, ya que es común que el ostión se desconche y se envase con un cierto contenido de agua el cual incluye su propio líquido. El equipo utilizado y el personal que lo manipula incrementa su contenido bacteriano, pudiendo afectar la salud del consumidor.

Uno de los principales mercados, distribuidor de productos pesqueros en el D.F. es el mercado de la Viga, en el que se procesa el ostión en condiciones deplorables, ello se ha reflejado en el contenido de bacterias coliformes del orden de  $10^4$  -  $10^5$  por cada 100g y de coliformes fecales de  $10^2$  -  $10^3$  por cada 100g en ostiones desconchados.

Esto es significativo si lo comparamos con el ostión que se desconcha en el laboratorio, al que previamente se le removió el sedimento de las conchas y se utilizaron utensilios debidamente lavados, disminuyéndose de esta forma, los coliformes totales de un 99.7% a un 90% y las fecales de un 98.5% a un 54.7%. Es claro que el lodo y detritus de la superficie exterior de la concha da la posibilidad de incorporación de bacterias durante el desconchado del ostión, que sería la fuente más importante de contaminación (Kelly y Arcisz, 1954; Vasconcelos, 1966b).

El que se observe mayor incremento en bacterias coliformes totales que en fecales en ostión desconchado y con concha puede deberse a que éstos microorganismos que están presentes, en las branquias y en

el caso de Escherichia sp. y Serratia sp., cuando muere el ostión, invaden el tejido en aproximadamente 3 a 5 días contribuyendo a su descomposición (Martín et. al., 1978). Además se encontraron otros tipos de bacterias entéricas que intervienen tanto en la descomposición del ostión como en la producción de enfermedades gastrointestinales: Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Proteus, Sarcina, Streptococcus y Clostridium (Frazier, 1967).

El hecho de haber utilizado las bacterias coliformes totales y fecales como indicadoras de contaminación, se debió principalmente a que se han usado otros métodos para la estimación de E. coli y se ha comprobado que es más conveniente el método de NMP, ya que se pueden detectar bajos contenidos de bacterias, además de ser recomendados ampliamente para la estimación bacteriológica de los ostiones (Qadri et. al., - 1973 ;Volterra, et. al., 1980) y a que estadísticamente se han establecido altas probabilidades en el aislamiento de Salmonella cuando se detectan cantidades de 1 000 E. coli/100 ml (Evison, 1979), observando que las cifras detectadas en este estudio fueron de esta magnitud por lo que se consideró conveniente llevar a cabo el aislamiento de bacterias que podían constituir un riesgo para la salud, principalmente de Shigella y Salmonella las cuales no se aislaron, debido a que se encuentran en bajas concentraciones, lo que implica una metodología específica y experiencia. Así mismo se ha encontrado que la probabilidad de aislar Salmonella decrece cuando la concentración de coliformes fecales incrementa (Smith



et al, 1973). Sin embargo fue posible aislar diferentes géneros bacterianos implicados en enfermedades entéricas como: Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas sp. (Hoobs, 1977; Frazier 1967), Aeromonas hidrophila, Plesiomonas shigelloides (Gunter, 1970). Es posible que debido a estos hallazgos, los problemas entéricos ocupen el primer lugar en la presentación de enfermedades en nuestro país (Calderson, 1975) aun cuando este tipo de germen es no se diagnostican.

Por lo anterior se considera inminente contar en nuestro país con una reglamentación para prevenir y controlar la contaminación tanto química como biológica del alimento, así mismo es de gran importancia realizar estudios a nivel estadístico que nos indiquen la incidencia de enfermedades entéricas y su relación con la dosis mínima infecciosa, ya que todos estos datos serán necesarios para normar los criterios que son específicos en cada país, ya que sus condiciones socioeconómicas y culturales son factores primordiales en el aspecto epidemiológico.

