

Carga bacteriana en ostión (*crassostrea virginica*)* desde su recolecta hasta su consumo

Pilar Negrete Redondo,¹ Jorge Romero Jarero²

Resumen. El ostión *Crassostrea virginica* se enfrenta a limitaciones ocasionadas por problemas sanitarios. El objetivo de esta investigación fue evaluar la carga bacteriana en el ostión *C. virginica*, desde su recolecta en la Laguna de Alvarado, Veracruz, hasta su distribución, venta y consumo en diferentes centros comerciales de la Ciudad de México. Las bacterias aisladas se purificaron, e identificaron, siguiendo los criterios del Manual de Merck y se confirmó con el API-20E. Para determinar la diferencia significativa entre y dentro de todas y cada una de las fases de comercialización del recurso, se aplicó análisis de varianza unilateral. Las razón de F calculadas indicaron homogeneidad dentro de cada fase en cuanto a cantidad y diversidad de especies; diferencias significativas cualitativas y cuantitativas entre las fases; indicando incremento de la incidencia de Enterobacterias y de especies de los géneros *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*, pero disminuyendo el número de unidades formadoras de colonias por mililitro de estas especies. La carga bacteriana del ostión difiere con respecto a la diversidad

* Gmelin, 1871.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento El hombre y su ambiente.
e-mail: sutrisima@hotmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.
e-mail: jordiromeronegrete@hotmail.com

de especies o al número de unidades formadoras de colonias por mililitro de éstas desde su recolección hasta su distribución, venta y consumo en diferentes puntos de la Ciudad de México.

Palabras clave: *Crassostrea virginica*, Alvarado, Veracruz, enterobacterias, proceso de comercialización, Normas Oficiales Mexicanas.

Abstract. The oyster *Crassostrea virginica* faces limitations due to sanitary problems. The objective of the present study was to evaluate the bacterial charge of the oyster, *Crassostrea virginica*, from the collection point in Laguna de Alvarado, Veracruz, up to distribution channels to sales and consumption in different commercial points in Mexico City. The bacteria were isolated, quantified, purified and presumably identified, following the Merck Manual criteria and then results were confirmed with the API-20E. In order to determinate the significant differences between each of the commercialization process stages unilateral variance analysis was made. Different calculated F ratio, indicated homogenous condition stage of the process in relation to quantity and diversity of isolated species, and significant differences of the qualitative and quantitative characteristics, between the stages of oyster, increase the incidence of enterobacterias and species to the generous *Vibrio*, *Aeromonas* and *Pseudomonas* and lowering the colony unit former in ml of these species during the commercialization of the resource, which led to accept: the bacterial charge of the oyster, *C. virginica*, does not differ significantly in relation to the species diversity or the number of colony unit former in ml, during its commercialization from its collection to its distribution, sale and consumption.

Key words: *Crassostrea virginica*, Alvarado, Veracruz, enterobacteria, commercialization process, Mexican Legales Norms.

Résumé. L'hôte *Crassostrea virginica* affronte des limitations occasionnées par des problèmes sanitaires. L'objectif de cette recherche a été d'évaluer la

charge bactérienne de l'huître C. virginica, depuis sa récolte dans la Lagune d'Alvarado, État de Veracruz, au Mexique, jusqu'à sa distribution, vente et consommation dans différents centres commerciaux de la Ville de Mexico. Les bactéries isolées ont été purifiées et identifiées, suivant les critères du Manuel de Merck et confirmées avec l'API-20E. Pour déterminer la différence significative entre et au sein de chacune des phases de commercialisation de la ressource, il a été appliqué une analyse de variance unilatérale. Les rapports de F calculés indiquent une homogénéité de chaque phase quant à la quantité et diversité d'espèces; des différences significatives qualitatives et quantitatives entre les phases; ce qui montre une croissance de l'incidence des Entérobactéries y des espèces des genres Vibrio, Aeromonas et Pseudomonas, mais en diminuant le nombre d'unités formatrices de colonies par millilitre de ces espèces. La charge bactérienne de l'huître diffère en fonction de la diversité des espèces ou du nombre des unités formatrices de colonies par millilitre depuis leur récolte jusqu'à leur distribution, vente et consommation dans différents points de la Ville de Mexico.

Mots-Clés: *Crassostrea virginica, Alvarado, État de Veracruz, Entérobactéries, processus de commercialisation, Normes Officielles Mexicaines.*

INTRODUCCIÓN

Las lagunas costeras de mayor actividad ostrícola en cultivos extensivos de México están en el estado de Veracruz, principalmente en la Laguna de Alvarado, Veracruz (Cáceres, 2002). El ostión *Crassostrea virginica* se produce mediante cultivo extensivo, es un producto importante por su volumen de producción y altamente generador de empleos en zonas marginadas (Avilés y Vázquez, 2005).

La calidad sanitaria de los productos acuícolas pueden variar a través del proceso de comercialización, principalmente por la intervención de intermediarios con los que se ven involucrados los pro-

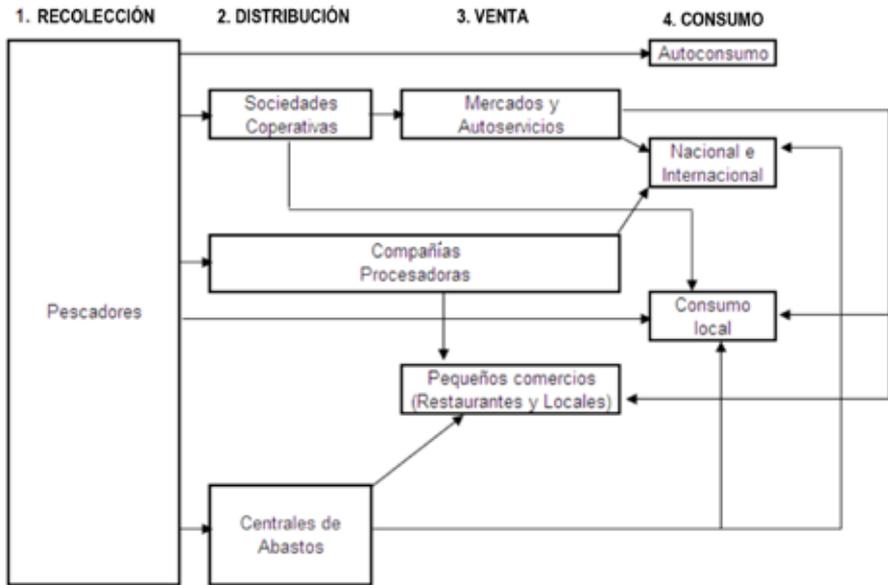
ductores, condicionando la compra de su producto a los intereses que le convengan al comprador, propiciando con ello una situación claramente identificada, en la que el productor acuícola vende a bajo precio su producto y el comprador lo vende a elevado costo en el mercado (Semarnat, 1995).

Los canales de comercialización de las cooperativas del Golfo de México envían su producto directamente a centros de distribución para que éstos lo hagan llegar al consumidor, la mayor parte del proceso lo cubren intermediarios particulares que hacen llegar el producto a mayoristas, éstos a distribuidores, posteriormente a detallistas y finalmente al consumidor (Figura 1). Este proceso altera la calidad del producto y eleva los precios sin que exista un beneficio real para el productor (Arriaga y Rangel, 1988).

