

Prevalencia de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. y enterobacterias en carne de pepitona, *Arca zebra*, comercializada en Cumaná, Venezuela

Daniel Muñoz^{1*}, Crucita Graü de Marín², Carlos Martínez¹, Hilda Marval² y Aracelis Zerpa²

¹ Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumaná, Sucre. Venezuela.
*Correo electrónico: d_josem77@hotmail.com

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas de los estados Sucre/Nueva Esparta. Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Cumaná, Sucre. Venezuela.

RESUMEN

La pepitona, *Arca zebra*, (Mollusca: Bivalvia: Arcidae) es un producto de consumo masivo en el oriente de Venezuela. Se recolectaron mensualmente (marzo a septiembre 2004), muestras de pepitonas provenientes de expendios del Mercado Municipal de Cumaná, con el fin de determinar su condición higiénico-sanitaria. Se efectuaron recuentos en placa de *Staphylococcus aureus*, enterobacterias y detección de *Vibrio* spp. La identificación se realizó utilizando pruebas bioquímicas diferenciales basadas en la actividad metabólica de cada cepa aislada. Los análisis revelaron contaminación por *S. aureus* y enterobacterias en las muestras de carne de pepitonas, con valores promedio de $1,8 \times 10^2$ a $6,4 \times 10^3$ y $2,5 \times 10^2$ a $5,4 \times 10^3$ UFC/g, respectivamente. Se aislaron 61 cepas de *S. aureus*, de las cuales 37,7% resultaron ser positivas a la prueba de coagulasa y 42,6% a la DNAsa. Se identificaron diez especies pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, siendo la predominante *Escherichia coli* con 25% de prevalencia. También fueron identificadas las siguientes especies de *Vibrio*: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metchnikovii*, *V. fluvialis* y *V. mimicus*. Se demostró la presencia de patógenos en carne de pepitona libremente expendida en el Mercado Municipal de Cumaná.

Palabras clave: *Arca zebra*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp., enterobacterias

Prevalence of *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp., and enterobacteria in pepitona, *Arca zebra*, commercialized in Cumaná, Venezuela

ABSTRACT

Pepitona or turkey wing, *Arca zebra* (Mollusca: Bivalvia: Arcidae), is a product of massive consumption in eastern Venezuela. Monthly samples (march to september 2004) of pepitona meat were taken from vending places in the Cumana Municipal Market, in order to determine their hygienic conditions. Plate cultures of *Staphylococcus aureus* and enterobacteriae, and detection of *Vibrio* spp. were made. The identification was made using differential biochemical tests based upon the metabolic activity of each isolated strain. The analyses showed a high degree of contamination by *S. aureus* and enterobacteria in samples of pepitona meat, with average values 1.8×10^2 to 6.4×10^3 , and 2.5×10^2 to 5.4×10^3 CFU/g, respectively. A total number of 61 strains of *S. aureus* were isolated, of which 39.1% yielded positive to the coagulase test and 41.7% to the DNase test. Ten species of the family Enterobacteriaceae were identified, being *Escherichia coli* the most predominant with 25% prevalence. The following *Vibrio* species were identified: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metchnikovii*, *V. fluvialis* and *V. mimicus*. The presence of pathogens in pepitona meat freely sold to the public in the Municipal Market of Cumaná was demonstrated.

Keywords: *Arca zebra*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp., enterobacteria.

INTRODUCCIÓN

La pepitona, *Arca zebra* (Mollusca: Bivalvia: Arcidae), es un molusco bivalvo que habita en el fondo marino adherida a sustratos areno-rocosos. Los principales bancos naturales de este recurso se encuentran en la región nororiental de Venezuela (estados Nueva Esparta y Sucre). El banco más importante en producción es el de Coche-Chacopata (ubicado al norte de la Península de Araya) y aporta alrededor del 95% de la producción total de pepitonas del país. Asimismo, forma parte de un complejo de bancos naturales de pepitonas considerado como uno de los más productivos a nivel mundial (Jiménez, 1986; Lodeiros *et al.*, 1999).