## BIBLIOGRAFIA.

- Anson, A. y Ware, G. 1975. Laboratory studies on the effect of the - container on the mortality of Escherichia coli in sea water. Wat. Res. 9 : 895-899
- APHA, 1970. Recommended procedures for the bacteriological examination of water and shellfish. 4th ed. Ed. American Public Health Association, Nueva York : 105
- Ayres, P. 1978. Shellfish purification in instalaciones using ultraviolet light. Ministry of Agriculture Fisheries and Food Directorate of Fisheries Research. 43 : 21
- Barnes, R. 1969. Zoología de los invertebrados. Ed. Interamericana, México : 340-368
- Barrington, E. 1967. Invertebrate structure and function, Ed. Nelson, Londres.
- Bitton, G. 1978. Survival of enteric virus. En: Water Pollution Microbiology. Mitchell, R. Ed. John Wiley and Sons, Nueva York. 2 : 273-299
- Buchanan, R. y Gibbons, N. 1976. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Ed. Williams and Wilkins Company, Baltimore
- Busu, D y Lörstad, M. 1975. Las encuestas alimentarias: fuente de datos para los programas de vigilancia de la contaminación de los alimentos. Alimentación y Nutrición, FAO, 1 : 28-30
- Burrows, W. 1973. Textbook of microbiology, 20th ed. Ed. W.S. Saunders Company. U.S.A. : 296-301.
- Cabelli, V. 1978. New standars for enteric bacteria. En: Water Pollution Microbiology. Mitchell, R. Ed. John Wiley and Sons. Nueva York. 2 : 233-271
- Calderon, E. 1975. Lo mas reciente acerca de las infecciones gastrointestinales. Ed. Parke Davis. México; 40
- Coetzee, O. 1962 a. The posible use of oysters as integrated bacteriological samples of a specific area to detect the presence of pathogens in sea water. Public health : 7-8.

- Coetzee, O. 1962 b. Shellfish a potential treat to public health. Public Health : 9
- Cortesi, M. y Della, G. 1977. Indagini microbiologiche quantitative su mitilli vivi del comercio. Archivio Veterinario Italiano, 28 : 205-211
- Cowan, S. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. 2th ed. Ed. Cambridge University Press.
- Dart, R. y Stretton, R. 1977. Microbiological aspects of pollution control Ed. Elsevier Scientific Publishing Company. Netherlands.
- DePaola, A. 1981. Vibrio cholera in marine foods environmental waters. J. Food Sci. 46:66-70
- EPA. 1973. Environmental Protection Agency. Water quality criteria. Washington, D. C.
- Ericksen, T. 1966. Storage studies on shucked oympla oysters (Ostrea lurida). En: Northwest Shellfish Sanitation Research Planing - Conference. U.S.D.H.E.W. PHS.
- Evlson, L. 1979. Microbial parameters of raw water quality. En: Biological Indicators of Water Quality. James, A. y Evlson, L. Ed. John Wiley y Sons. Nueva York:16-1 - 16-19
- Frazier, C. 1967. Food microbiology. Ed. Mc Graw-Hill. Nueva York.
- FAO/OMS. 1975. La contaminación de los alimentos: programa mixto FAO/OMS de vigilancia. Alimentación y Nutrición. 1:22-27
- FAO/SIDA. 1978. Lectures presented at the fifth. FAO/SIDA Workshop on acuatic pollution in relation to protection of living resources. Rome (enero 17-febrero 27):80-83
- Galtsoff, P. 1964. The american oyster Crassostrea virginica Gmelin. Fhishery Bulletin. 64 : 480
- Gunter, F. 1980. Disease outbreaks caused by drinking water. Jour. - Water Poll. Control Fed. 52 : 1833-1847
- Gutierrez, T. 1965. Atlas pesquero nacional, Sria. de Industria y Comercio Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México