Los moluscos bivalvos son de los productos de pesca que se consumen más, en muchas ocasiones crudos, característica que implica un nivel de riesgo muy elevado para sus consumidores, ya que estos organismos se alimentan por filtración no selectiva del agua en el que habitan y se encuentran en contacto con fondos y lodos. Estos moluscos filtran el agua reteniendo la materia orgánica, la cual pasa a su sistema digestivo, en donde es digerida.

La materia orgánica que llega al ambiente donde habitan estos organismos suele poseer elevada contaminación que procede de efluentes (aguas) urbanas, industriales y agrícolas que son liberadas a las lagunas costeras. Los contaminantes del agua son principalmente de tipo microbiológico y químico; dependiendo de la contaminación de la zona de cultivo, llegan al tubo digestivo de los moluscos, se acumulan en sus tejidos, y absorben los microorganismos o tóxicos, las cuales son transmitidas por esta vía a futuros consumidores (Campbell, 1997).

Figura 1. Estructura del proceso de comercialización del ostión *C. virginica* en México.



Las aguas costeras reciben descargas de aguas negras que no solamente contienen grandes cantidades de heces fecales, sino también desperdicios de fábricas procesadoras de alimentos, entre otras, que incrementan la presencia de patógenos en el medio acuático estuarino y en aguas marinas adyacentes a las desembocaduras oceánicas. Así el número de patógenos arrojados al drenaje, procedentes de las heces de individuos infectados, influye en la incidencia de enfermedades gastrointestinales (Weibel *et al.*, 1974). Por esta razón se ha prestado atención a la estimación de poblaciones bacterianas del grupo de los coliformes fecales como indicadores de contaminación por aguas negras, éstos comprenden los géneros *Escherichia*, *Proteus* y *Enterobacter*, además de cepas intermedias, diferenciales por pruebas bioquímicas (Romero y Rodríguez, 1981).

Los géneros más virulentos para los moluscos bivalvos son *Pseudomonas* y *Vibrio*, en su mayoría estos microorganismos son acuáticos y se encuentran en aguas dulces, marinas, salobres y estuarinas (Castro *et al.*, 1990). Los ostiones y las almejas acumulan microorganismos de la familia *Vibrionaceae*, tales como: *Vibrio cholerae* 01, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, los cuales son patógenos para el ser humano (Jonquera *et al.*, 1999; Riquelme *et al.*, 2001).

Si los sistemas lagunares están contaminados con materia de origen fecal pueden encontrarse en el interior de estos bivalvos microorganismos como *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli* y virus entéricos. Estudios efectuados en Alvarado, Veracruz, sobre bacterias aisladas del ostión *Crassostrea virginica*, registraron la presencia de *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, así como *E. coli* y *Salmonella* sp. Todos estos microorganismos al igual que otras bacterias patógenas, asociadas a alimentos, provocan gastroenteritis en el humano (Chi-Ying *et al.*, 2003).

Las enfermedades asociadas al consumo de agua y alimentos contaminados constituyen, en conjunto, un grave problema de salud pública en el mundo; según la Organización Mundial de la Salud son los trastornos de mayor impacto en el rendimiento económico de los países (World Health Organization, 1985).

En la República Mexicana, hasta 1976, las enfermedades transmitidas por alimentos ocupaban el primer lugar como causa de enfermedad, y a partir de 1977 se ubican en segundo lugar. En México es muy elevada la tasa de morbilidad por gastroenteritis, según el *Boletín Semanal de Epidemiología* (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2000).

Las normas sanitarias mexicanas incluyen prescripciones aplicables a un producto y su proceso, consideradas en la NOM-031-SSA1-1993 Bienes y servicios: productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, 1992). Por otro lado, de entre los alimentos involucrados dentro de las Especificaciones Microbiológicas establecidas en el PROY-NOM-242-SSA1.2005 para los Moluscos Bivalvos resaltan los ostiones, debido a que

estos productos en su origen están sometidos a contaminación microbiológica y química, que aunado a la forma en la cual se consumen genera enfermedades (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Especificaciones Microbiológicas permitidas por la NOM-031-SSA1-1993.

Especificaciones microbiológicas	Limite máximo
Mesófilo aeróbicos	500 000 ufc/g
Bacterias	NMP/ 100g en carne mas líquido intervalvar
<i>Salmonella</i> spp	Ausente en 25 g
<i>Vibrio cholerae</i> 01	Ausente Toxigénico en 50 g

Cuadro 2. Pruebas Microbiológicas permitidas en Moluscos Bivalvos PRY-NOM-242-SSA1.2005.

Especificaciones microbiológicas	Especie	Limite máximo
<i>Salmonella</i> sp	Molusco bivalvo	Ausente en 25 g
<i>Vibrio cholerae</i> 01	Molusco bivalvo	Ausente en 50 g
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Molusco bivalvo	104 ufc/g
coniformes fecales	Molusco bivalvo	230 NMP/100 g de carne

Las malas condiciones sanitarias de manejo del producto, que se dan durante el proceso de comercialización, favorecen el incremento de microorganismos patógenos, y por ende, la contaminación del ostión. La aplicación de las buenas prácticas de manufactura, limpieza y desinfección pueden controlar y reducir hasta un nivel aceptable, en la mayoría de los casos, la contaminación y/o crecimiento de bacterias patógenas en el ostión (*Codex Alimentarius*, 1989; 1993).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar cualitativa y cuantitativamente la carga bacteriana del ostión *Crassostrea virginica* durante las diferentes fases del proceso de su comercialización, desde su recolecta en la laguna de Alvarado, Veracruz, hasta los puntos de su distribución, venta y consumo en diferentes centros comerciales de la Ciudad de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de los ostiones –naturales– en su concha se recolectaron en los periodos comprendidos entre enero-abril, mayo-julio y septiembre-diciembre de 2007 en las zonas de recolección (R) en la Laguna de Alvarado, Veracruz, ubicada, geográficamente, entre 18° 44' y 19° 52' latitud norte y 95° 44' y 95° 57' longitud oeste (Flores y Méndez, 1982), en los puntos a los que se les asignaron los nombres de Canal de Tío Luis, Manglar y Arbolillo. En cada uno de éstos se registró la temperatura (termómetro de cubeta marca Kalcico) y la salinidad (salinómetro marca YSP). Se muestreó, también, en los puntos de distribución del producto (D) en el Mercado de la Nueva Viga, México, DF, y en sitios de venta (V) por mayoreo y menudeo en centros comerciales, en locales, puestos y tianquis, también en puntos de consumo (C) como restaurantes, marisquería y mercados, todos ubicados en el Distrito Federal. Todas las muestras (25 muestras de cada punto de muestreo) se trasladaron en condiciones estériles y refrigeradas a 4°C para ser procesadas.

Paralelamente se diseñó, implementó y aplicó una guía de observaciones, siguiendo las especificaciones sanitarias a ser observadas durante el manejo de este producto, emanadas de la Norma Oficial Mexicana NOM 31 y el PROY-NOM-242.