La explotación de la pepitona se lleva a cabo con un sistema de pesca extractiva que consiste en el barrido del fondo mediante una rastra manipulada desde botes con motores fuera de borda. El producto de la pesca es trasladado en sacos de yute a las “sancochadoras” donde son sometidas a cocción en agua durante 20 min. Una vez terminado este proceso, las pepitonas son distribuidas a las distintas familias de la zona quienes se encargan de desconcharlas. Esta operación se realiza sin ningún control higiénico sanitario, lo que sugiere que las pepitonas sufren un proceso de reinfección y proliferación de microorganismos desde que son extraídas de los bancos naturales hasta llegar a las diferentes empresas que procesan y a los centros de venta del país. La pepitona suele consumirse en forma fresca y son expandidas en mercados municipales y en sitios a la orilla de las playas. Existen muchos puntos críticos en la comercialización en fresco y parcialmente cocidas, vendida en estos lugares.

Estudios realizados confirman la existencia de una gran variedad de patógenos bacterianos involucrados en toxiinfecciones alimentarias asociadas al consumo de mariscos, de los cuales 4% de los brotes se vinculan a patógenos asociados a la contaminación fecal y 20% de las afecciones a una flora endógena que incluye miembros de la familia Vibrionaceae, la cual comprende los géneros *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* (Leyva *et al.*, 1996).

Las bacterias del género *Vibrio* se caracterizan por ser miembros autóctonos de la biota bacteriana de los mares y estuarios, constituyendo desde 0,1 al 60% del total de las bacterias heterotróficas. Muchas especies de este género son patógenas al hombre, llegan a causar diarreas, infecciones en la piel y

septicemias generalizadas graves (Graü *et al.*, 2004; Fontáñez, 2005). También están involucrados en afecciones de organismos marinos y se asocian al deterioro de las aguas (Figuroa y Fernández, 1999). La patogenicidad relativa de cada especie difiere considerablemente, siendo moderada para el caso de *V. parahaemolyticus*, mientras que para *V. cholerae* y *V. vulnificus* es extremadamente elevada (Blake *et al.*, 1980).

Por otro lado, la manipulación de los alimentos es una de las vías más expeditas para que estos se contaminen, especialmente aquellos que se consumen crudos o parcialmente cocidos y se mantienen a temperatura ambiente. Cualquier alimento que requiera manipulación en su preparación se puede contaminar fácilmente con heridas infectadas y secreciones nasales o respiratorias de individuos enfermos (Villalobos y Eleguezábal, 2001; Carbajal-Mendoza *et al.*, 2003).

Staphylococcus aureus es un componente normal de la microflora humana autóctona y es transportado en forma asintomática en varias partes del cuerpo. Su transmisión desde estos sitios provoca enfermedad endémica y epidémica. Koneman *et al.* (1999) señalan que los determinantes de la patogenicidad están relacionados con la producción de enzimas extracelulares (coagulasas, lipasas, hialuronidasas, estafiloquinasas), toxinas citolíticas y enterotoxinas. La ubicuidad de los estafilococos en los humanos, ambiente y animales hace necesario que se tomen medidas sanitarias en las operaciones de procesamiento y manipulación del alimento, así como un estricto control de las medidas de prevención para evitar el crecimiento bacteriano y la consiguiente producción de toxinas.

El estado Sucre basa su economía principalmente en la actividad pesquera, por lo que la comercialización de estos productos se puede hacer de manera industrial y de manera artesanal. Es en esta última, donde el expendio de mariscos representa un ingreso adicional al pescador, ya que son consumidos en grandes cantidades tanto por la población local como foránea, pero lamentablemente no se lleva ningún control higiénico sanitario, por lo que los consumidores se ven expuestos a sufrir enfermedades toxiinfecciosas.