- Hedström, C. y Lycke, E. 1963. An experimental study of oysters as virus carriers. *Am. J. Hyg.* 79: 134-142
- Hobbs, B. 1977. Problems and solutions in food microbiology. *Food Technol.* 31: 90-97
- Holden, W. 1970. Water treatment and examination. Ed. J & A Churchill Londres.
- Hunt, D. 1972. Sanitary control of shellfish and marine pollution. En: Marine pollution and sea life fishing news. Ruivo, M. LTD. FAO: 565-567
- Jang, S., Biberstein, S. y Hirsh, D. 1978. A diagnostic manual of veterinary clinical bacteriology and mycology. Ed. University of California, Davis.
- Jansen, W. 1974. Oysters: retention and excretion of three types of human waterborne. *Health Lab. Sci.* 11: 20-24
- Kelly, C. y Arcisz, W. 1954. Bacteriological control of oysters during processing and marketing. *U.S.D.H.E.W.* 69:716-720
- Levin, M. 1978. Fish and shellfish associated disease outbreaks. *Jour. Water Poll. Control Fed.* 50:1377-1381
- Lund, E. 1957. Self-silting, survival of the oyster as a closed system, and reducing tendencies of the environment of the oyster. *Institute of Marine Science.* 4: 313-319
- Martin, R., Gray, R y Pierson, M. 1978. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. *Food Technol.* 32:188-192
- Metcalf, T. 1978. Indicators for viruses in natural waters. En: Water Pollution Microbiology. Mitchell, R. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. 2:301-324
- Milipore Corp. 1973. Biological analysis of water and wastewater. Application Manual. 302. Bedford, MA. 3th ed.
- Mitchell, R. y Chet, I. 1978. Indirect Ecological effects of pollution. En: Water Pollution Microbiology. Mitchell, R. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. 2:184-185

- Phillips, D. 1976. The common mussel Mytilus edulis as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. II relationship of metals in the mussel to those discharged by industry. *Mar. Biol.* 38:71-80
- Pike, E. y Carrington, E. 1979. The fate of enteric bacteria and pathogens during sewage treatment. En: *Biological Indicators of Water Quality*. James, A. y Evison, L. Ed. John Wiley & Sons Nueva York; 20-1 - 20-32
- Qadri, R., Buckle, K. y Edwards, R. 1974. Rapid methods for the determination of fecal contamination in oysters. *J. Appl. Bact.* 37:7-14
- Ramírez, R y Sevilla M, L. 1965. Las ostras de México. *Sec. Ind. Com. Dir. Gral. de Pesca e Ind. Conexas*; 1-36
- Rodier, J. 1975. *L'analyse de l'eau*. Ed. Dunod Technique. Paris. Tomo 2
- Salvato, J. 1972. *Environmental engineering and sanitation*. 2th ed. Ed. Wiley-Interscience. U.S.A.
- Sevilla, M. 1959. Datos Biológicos para el cultivo de ostión. Guaymas Sonora. Sría. Industria y Comercio.
- Sokal, R y Rohlf, J. 1969. Biometry. Ed. W.H. Freeman and Company U.S.A., San Francisco.
- Smith, R., Twedt, R. y Krusel, L. 1973. Relationship of indicator and pathogenic bacteria in stream water. *Jour. Water Poll. Control Fed.* Washington, D. C.
- SRII \_\_\_\_\_. Técnicas de muestreo y análisis de campo (manual del curso) Subsecretaría de Planeación. Dirección Gral. de Usos del agua y prevención de la contaminación. México, D.F.
- Standard Methods, 1976. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation (1976), Standar methods for the examination of water and wastewater. 14th ed. APHA. Washington, D. C.
- Stuardo, J. y Villarroel, M. 1976. Aspectos ecológicos y distribución de los moluscos en algunas lagunas costeras de Guerrero, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnol. U.N.A.M.* 3: 65-91