Los ostiones se desconcharon en condiciones estériles, se pesaron 10 g de ostión recolectados al azar y se homogeneizaron (homogeneizador marca Virtix), con 90 ml de agua destilada estéril se efectuaron diluciones a la décima desde 10^{-1} hasta 10^{-7} . Con una pipeta automática se extrajo 100 μ l del homogeneizado y se sembró en placas con medio de cultivo de eosina azul de metileno (EMB), Salmonella-Shigella (S-S) y tiosulfato-citrato de sales de bismuto (TCBS), el inóculo se esparció en cada una de las placas de los medios de cultivo con una varilla de vidrio triangular acodada. Todos los cultivos se incubaron durante 24 h a 35.5°C, después de las cuales se efectuó el conteo de unidades formadoras de colonias (ufc/ml) con un contador de colonias tipo Quebec. Posteriormente, con una pipeta automática, se extrajo

1000 μl del frasco con el homogeneizado original y se transfirió a tubos de caldo lactosado, agua peptonada y caldo tetrionato, a este último se le agregó 1 ml de yodo-yoduro, y de nuevo se incubaron a 35.5° C durante 24 h, después de este tiempo 0.1 ml del cultivo de cada tubo se sembró en placas con agar de EMB, TCBS y S-S, respectivamente, y se incubaron de nuevo bajo las condiciones mencionadas antes. Posteriormente, se efectuó el proceso de purificación de las colonias que crecieron en las placas con los diferentes medios selectivos, para lo cual se efectuaron resiembras sucesivas en cada uno de los respectivos medios selectivos, hasta obtener cepas puras, lo que se comprobó por el crecimiento homogéneo de las colonias por morfología de colonial y celular, para esto último se utilizó un microscopio de contraste de fase previa tinción de Gram (APHA, 1994). Se identificaron de forma presuntiva las colonias obtenidas, siguiendo los criterios establecidos en el Manual de Merck (1994). Se efectuó tinción de Gram y finalmente se procedió a confirmar las identificaciones de las cepas por medio del sistema comercial API-20E (Biomérieux, 1997). Para confirmar la identificación de las cepas todo el proceso se replicó en paralelo con cepas de colección de la American Type Culture Collection ATCC: *Aeromonas hydrophila* (ATCC356), *Aeromonas caviae* (ATCC154), *Vibrio alginolyticus* (ATCC177), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC178) y *Escherichia coli* (ATCC2010).

Tratamiento estadístico: una vez identificadas y cuantificadas las especies que conformaron la carga bacteriana del ostión durante todo el proceso de comercialización, se aplicó el análisis de varianza unilateral de Levin y Levin (1999), dentro y entre cada una de las fases del proceso de comercialización, así como dentro y entre todas las fases para aceptar o rechazar las hipótesis.

Se planteó como H_{nula} : La carga bacteriana del ostión, *Crassostrea virginica*, no difiere significativamente con respecto a la diversidad de especies o el número de ufc/ml de éstas durante su proceso de comercialización, desde su recolección hasta su distribución, venta y consumo en diferentes puntos de la Ciudad de México, ($\mu_R = \mu_D = \mu_V = \mu_C$) y como H_{Invs} : ($\mu_R \neq \mu_D \neq \mu_V \neq \mu_C$). Para desarrollar el análisis se plantearon hipótesis parciales

por fase de comercialización, en los siguientes términos: para la fase de Recolección, H_R nula: $(\mu_1 = \mu_2 = \mu_3)$ y como H_{R1} : $(\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3)$, en donde 1, 2 y 3 son las estaciones de muestreo: laguna camaronera, el país y la laguna; para la fase de Distribución, H_D nula: $(\mu_1 = \mu_2 = \mu_3)$ y como H_{D1} : $(\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3)$, en donde 1, 2 y 3 son los periodos: enero-abril, mayo-julio y septiembre-diciembre; para la fase de Venta y Consumo, $H_{V,C}$ nula: $(\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6)$ y como $H_{V,C1}$: $(\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6)$, en donde 1, 2, 3, 4, 5 y 6 son los locales en donde se muestreó (restaurantes, marisquería y mercados), ubicados en el DF.

RESULTADOS

Se aislaron e identificaron durante todo el proceso de comercialización del ostión *C. virginica* un total de 37 especies diferentes pertenecientes a cuatro familias bacterianas: Enterobacteriaceae, Aeromonadaceae, Vibrionaceae y Pseudomonadaceae.

Del grupo con mayor número de representantes identificadas a lo largo del proceso, las enterobacterias, se tienen identificadas 23 diferentes especies: *Alcaligenes* spp., *Citrobacter amalonauticus*, *Citrobacter freundii*, tres especies del género *Enterobacter*: *E. cloacae*, *E. agglomerans*, *E. aerogenes*, las variedades I, II y III de *Escherichia coli*, *Flavobacterium multivuras* y *Flavobacterium odoratum*; cuatro especies del género *Klebsiella*: *K. flexneri*, *K. oxytoca*, *K. ozoenae*, *K. pneumoniae*; tres especies de *Proteus*: *Prt. miriabilis*, *Prt. penneri* y *Prt. vulgaris*; del género de *Salmonella* fueron registradas tres especies: *Salmonella* sp., *S. thyphimurium* y *S. enteritidis*; *Serratia plymuthica* y *Shigella flexneri*.

La familia de los vibrios fue representada por seis diferentes especies: *V. alginolyticus*, *V. cholerae* El tor, *V. fluviales*, *V. mimicus*, *V. parahae-molyticus* y *V. vulnificus*.

Agrupadas dentro del grupo de otras especies, los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas*, representadas por cuatro especies, el primero: *Pseudomonas* sp., *Ps. aureoginosa*, *Ps. fluorescens* y *Ps. paucimobilis*; y por tres

especies, el segundo: *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. salmonicida*. Finalmente se identificó el género *Pasterurella haemolytica* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis cualitativo de la carga del ostión *C. virginica* en las diferentes fases de su comercialización.

	RECOLECCIÓN		DISTRIBUCIÓN		VENTA		CONSUMO	
	Laguna Alvarado Ver.		Mercado D.F		Comercios D.F		Comercios D.F	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	X		X		X		X	
<i>Aeromonas caviae</i>					X		X	
<i>Aeromonas salmonicida</i>			X		X		X	
<i>Alcaligenes spp</i>					X		X	
<i>Citrobacter amalonauticus</i>	X				X		X	
<i>Citrobacter freundii</i>	X				X		X	
<i>Enterobacter cloacae</i>	X				X		X	
<i>Enterobacter agglomerans</i>	X		X		X		X	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	X				X		X	
<i>Escherichia coli I</i>	X		X		X		X	
<i>Escherichia coli II</i>			X		X		X	
<i>Escherichia coli III</i>			X		X		X	
<i>Flavobacterium multivivans</i>					X			
<i>Flavobacterium odoratum</i>							X	
<i>Klebsiella flexneri</i>	X		X		X		X	
<i>Klebsiella oxytoca</i>			X		X		X	
<i>Klebsiella ozoenae</i>	X		X		X		X	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X		X		X		X	
<i>Proteus mirabilis</i>	X				X		X	
<i>Proteus penneri</i>					X		X	
<i>Proteus vulgaris</i>	X		X		X		X	
<i>Pasterurella haemolytica</i>					X		X	
<i>Pseudomonas sp</i>					X		X	
<i>Pseudomonas aureoginosa</i>					X		X	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	X		X		X		X	
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>					X		X	
<i>Salmonella sp</i>			X					
<i>Salmonella thyphimurium</i>	X		X		X		X	
<i>Salmonella enteritidis</i>	X		X		X		X	
<i>Serratia plymuthica</i>							X	
<i>Shigella flexneri</i>	X		X		X		X	
<i>Vibrio alginolyticus</i>			X		X		X	
<i>Vibrio cholerae El tor</i>	X		X		X		X	
<i>Vibrio fluvialis</i>	X		X		X		X	
<i>Vibrio mimicus</i>	X		X		X		X	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	X		X		X		X	
<i>Vibrio vulnificus</i>			X		X		X	
TOTAL	37	20	23		34		35	

En la fase de recolección, en las estaciones Tío Luis, Manglar y Arbolillo, y durante los tres periodos de muestreo se registraron un promedio total de 22 especies bacterianas diferentes con representantes de las familias anteriormente mencionadas: 14 especies diferentes de enterobacterias, 4 especies diferentes del género *Vibrio*; *A. hydrophila* y *Ps. fluorescense* aisladas a partir de placas con medio de TCBS (Cuadro 3). Las especies que presentaron permanencia del 100% durante todo el año y en las tres estaciones fueron: *A. hydrophila*, *E. coli* II, *S. typhimurium* y *V. fluviatilis*; se aislaron *Prot. vulgaris*, *Sh. flexneri*, *V. cholerae* El tor, *V. parahemolyticus* con 77% de permanencia; *Kl. pneumoniae* y *S. enteritidis* 66%; *Ent. cloacae*, *Kl. ozaenae* y *Kl. pneumonidae* 55 por cierto.