- USDHEW. 1965. U.S. Department of Health, Education and Welfare. Sanitation of Shellfish Growing Areas. Washington D.C.
- Vasconcelos, G. 1966 a. Bacteriological studies on comercial processing of olympia oysters (Ostrea lurida). En: Northwest Shellfish Sanitation Research Planning Conference. U.S.D.H.E.W. PIIS.
- Vasconcelos, G. 1966 b. Storage studies on olympia oyster shellstock (Ostrea lurida). En: Northwest Shellfish Sanitation Research Planning Conference. U.S.D.H.E.W. PIIS.
- Volterra, L., Aulicino, F. Tosti, E. y Zicarellim, 1980. Bacteriological monitoring of pollution in shellfish: methodological evaluation. Water, Air and Soil Pollution 13:399-410
- Wilbur, K y Yonge, C. 1966. Physiology of mollusca. Ed. Academic Press. Londres. Vol. I y II.
- Wood, P. 1972. The principles and methods employed for the sanitary control of molluscan shellfish. En: Marine Pollution and Sea Life Fishing News. LTD. FAO: 560-565
- Wood, P. 1979. Public health aspectos of shellfish from polluted waters. En: Biological Indicators of Water Quality. James, A. y Evison, I.. Ed. John Wiley & Sons. Nueva York: 13-1 - 13-18.
- Weiser, H. 1962. Practical food microbiology and technology. Ed. The Avi Publishing Company Inc. E. U. A.
- Winston, R. 1957. Some additional differences between Crassostrea virginica and Ostrea equestris in the Gulf of Mexico area. Proc. Natl. Shellfish, Assoc. 46:76-81

TABLA I. CANTIDAD DE LOTES DE OSTION QUE PRESENTAN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BACTERIAS (LOG DEL \*NMP)

Log Coliformes Totales/100 g	Frecuencia SC		Frecuencia C	
	No. de lotes	%	No. de lotes	%
0.300 - 0.900	-	-	1	6.3
0.900 - 1.500	-	-	1	6.3
1.500 - 2.100	-	-	1	6.3
2.100 - 2.700	-	-	3	18.8
2.700 - 3.300	1	3.4	-	-
3.300 - 3.900	6	20.7	7	43.8
3.900 - 4.500	9	31.0	2	12.5
4.500 - 5.100	3	10.3	1	6.3
5.100 - 5.700	10	34.3	-	-
TOTAL	29	99.9	16	100
MG	3.3 X 10 <sup>4</sup>		1.2 X 10 <sup>3</sup>	

$W_1 = 3.9$

$P_E > 0.05$

\*NMP: Número más probable

SC Ostiones sin concha (manipulados en el mercado)

C Ostiones en concha (procesados en el laboratorio)

MG Media geométrica

TABLA II. CANTIDAD DE LOTES DE OSTION QUE PRESENTAN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE BACTERIAS FECALES (LOG DEL \*NMP)

Log Coliformes Fecales/100 g	Frecuencia SC		Frecuencia C	
	No. de lotes	%	No. de lotes	%
0.300 - 0.900	3	10.3	2	12.5
0.900 - 1.500	-	-	2	12.5
1.500 - 2.100	3	10.3	-	-
2.100 - 2.700	6	20.7	4	25.0
2.700 - 3.300	5	17.2	3	18.8
3.300 - 3.900	6	20.7	4	25.0
3.900 - 4.500	3	10.3	1	6.3
4.500 - 5.100	3	10.3	-	-
TOTAL	29	99.8	16	100
MG	8.4 X 10 <sup>2</sup>		3.4 X 10 <sup>2</sup>	

$W_2 = 1.08$

$P_E < 0.05$

\*NMP: Número más probable

S C Ostiones sin concha (manipulados en el mercado)

C Ostiones en concha (procesados en el laboratorio)

M G Media geométrica



**TABLA III. CONCENTRACION PROMEDIO DE COLIFORMES TOTALES  
EN OSTION CON CONCHA (C) Y SIN CONCHA (SC)**

Fecha	Coliformes totales (promedio)		SC / C *
	SC	C	
MAYO	$7.2 \times 10^4$	$2 \times 10^2$	360
JUNIO	$4.6 \times 10^4$	$2.1 \times 10^3$	22
JULIO	$1.4 \times 10^4$	-	-
AGOSTO	$1.8 \times 10^4$	-	-
SEPTIEMBRE	$5.6 \times 10^4$	$5.5 \times 10^3$	10
NOVIEMBRE	$2.8 \times 10^5$	$2.9 \times 10^3$	96

SC / C \* : Relación para obtener el incremento de bacterias que presenta el ostión al desconcharse.