En cuanto a los promedios por fase y por periodo de ufc/ml obtenidos del análisis cuantitativo de la carga bacteriana de las especies anteriormente mencionadas, se observa que en las tres estaciones y durante los tres periodos de muestreo registraron 10^6 ufc/ml. Se llegaron a cuantificar 10^5 ufc/ml de especies de la familia de las Enterobacteriaceae; 10^6 ufc/ml de las especies de *Vibrio*, y 10^6 ufc/ml de otras especies entre *Aeromonas* y *Pseudomonas*. Las especies *A. hydrophila*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium* fueron registradas como incontables (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1 Análisis cuantitativo (ufc/ml) de la carga bacteriana aislada del ostión (*Crassostrea virginica*) durante su recolecta en la Laguna de Alvarado, Ver. y distribución en mercado del DF.

ESPECIES PRESENTES	RECOLECTA									DISTRIBUCIÓN		
	LAGUNA DE ALVARADO									MERCADO DEL D.F.		
	CANAL DE TÍO LUIS			MANGLAR			ARBOLILLO					
01-abr	05-ago	09-dic	01-abr	05-ago	09-dic	01-abr	05-ago	09-dic	01-abr	05-ago	09-dic	
POR PERIODO	18	13	16	10	11	14	13	13	13	13	11	14
ENTEROBACTERIAS	13	9	12	6	8	11	9	10	10	2	6	4
VIBRIOS	4	3	3	3	2	2	3	2	2	2	3	1
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	17	20	19
CARGA BACTERIANA (UFC/ML)												
UFC/ML TOTALES POR PERIODO	3×10^5	2×10^5	2×10^5	2×10^5	1×10^5	2×10^5	2×10^5	3×10^5	1×10^5	4×10^5	5×10^5	3×10^5
ENTEROBACTERIAS	5×10^5	3×10^5	4×10^5	3×10^5	2×10^5	3×10^5	3×10^5	2×10^5	1×10^5	5×10^5	3×10^5	2×10^5
VIBRIOS	2×10^5	3×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	2×10^5	2×10^5	5×10^5	1×10^5	1×10^5	4×10^5	2×10^5
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	2×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	2×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	4×10^4	4×10^4	3×10^4

La fase de Distribución presentó, de igual forma que la fase anterior, géneros de las cuatro familias mencionadas anteriormente. Las 23 especies registradas durante todo el año de esta fase fueron: 14 especies de enterobacterias, 6 de *Vibrio*, 2 especies de *Aeromonas* y 1 de *Pseudomonas* (Cuadro 3). Las especies *Sh. flexneri* y *Kl. ozaenae* no se encontraron en el segundo periodo (mayo-julio), en cambio *V. alginolyticus*, *V. cholerae* *El Tor*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* sí lo hicieron. En este periodo se observó una mayor diversidad de especies y hubo variaciones en el número de especies identificadas. En esta ocasión no se registró la presencia de *C. amalonaticus*, *C. freundii* ni *Ent. aerogenes*. Cuantitativamente, la carga bacteriana promedio en esta fase se mantuvo en 10^4 ufc/ml durante todo el año, dominando las enterobacterias en cantidades de 10^5 ufc/ml; las *Aeromonas* y *Pseudomonas* se contaron en cantidades de 10^4 ufc/ml; el grupo *Vibrio* se contó de 10^3 ufc/ml (Cuadro 4.1).

En la fase de Venta se incrementó notoriamente –a 34– la diversidad de especies identificadas: 21 Enterobacterias, 6 *Vibrio*, 3 especies del género *Aeromonas* y 4 de *Pseudomonas*, se aisló además *Pasteurella haemolytica*. Dominó de nuevo la presencia de enterobacterias, identificándose además las especies: *C. freundii*, *Ent. aerogenes*, *Flavobacterium multivorum*, *Prot. miriabilis*, *Prot. Penneri*. Se registraron además las especies *A. caviae*, *Pseudomonas* sp., *Ps. aeruginosa* y *Ps. paucimobilis* (Cuadro 3). Las especies bacterianas que estuvieron presentes en todos los puntos de muestreo y durante los tres periodos del año fueron: *A. hydrophila*, *E. coli* I y II con 100% de permanencia durante los tres muestreos y en las tres estaciones, seguidas por: *E. coli* II y *V. fluvialis*, las especies de *Enterobacter*, *E. coli* III, *Klebsiella pneumoniae*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* se registraron igualmente durante todo el año en esta fase.

La máxima de especies se registró durante enero-abril y disminuyó en los siguientes periodos estacionales a 20 y 17 especies en mayo-julio y agosto-diciembre, respectivamente. La carga de bacterias totales se mantuvo en 10^4 ufc/ml en los dos primeros periodos y se incrementó en el último periodo a 10^5 ufc/ml. Dominando otra vez las enterobacterias, durante toda

la fase, dentro de 10^5 ufc/ml, sobre cantidades de 10^4 y 10^3 ufc/ml de especies de *Vibrio* y *Aeromonas* y *Pseudomonas*, respectivamente (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2 Análisis cuantitativa (ufc/ml) de la carga bacteriana aislada del ostión (*Crassostrea virginica*) durante su venta en diferentes comercios del DF.

VENTA																		
ESPECIES PRESENTES	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	
POR PERIODO	11	10	11	5	10	10	10	12	10	9	10	5	7	5	7	8	7	
ENTEROBACTERIAS	2	6	4	4	4	3	0	4	3	2	1	2	2	1	2	1	2	
VIBRIOS	5	4	3	4	3	1	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	18	20	18	13	17	14	11	18	14	13	12	9	11	7	11	10	11	
CARGA BACTERIANA (UFC/ML)																		
UFC/ML TOTALES POR PERIODO	4×10^5	5×10^4	4×10^4	3×10^4	4×10^5	4×10^5	4×10^4	4×10^4	4×10^5	3×10^5	3×10^4	4×10^5	3×10^5	3×10^4	3×10^6	3×10^6	5×10^6	2×10^6
ENTEROBACTERIAS	2×10^3	5×10^5	4×10^4	1×10^6	3×10^4	3×10^4	0	3×10^4	3×10^4	5×10^4	1×10^3	3×10^4	2×10^6	6×10^4	1×10^4	3×10^5	3×10^4	
VIBRIOS	2×10^4	5×10^5	4×10^2	6×10^5	4×10^5	1×10^5	2×10^3	5×10^3	2×10^4	5×10^5	1×10^5	7×10^5	1×10^6	2×10^5	1×10^3	3×10^3	2×10^4	
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	3×10^4	5×10^5	4×10^3	3×10^5	4×10^5	3×10^5	4×10^4	3×10^4	3×10^4	4×10^5	3×10^4	5×10^5	2×10^6	4×10^5	2×10^4	4×10^5	2×10^5	
C= Punto de muestreo																		