TABLA IV. CONCENTRACION PROMEDIO DE COLIFORMES FECALES EN OSTION CON CONCHA (C) Y SIN CONCHA (SC)

Fecha	Coliformes fecales (promedio)		
	SC	C	SC/C*
MAYO	$3.6 \times 10^3$	51	70
JUNIO	$1.9 \times 10^3$	$8.6 \times 10^2$	2.2.
JULIO	$5.2 \times 10^2$	-	-
AGOSTO	$2.4 \times 10^2$	-	-
SEPTIEMBRE	$5.9 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	4.5
NOVIEMBRE	$7.5 \times 10^3$	$9.4 \times 10^2$	7.9

SC/C\*: Relación para obtener el incremento de bacterias que presenta el ostión al desconcharse.

TABLA V. CANTIDAD DE LOTES DE OSTIONES QUE PRESENTAN UN CONTENIDO  
 > O < AL LIMITE PERMISIBLE PARA SU CONSUMO.

Coliformes Fecales/100 g	Desconchados	Concha
< 230	7	6
≥ 230	22	10
TOTAL	29	16
% ≥ 230	75,9	62,5

$$X^2 = 0.926$$

$$P_E > 0.05$$

Establecido por : U. S. Department of Health, Education and Welfare (1965).

TABLA VI. CANTIDAD DE LOTES DE OSTIONES QUE PRESENTAN UN CONTENIDO  
> O < AL LIMITE PERMISIBLE PARA SU CONSUMO.

Coliformes Totales/100 g.	Desconchados	Concha
<16 000	12	14
≥16 000	17	2
TOTAL.	29	16
% ≥16 000	58.6	12.5

$$X^2 = 5.67$$

$$P_E < 0.05$$

Establecido por : U.S. Department of Health, Education and Welfare (1965)

TABLA VII. CONCENTRACIONE PROMEDIO DE BACTERIAS EN AGUA, SEDIMENTO Y OSTION EN ALGUNOS CENTROS OSTRICOLAS.

Lugar de colecta	Muestra	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
Laguna El Conchal Ver.	Agua	$1.7 \times 10^3$	$3.2 \times 10^2$
	Sedimento	$2.9 \times 10^3$	$1.9 \times 10^2$
	Ostión	$23.5 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$
Laguna Mecoacan Tab.	Agua	$2.7 \times 10^2$	59.0
	Sedimento	$1.8 \times 10^2$	19.0
	Ostión	$17.4 \times 10^2$	$16.8 \times 10^2$
Laguna Tamiahua Ver.	Agua	2.0	2.0
	Sedimento	34.0	2.0
	Ostión	30.0	10.0

TABLA VIII. BACTERIAS ENTERICAS AISLADAS DE OSTION  
DESCONCHADO EN EL MERCADO.

Fecha	Concentración promedio (SC)	Bacterias identificadas
MAYO	*C Totales $7.2 \times 10^4$	<u>Aeromonas sp.</u> <u>Citrobacter intermedius</u> <u>Chromobacterium spp.</u> <u>Escherichia coli</u>
	**C Fecales $3.6 \times 10^3$	<u>Klebsiella ozaenae</u> <u>Pleisomonas shigelloides</u> <u>Proteus mirabilis</u>
JUNIO	*C Totales $4.6 \times 10^4$	<u>Beneckeia sp.</u> <u>Citrobacter intermedius</u> <u>Escherichia coli</u>
	**C Fecales $1.9 \times 10^3$	<u>Klebsiella ozaenae</u> <u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Proteus mirabilis</u>
JULIO	*C Totales $1.4 \times 10^4$	<u>Aeromonas hydrophila</u> <u>Aeromonas sp.</u> <u>Chromobacterium violaceum</u> <u>Citrobacter intermedius</u> <u>Enterobacter aerogenes</u> <u>Enterobacter cloacae</u>
	**C Fecales $5.2 \times 10^2$	<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Proteus mirabilis</u> <u>Pseudomonas diminuta</u> <u>Serratia liquefaciens</u>
AGOSTO	*C Totales $1.8 \times 10^4$	<u>Aeromonas salmonicida</u> <u>Aeromonas sp.</u> <u>Citrobacter freundii</u> <u>Escherichia coli</u>
	**C Fecales $2.4 \times 10^2$	<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Proteus mirabilis</u> <u>Pseudomonas sp.</u> <u>Serratia liquefaciens</u> <u>Serratia spp.</u>