En la fase de Consumo, y última del proceso, se identificaron 35 especies, pertenecientes a los mismos grupos bacterianos que en la fase de Venta: 21 especies de Enterobacterias, 6 de *Vibrio*, 3 de *Aeromonas* y 4 de *Pseudomonas*; en esta fase se identificó *Flv. odoratum* y *Serratia plymuthica* (Cuadro 3). Las especies de mayor permanencia durante todo el año nuevamente fueron: *A. hydrophila*, *Ent. cloacae*, *Ent. agglomerans*, *E. coli* I, II, III, *S typhimurium*, *S enteritidis* y *V. fluvialis*. La carga bacteriana total promedio en esta fase fue de 10^4 ufc/ml. El número promedio anual de especies de enterobacterias se registró de 10^4 ufc/ml, disminuyendo notoriamente las especies de los géneros de *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*, a un promedio total de 10^2 ufc/ml, observándose su ausencia en cinco locales durante el periodo septiembre-diciembre (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Análisis cuantitativo (ufc/ml) de la carga bacteriana aislada del ostión (*Crassostrea virginica*) durante su consumo en diferentes comercios del DF.

CONSUMO																		
ESPECIES PRESENTES	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
	01-abr						05-ago						09-dic					
POR PERIODO	18	20	18	13	17	11	8	10	14	14	7	13	6	9	11	11	7	10
ENTEROBACTERIAS	11	10	12	6	11	7	5	5	10	6	4	8	6	8	9	11	7	8
VIBRIOS	2	6	4	4	4	4	2	2	3	2	2	3	0	0	1	0	0	2
<i>Aeromonas y Pseudomonas</i>	5	4	2	3	2	0	1	3	1	1	1	2	0	1	1	0	0	0
CARGA BACTERIANA (UFC/ML)																		
UFC/ML TOTALES POR PERIODO	3×10^4	5×10^4	3×10^4	3×10^4	3×10^5	3×10^2	4×10^5	4×10^4	3×10^4	2×10^6	5×10^4	3×10^5	1×10^1	2×10^3	5×10^5	1×10^2	1×10^1	2×10^2
ENTEROBACTERIAS	4×10^5	5×10^5	1×10^3	1×10^2	4×10^5	3×10^4	4×10^5	3×10^4	4×10^4	4×10^6	4×10^5	4×10^5	4×10^4	4×10^4	3×10^4	3×10^5	3×10^4	3×10^3
VIBRIOS	3×10^3	6×10^2	2×10^2	1×10^2	3×10^5	5×10^3	3×10^5	5×10^5	2×10^4	1×10^6	3×10^3	3×10^4	0	0	5×10^6	0	0	2×10^3
<i>Aeromonas y Pseudomonas</i>	2×10^5	6×10^5	2×10^2	6×10^5	2×10^5	0	5×10^5	5×10^4	1×10^3	1×10^6	7×10^3	2×10^5	0	2×10^4	7×10^5	0	0	0
C= Punto de muestreo																		

Las razón F calculadas se presentan en los cuadros del 5 al 9; los cálculos obtenidos de las muestras recolectadas en las tres zonas de muestreo de la laguna de Alvarado, fase de Recolección (Cuadro 5), arrojan una razón significativa, para $g_{e(\text{entre})}$ y $g_{d(\text{dentro})}$ de 2 y 6 respectivamente, a nivel de confianza de .05 debe de ser de por lo menos 5.14 y a nivel .01 debe de ser igual o mayor que 10.92, por lo que la razón F calculada y obtenida para todas las posibles combinaciones entre los datos de las tres zonas muestreadas, periodo de muestreo y los grupos de bacterias identificadas, tanto cualitativa como cuantitativamente, la alternativa fue aceptar la H_0 ($\mu_{LC} = \mu_p = \mu_{lg}$) y atribuir la variación obtenida, entre las medias muestrales sobre las especies o cantidades de éstas, al error de muestreo mas que a distintos ambientales, o de ingresos de contaminantes de origen fecal en el área de muestreo. Con excepción de la variación encontrada entre los grupos bacterianos por fase, en donde la razón F = 7.2 llevó a rechazar la H_0 , sobre la base de que existe diferencia significativa en cuanto a las especies registradas, coinci-

diendo con el dato de la identificación de mayor número de especies de enterobacterias que de especies del género *Vibrio*, *Aeromonas* o *Pseudomonas*.

Cuadro 5. Razón de F para la variación entre y dentro de los grupos de especies y ufc/ml de bacterias aisladas en la fase de recolección del ostión *Crassostrea virginica* en Alvarado, Veracruz.

	Razón F
Entre carga bacteriana (diferentes géneros) dentro de las 3 estación de muestreo	
Enterobacterias	1,9
<i>Vibrio</i>	3
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	3
Entre carga bacteriana dentro de los 3 periodos de muestreo	
Enterobacterias	0,65
<i>Vibrio</i>	3
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	0
Entre especies bacterianas totales dentro de las 3 estaciones de muestreo	4,1
Entre especies bacterianas totales dentro de los e periodos de muestreo	0,6
De especies bacterianas totales por estación dentro del periodo total de muestreo	3,8
Entre carga bacteriana (ufc/ml) dentro de las 3 estación de muestreo	
Enterobacterias	2,1
<i>Vibrio</i>	4,6
<i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i>	0,6
De ufc/ml de enterobacterias dentro de los 3 periodos de muestro	1,3
De ufc/ml de <i>Vibrio</i> dentro de los 3 periodos de muestro	1,3
De ufc/ml de <i>Aeromonas</i> y <i>Pseudomonas</i> dentro de los 3 periodos de muestro	1,5
Entre diferentes especies bacterianas dentro de cada periodo de muestreo	7,2
De ufc/ml de diferentes especies bacterianas dentro de cada periodo de muestreo	2,6

Para $g_{entre} = 2$, $g_{dentro} = 6$ y $P_{C_{12}} = 5.14$, $P_{C_{13}} = 10.92$ *
 gl - grados de libertad

Para el análisis de la varianza de las muestras obtenidas de la fase de Distribución del recurso estudiado, en donde para los mismos niveles de confianza que en la fase anterior, la razón F 32.3 (Cuadro 6), llevó a rechazar la H_0 y aceptar la H_1 de investigación ($\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$), diferencia que se podría deber al incremento de especies de enterobacterias por el inadecuado manejo sanitario del producto.

Cuadro 6. Razón de F para la variación entre y dentro de los grupos de especies y ufc/ml de bacterias aisladas durante la fase de distribución del ostión *Crassostrea virginica* en México DF.