TABLA IX. BACTERIAS ENTERICAS AISLADAS DE OSTION  
DESCONCHADO EN EL LABORATORIO.

Fecha	Concentración promedio (C)	Bacterias identificadas
MAYO	*C Totales $2 \times 10^2$	<u>Chromobacterium violaceum</u> <u>Erwinia herbicola</u> <u>Klebsiella atlantae</u>
	**C Fecales 51	<u>Klebsiella ozaenae</u> <u>Proteus mirabilis</u>
JUNIO	*C Totales $2.1 \times 10^3$	<u>Aeromonas sp.</u> <u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Serratia liquefaciens</u>
	**C Fecales $8.6 \times 10^2$	
SEPTIEMBRE	*C Totales $5.5 \times 10^3$	<u>Alcaligenes sp.</u> <u>Citrobacter intermedius</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>
	**C Fecales $1.3 \times 10^3$	<u>Proteus mirabilis</u>
NOVIEMBRE	*C Totales $2.9 \times 10^3$	
	**C Fecales $9.4 \times 10^2$	<u>Citrobacter freundii</u>

\*C Totales      Coliformes Totales

\*\*C Fecales      Coliformes Fecales

(continuación)

SEPTIEMBRE	*C Totales	<u>Citrobacter intermedius</u>
	5.6 X 10 <sup>4</sup>	<u>Enterobacter agglomerans</u>
	**C Fecales	<u>Erwinia herbicola</u>
	5.9 X 10 <sup>3</sup>	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
		<u>Proteus mirabilis</u>
		<u>Pseudomonas fluorescens</u>
		<u>Serratia rubidaea</u>

---

NOVIEMBRE	*C Totales	<u>Aeromonas hydrophila</u>
	2.8 X 10 <sup>3</sup>	<u>Aeromonas sp.</u>
	**C Fecales	<u>Citrobacter freundii</u>
	7.5 X 10 <sup>3</sup>	<u>Klebsiella pneumoniae</u>

---

\* C Totales Coliformes Totales

\*\*C Fecales Coliformes Fecales



TABLA X. BACTERIAS ENTERICAS AISLADAS DE OSTIONES  
DE ALGUNOS CENTROS OSTRICOLAS

Lugar de colecta	Concentración promedio	Bacterias identificadas
Laguna El Conchal Ver.	*C Totales $23.5 \times 10^3$	<u>Beneckeia sp.</u> <u>Citrobacter intermedius</u> <u>Escherichia coli</u>
	**C Fecales $2.0 \times 10^3$	<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Proteus mirabilis</u>
Laguna Mecoacan Tab.	*C Totales $17.4 \times 10^2$	<u>Acromonas hydrophila</u> <u>Beneckeia sp.</u> <u>Erwinia herbicola</u>
	**C Fecales $16.8 \times 10^2$	<u>Klebsiella pneumonia</u> <u>Proteus mirabilis</u> <u>Pasterella haemolittica</u>
Laguna Tamiagua Ver.	*C Totales 30.0	<u>Klebsiella sp.</u> <u>Pseudomonas putida</u>
	**C Fecales 10.0	<u>Proteus mirabilis</u>
*C Totales	Coliformes Totales	
**C Fecales	Coliformes Fecales	