	Razón F
Entre diferentes especies bacteriana dentro de la fase de comercialización	32,3
Entre los periodos de muestreo dentro de las géneros bacterianos	0,04
Entre ufc/ml de diferentes especies bacteriana dentro de la fase de comercialización	4,6
Entre los periodos de muestreo dentro de las ufc/ml de los especies bacterianas	0,36

Para: g_{entre} 2, g_{dentro} 6 y $P_{cs.}$ 5.14 y $P_{ca.}$ 10.92 *
 g - grados de libertad

La hipótesis nula para la variación cualitativa y cuantitativa de la muestras analizadas en los locales de Venta del ostión *C. virginica* fue aceptada para todas las posibles combinaciones de variaciones entre las especies aisladas y cantidades de éstas, dadas las razón F para los niveles de confianza obtenidos (Cuadro 7), con excepción de la variación calculada 3.5, en donde se registró diferencia al analizar la variación de la carga bacteriana medida en ufc/ml entre los locales muestreados en los periodos de muestreo del año, ya que para una razón significativa a nivel de confianza de .05 debe de ser de por lo menos 3.68, y a nivel de .01 debe de ser igual o mayor que 6.36; y la razón calculada y obtenida para las cantidades de bacterias en los periodos enero-abril y mayo-julio fue 3.8 y 7.6, respectivamente, misma que llevó a rechazar la H_0 : ($\mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4=\mu_5=\mu_6$), y aceptar la diferencia, misma que podría estar dada por los cambios de temperatura ambiental en estos meses.

Cuadro 7. Razón de F para la variación entre y dentro de los grupos de especies y ufc/ml de bacterias aisladas durante la fase de Venta del ostión *Crassostrea virginica* en México DF.

		Razón F
Entre especies bacterianas dentro de los diferentes locales muestreados por periodo		
Enero-Abril		0,3 *
Mayo-Agosto		0,5 *
Septiembre- Diciembre		0,7
De especies bacterianas dentro de cada periodo de muestreo		4,4 **
De especies bacterianas totales entre los diferentes locales dentro de las 3 periodos de muestreo		1,4 ***
De géneros bacterianos entre los diferentes locales dentro de las 3 periodos de muestreo		
Enterobacterias		0,6 ***
Vibrio		1,0 ***
Aeromonas y Pseudomonas		1,4 ***
De ufc/ml de bacterias de los diferentes géneros dentro de los locales muestreados por periodo de muestreo		
Enero-Abril		3,8 *
Mayo-Agosto		7,6 *
Septiembre- Diciembre		1,5 *
De ufc/ml de especies bacterianas totales entre los locales dentro de los 3 periodos de muestreo		1,1 **
De ufc/ml de especies bacterianas totales entre los locales muestreados dentro de la fase de comercialización		0,1 ***
De la carga bacteriana (ufc/ml) de diferentes géneros entre los locales dentro de los 3 periodos de muestreo		
Enterobacterias		0,0 ***
Aeromonas y Pseudomonas		0,0 ***

Grados de libertad		Nivel de confianza			
gl dentro	gl entre	P .05	P .01		
*	15	2	*	3,68	6,36
**	6	2	**	5,14	10,92
***	12	5	**	3,11	5,06

De igual forma la $H_0: (\mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4=\mu_5=\mu_6)$ parcial, planteada para establecer la no diferencia entre las muestras obtenidas de los diferentes centros de Consumo de este producto fue rechazada solamente para las variaciones registradas en las posibilidades 4.3, 4.5, y 4.6 (Cuadro 8), en donde las razones significativas a los niveles de confianza de .05 y .01 para cada posibilidad llevaron a establecer que existe diferencia entre la carga de bacterias totales, tanto cualitativa como cuantitativamente, durante los periodos muestreados en 2007, entre los diferentes centros estudiados de consumo de ostión *C. virginica*.

Cuadro 8. Razón de F para la variación entre y dentro de los grupos de especies y ufc/ml de bacterias aisladas durante la fase de consumo del ostión *Crassostrea virginica* en México DF.

	Razón F	
Entre especies bacterianas dentro de los diferentes locales muestreados por periodo		
Enero-Abril	0,9	*
Mayo-Agosto	2,8	*
Septiembre-Diciembre	3,0	*
De especies bacterianas dentro de cada periodo de muestreo	3,9	**
De especies bacterianas totales entre los diferentes locales dentro de las 3 periodos de muestreo	3,9	**
De géneros bacterianos entre los diferentes locales dentro de las 3 periodos de muestreo	2,6	***
Enterobacterias	2,5	*
Vibrio	2,8	*
Aeromonas y Pseudomonas	5,0	*
De ufc/ml de bacterias de los diferentes géneros dentro de los locales muestreados por periodo de muestreo		
Enero-Abril	1,5	*
Mayo-Agosto	7,1	*
Septiembre-Diciembre	13,2	***
De ufc/ml de especies bacterianas totales entre los locales dentro de los 3 periodos de muestreo	3,0	***
De ufc/ml de especies bacterianas totales entre los locales muestreados dentro de la fase de comercialización		
De la carga bacteriana (ufc/ml) de diferentes géneros entre los locales dentro de los 3 periodos de muestreo		
Enterobacterias	1,7	***
Vibrio	1,3	***
Aeromonas y Pseudomonas	0,0	***

	Grados de libertad g1		Nivel de confianza	
	g1entre	g1entre	P .05	P .01
*	15	2	3,68	6,36
**	6	2	5,14	10,92
***	12	5	3,11	5,06

Sin embargo, los datos obtenidos para establecer las variaciones posibles entre todas las fases de comercialización del ostión (Cuadro 9), la razón significativa a nivel de confianza de .05 debe ser por lo menos de 4.26 y para nivel de .01 debe ser igual o mayor de 8.02; la razón F calculada en todos los casos llevó a rechazar la H_0 : ($\mu_R = \mu_D = \mu_V = \mu_C$) y aceptar que existe diferencia cualitativa y cuantitativa en la carga bacteriana del ostión *C. virginica*, entre las diferentes fases de su comercialización. Aunque no existió diferencia entre los grupos bacterianos aislados e identificados, lo que se podría deber a las técnicas de muestreo e identificación aplicadas que fueron selectivas.

Cuadro 9. Razón de F para la variación entre y dentro de los grupos de especies y ufc/ml de bacterias aisladas del ostión *Crassostrea virginica*, desde su recolección en la Laguna de Alvarado Ver. hasta su distribución, venta y consumo en la Ciudad de México DF.

	Razón F
De especies bacterianas totales aisladas entre los periodos de muestreo dentro del periodo anual	11,70
Entre bacterias de diferentes especies dentro de cada una de las fases de comercialización	0,45
Enterobacterias	1,15
Vibrio	1,00
Aeromonas y Pseudomonas	1,80
De ufc/ml de especies bacterianas totales aisladas entre los periodos de muestreo dentro de las diferentes fases	13,50
De ufc/ml de especies bacterianas totales aisladas entre los periodos de muestreo dentro del periodo anual	17,70
Entre ufc/ml de bacterias de diferentes especies dentro de cada una de las fases de comercialización	
Enterobacterias	5,80
Vibrio	11,00
Aeromonas y Pseudomonas	4,70

Grados de libertad gl		Nivel de confianza	
gl _{entre}	gl _{dentro}	P ₀₅	P ₀₁
9	2	4,26	8,02

DISCUSIÓN

Respecto a la carga de bacterias totales, 10^6 ufc/ml, que se registró en la fase de recolección no presenta diferencia significativa con la cuantificada en las siguientes fases del proceso de comercialización, 10^4 ufc/ml, lo que indica homogeneidad al interior de los diferentes puntos y periodos de muestreo de cada fase, tanto en las condiciones de ingreso de contaminantes ambientales de origen natural, rural, fecal y nosocomial, como de manejo sanitario del recurso. Esto coincide con Jonquera *et al.* (1999), Riquelme *et al.* (2001) y Muñoz *et al.* (2008), quienes cuantifican 1×10^5 ufc/ml y 4×10^4 ufc/ml, respectivamente; bacterias promedio en intestino del ostión.

A pesar de esta homogeneidad, se registró dentro de cada fase diferencia significativa entre los grupos bacterianos, lo que indica un incremento de la diversidad bacteriana en cada una de las fases, producto probablemente de variedad de fuentes de contaminación.

Los cálculos llevaron a inferir que existe diferencia significativa entre las fases de la secuencia de comercialización: recolección, distribución, venta y consumo del producto en cuanto a la carga cualitativa que portan las muestras analizadas. La laguna de Alvarado, Ver., presentó menor número de especies aisladas, pero registró también el mayor número de ufc/ml, tanto en cantidades promedio de bacterias totales como de cada uno de los grupos bacterianos: Enterobacterias, *Vibrios*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*, lo que hace de la fase de recolecta la fase con mayor contaminación bacteriana. Coincidiendo con autores quienes han cuantificado en esta misma fase: 3×10^2 ufc/ml de especies de *V. anguillarum* (Riquelme *et al.*, 2001), *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. cholerae* 01 (Grucita *et al.*, 2006) y, de *Aeromonas* media de 1×10^4 ufc/ml (Gibson *et al.*, 2001); para otras especies no se encuentran registros cuantitativos.

La fase de Distribución presentó disminución tanto en el número de especies como de las cantidades de ufc/ml de éstas, guardando la misma proporción entre las especies bacterianas y las cantidades presentes, a excepción de *Vibrio*, que en esta fase incrementan su presencia, a pesar de que son bacterias que habitan ambientes marinos, se podría deber a una contaminación cruzada con especies de origen marino al ser transportadas en los mismos contenedores al enviarse a los centros de distribución para su venta. Esto se intensificó en las dos fases siguientes, observándose incremento en el número de especies aisladas: venta 21% y consumo 23%, y disminución en sus cantidades en las fases de recolección, distribución, venta; presentándose la misma situación en los conteos de enterobacterias en las mismas fases. Las diferencias en los conteos de ufc/ml de las especies del género *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas* se hace más notoria que los grupos bacterianos no entéricos, posiblemente debido al tratamiento de los ostiones con antibióticos, o al suministro de cloro en el agua con

que se manejan éstos, con base en lo cual cabría suponerse la presencia de plásmidos-R bacterianas aisladas del ostión de estos sitios. Fenómeno que tornaría aún más grave el problema sanitario.

Otra diferencia que se observó, en las dos primeras fases, es la proporción de los grupos bacterianos, que aunque, las especies entéricas siguen dominando en todas las fases, se incrementa el número de las especies de los géneros de *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*.

Tanto cualitativa como cuantitativamente los datos registrados en el presente estudio coinciden con las registradas por Rosas *et al.* (1985), al evaluar la presencia de coliformes totales 9.5×10^5 ufc/ml y de coniformes fecales 2.7×10^3 ufc/ml, sin embargo, estos autores no reportan la presencia de *E. coli* ni *Salmonella* al igual que Tellez *et al.* (1999).

Las especies aisladas en su mayoría se reportan como patógenas para el humano, de esta manera las especies del género *Enterobacter* y *Citrobacter freundii* son reportada por Joklik *et al.* (1994) como especies que afectan al ser humano a nivel de vías urinarias y del intestino delgado, respectivamente, causando esta última transfusión de líquido hacia la luz intestinal provocando diarrea. *E. coli* es acumulada en grandes cantidades dentro de los tejidos de los moluscos bivalvos, que en el humano es causa muy común de infecciones en el aparato urinario y puede provocar también bacteriemia con signos clínicos de septicemia (Jonson, 1991). Por lo anterior y con gran seguridad pueden encontrarse en el interior de los moluscos bivalvos, además, otro microorganismos patógenos como: *Salmonella* y *Shigella* (Chi-Ying *et al.*, 2003), por lo que se debe de prestar gran atención a las poblaciones bacterianas del grupo de coliformes fecales y enterobacterias, al ser considerados indicadores de contaminación de aguas negras en las zonas de recolección (Romero y Rodríguez, 1981). De acuerdo con los resultados obtenidos el sitio de recolección de muestras (Laguna de Alvarado, Veracruz), se encuentra muy cercana a las zonas urbanas, por lo que continuamente está recibiendo descargas de aguas negras, provocando que los bancos de ostión se contaminen con heces fecales, afectando directamente y como

consecuencia a toda la red de comercialización. *Hafnia Alves*, poco frecuente, no la reporta el grupo de Rosas *et al.* (1985) en su estudio, pero llega a causar enfermedades en el humano (Stuart y Walter, 1998). *Kl. pneumoniae* se identificó en cuatro zonas de las fases de distribución, venta y consumo; Madigan *et al.* (2006) reportan que esta especie se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas sanas y produce cuadros neumónicos. Las especies del género *Proteus* provoca infecciones del aparato urinario, causando bacteriemia, específicamente la especie de *Prot. miriabilis* (Farmer, 1995). La especie *Salmonella* sp, patógena para el humano, causa salmonelosis por el consumo de ostiones, provocando gastroenteritis, enfermedad sistémica con fiebre entérica (Chi-Ying *et al.*, 2003).

Serratia se identificó sólo en el punto de recolección, especies de este género se relacionan con la vegetación de la Laguna de Alvarado (mangle rojo, *Rhizophora mangle*), debido a que los ostiones se fijan a sus raíces. Stuart y Walter (1998) reportan que 75% y 90% de las infecciones por esta especie son nosocomiales, lo que confirma el aporte a la laguna de desechos hospitalarios.

Bartlett (1986), Joklik *et al.* (1994) y Madigan *et al.* (2006) determinaron que las especies de *Shigella* son patógenas primarias para los humanos, causa gastroenteritis muy severa, y normalmente se le conoce como disentería bacilar, se transmite por alimentos y agua contaminados.

Igualmente se aislaron especies del género *Aeromonas*, especialmente *A. hydrophila*, en diez sitios en las fases de recolección, distribución, venta y consumo; *A. salmonicida*, *A. sobria* y *A. caviae* en el punto de venta. Joklik *et al.* (1994) reportan que las especies de este género son patógenas de animales de sangre fría como los reptiles. Murray *et al.* (2006) reportan que *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. salmonicida* y *A. sobria* están asociadas a enfermedades en humanos y que los casos de infecciones se reportan principalmente en los meses de mayo a noviembre, provocando gastroenteritis, enfermedad gastrointestinal que

suele aparecer con posteridad a la ingesta de alimentos contaminados. De acuerdo a los resultados obtenidos se reportó alta incidencia de estas especies ya que esta investigación se realizó también durante los meses cálidos.

La presencia de bacterias del género *Pseudomonas* se incrementó sobre todo en dos sitios en el punto de venta. Estos microorganismos se encuentran en la materia orgánica en descomposición, en la vegetación y el agua; las infecciones por *Pseudomonas* son fundamentalmente oportunistas en pacientes con alteraciones en sus mecanismos de defensa (Murray *et al.*, 2006); se ha determinado que diversas especies del género de *Pseudomonas* son patógenas para las plantas como el mangle rojo *Rhizophora mangle* y a los ostiones (Joklik *et al.*, 1994).

Las seis especies del género *Vibrio* que fueron identificadas se aislaron en ocho de los sitios de muestreo, de acuerdo a Chi-Ying *et al.* (2003) y Murray *et al.* (2006) la actual pandemia mundial es causada por *V. cholerae* biotipo *El Tor.*; Joklik *et al.* (1994), Murray *et al.* (2006) y Stuart y Walter (1998) reportan que estas especie causan diarrea acuosa profusa, muy semejante a la sintomatología de la enfermedad del cólera; cada año se reportan de seis a diez casos por diarrea. De distribución, venta y consumo reportan que esta especie se encuentra en el medio ambiente marino, y el origen de la infección es por la ingesta de mariscos crudos, provocando gastroenteritis, infección de heridas y bacteriemia.

Respecto al análisis microbiológico del ostión americano *C. virginica*, en los 17 puntos de muestreo, el límite máximo microbiológico, establecido por la NOM-031-SSA1-1993, fue excedido, por lo que se determinó que no se cumple con las Especificaciones Microbiológicas para los Moluscos Bivalvos (PROY-NOM-242-SSA1-2005), ya que de acuerdo con ésta indica que los moluscos bivalvos deben de estar exentos de contaminación microbiológica de Mesofílicos aerobios (500 000 UFC/g), Bacterias coliformes fecales (230 NMP/100g en carne más líquido intervalvar) y *Salmonella* spp. (Ausente en 25g).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que el ostión *C. virginica* está altamente contaminado, desde su recolecta hasta su consumo, por especies patógenas tanto para el ser humano como para el mismo recurso, constituyendo un peligro de salud para los consumidores.

Es de suma importancia diseñar programas en los cuales la ostricultura mexicana pueda obtener un beneficio económico en su producción y que no esté limitada por los problemas sanitarios que enfrenta en la actualidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Arriaga, B. y D. Rangel, 1988, *Diagnóstico de las situaciones actuales y prospectivas del cultivo de ostión en México*, Secretaría de Pesca, México.
- Avilés, Q. y H. Vázquez, 2005, *Fortalezas y Debilidades de Acuicultura en México. Comisión de Pesca de la Cámara de Diputados*, México, Comisión de Pesca de la Cámara de Diputados, México.
- Analytical Profile Index, API-20E, 1997, *Enterobacteriaceae* and other Gram-negative Bacteria, 4th ed., Biomerioux, Francia.
- Bartlett, A., 1986, "Production of toxin and other oxytoxins by serogroups of *Shigella*", en *Journal of Infection and Diseases*, 4:954-996.
- Biomérioux, 1997, *Enterobacteriaceae* and other Gram-negative Bacteria, analytical Profile Index, API-20E, 4th ed., Francia.
- Cáceres, J., 2002, "Algunas enfermedades infecciosas en Moluscos", en *Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico, Boletín. Sagarpa*, Universidad Autónoma Metropolitana, Conapesca, Programa Nacional de Sanidad Acuícola, 2:5: 123-138.
- Campbell, R., 1997, *Ecología microbiana*, Noriega Editores, México.

- Castro, D. *et al.*, 1991, "Detection of potentially pathogenic bacteria in semi-intensive culture of fine clams (*Tape semidecussatus*) from southwest Spain", en *Bulletin of Evaluation Association of Fish Pathology*, 10: 50-52.
- Codex Alimentarius*, 1993, World Health Organization and the Food Agriculture Organization of the United Nations Roma, Italia.
- _____, 1989, *Norma del Codex para pescados y productos pesqueros*, World Health Organization and the Food Agriculture Organization of the United Nations Roma, Italia.
- Chi-Ying, L. *et al.*, 2003, "Detection of pathogenic bacteria in Shellfish using multiplex PCR followed by CovaLink™ NH micro well plate Sandwich Hybridization", en *Journal of Microbiology*, 53;(4):199-209.
- Farmer, J., 1995, "*Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. Manual of Clinical Microbiology", en Murray, R. *et al.* (eds.), 6a. ed., *American Society for Microbiology*, 6: 35-36.
- Flores, C. y L. Méndez, 1982, "Contribución al conocimiento del ictioplanton de la laguna de Alvarado, Veracruz", en *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, 1:1600-1609.
- Grucita, G. *et al.*, 2006, "Detection of genera *Vibrio* in *Agropecten purpuratus*", en *Revista Científica*, 14(3): 513-521.
- Joklik, W. *et al.*, 1994, *Zinseser Microbiología*, 20ª ed., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
- Jonson, J., 1991, "Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection", en *Clinical Microbiology Review*, 4:80.
- Jonquera, M. *et al.*, 1999, "Production of bactericidal substances by marine *Vibrio* isolated from culture of scallope *Agropecten purpuratus*", en *Aquaculture International*, 7:433-448.
- Levin, J. y C. Levin, 1999, *Fundamentos de estadística en la investigación social*, 2ª ed., University Press, Oxford.
- Madigan, M., *Biología de los microorganismos*, 10ª ed., Pearson Prentice Hall, Madrid.

- Merck, 1994, *Manual de Medios de Cultivo*, Darmstad, Alemania.
- Murray, R. *et al.*, 2006, *Microbiología Médica*, 5^a ed., Elsevier Mosby, Madrid.
- Muñoz, D. *et al.*, 2008, "Indicadores bacterianos en los mejillones *Perna perna* (Linneo,1758) y *P. viridis* (Linneo, 1758), en las aguas de extracción de bivalvos procedentes de la costa norte y sur de estado de Sucre, Venezuela", en *Revista Científica*, 18(5):595-606.
- Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA1-1993, Bienes y Servicios. Productos de la Pesca. Moluscos Bivalvos en Conserva. Especificaciones Sanitarias, México, *Diario Oficial de la Federación*, Mayo 16, 1994.
- Proyecto de Norma Oficial Mexicana. PROY-NOM-242-SSA1-2005. Productos de la pesca frescos, refrigerados y congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. México, *Diario Oficial de la Federación*, Mayo 16, 1994.
- Riquelme, C. *et al.*, 2001, "Bacteriology of scallope, *Argopecten purpuratus*, (Lamarck, 1819)", en *Aquaculture*, 192: 111-119.
- Romero, J. y S. Rodríguez, 1981, "Niveles actuales de contaminación coliforme en el sistema lagunar del Carmen y Machona, Tabasco", en *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, Universidad Nacional Autónoma de México, 45:1243-1265.
- Rosas, I. *et al.*, 1985, "Bacterias indicadoras de contaminación fecal en ostión (*Crassostrea virginica*) durante su desarrollo y procesamiento en el mercado", en *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 1:51-64.
- Semarnat, 1995, *Programa de Pesca y Acuicultura. Año 1995-2000*, Gobierno de México, Poder Ejecutivo Federal.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2000, "Enfermedades diarreicas", en *Boletín del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica*, Semana 7, México.
- Stuart, T. y P. Walter, 1998, *Microbiología*, Mc Graw Hill Interamericana, México.

- Téllez, S. *et al.*, 1999, "Evaluación de la calidad microbiológica del ostión de la laguna Madre de Tamaulipas (México)", en *Ciencia y Tecnología de Alimento*, 2(3):152-157.
- Weibel, S. *et al.*, 1974, "Water pollution control", en *Fed., Urban land run off as a factor in stream pollution*, 36:914-924.
- World Health Organization, 1985, *Manual of the International Statical Classification of Diseases. Injures and Cause of Death*, Geneva, Argentina.