Por tal razón, se hizo necesario realizar un estudio donde se lograra poner en evidencia la presencia de patógenos, tanto de origen marino como de aquellos

que pudiesen contaminar el producto durante su tratamiento poscosecha, en el bivalvo *Arca zebra* proveniente de expendios del Mercado Municipal de Cumaná, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y preparación de la muestra

Las muestras de carne de pepitonas se recolectaron tres veces al mes en diferentes sitios de expendio del Mercado Municipal de Cumaná, de marzo a septiembre de 2004, tal como se venden al público. Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas de cierre hermético y transportadas en una cava de poliestireno con hielo. El tratamiento de las muestras se realizó de acuerdo a las recomendaciones de la norma Covenin 1126-89 (Covenin, 1989).

Detección y recuento de *S. aureus*

Se estableció el recuento en placa y detección de este microorganismo de acuerdo a la norma Covenin 1292-89 (Covenin, 1989), utilizando agar Baird Parker (E. Merck) con adición de yema de huevo y telurito de potasio al 1% como indicador. Las colonias una vez aisladas en agar Infusión Cerebro Corazón (BHI, Merck) fueron identificadas presuntivamente en base a la tinción de Gram. La identificación bioquímica completa fue realizada con las pruebas de coagulasa con plasma de conejo liofilizado, catalasa, utilización anaeróbica del manitol y la glucosa, tolerancia a 10% de NaCl y producción de la nucleasa termoestable (Mac Faddin, 1980). Los resultados fueron expresados en Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra (UFC/g).

Recuento e identificación de enterobacterias

Se determinó utilizando agar Cristal Violeta Rojo Neutro Bilis y Dextrosa (VRBGL) para el conteo en placas según la norma Covenin 1086 (Covenin, 1984). Se contaron las colonias púrpuras, rodeadas por una zona también púrpura. Los resultados fueron expresados en UFC/g. Las colonias desarrolladas fueron aisladas en caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI, Merck) y se repicaron en agar Nutritivo (Merck). Para la identificación bioquímica se realizaron las siguientes pruebas: siembra en agar Tres Azúcares y Hierro (TSI), descarboxilación y desaminación de aminoácidos (lisina, ornitina y arginina), ureasa, citrato, Rojo Metilo-Voges Proskauer, malonato,

fermentación de carbohidratos (glucosa, manitol y arabinosa), producción de indol, hidrólisis de la gelatina, oxidasa y motilidad (Mac Faddin, 1980).

Detección, aislamiento e identificación de especies de *Vibrio*

En la detección de las especies de *Vibrio* presentes se siguieron las pautas señaladas por la Food and Drug Administration (Kaysner y De Paola, 1998). Se preparó un homogeneizado con 25 g del molusco en 225 mL de agua peptonada alcalina (pH 8,5) con 3% NaCl, dejándose incubar durante 6 a 7 h a 37°C. La técnica de siembra se realizó por agotamiento en placas de Petri con agar TCBS (Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sacarosa, Merck). Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 a 48 h. Las colonias desarrolladas se aislaron en agar Trypticase Soya (Merck) con NaCl al 1,5%. Una vez realizada la tinción de Gram, se les realizó las siguientes pruebas bioquímicas: oxidasa, crecimiento en agar TSI, hidrólisis de la gelatina, ureasa, Voges-Proskauer, reducción de nitratos a nitritos, halotolerancia (0, 3, 6, 8 y 10% de NaCl), descarboxilación de la lisina, arginina y ornitina, fermentación de carbohidratos (glucosa, manitol y arabinosa), motilidad y crecimiento a 42°C. Adicionalmente, se complementaron estas pruebas con el test de susceptibilidad al vibriostato O/129 (discos de 10 y 150 mg). La patogenicidad de las cepas de *V. parahaemolyticus* asociada con la habilidad de producir una hemolisina directa termoestable (Hemolisina Kanagawa, TDH) fue confirmada en agar Wagatsuma preparado con eritrocitos humanos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la cuantificación de *S. aureus* en las muestras analizadas se muestran en el Cuadro 1. Se observaron valores relativamente elevados para este microorganismo, oscilando entre $1,8 \times 10^2$ a $6,4 \times 10^3$ UFC/g. El 42,9% de las muestras sobrepasó el máximo permitido por la legislación sanitaria de Venezuela (MSAS, 1996; Covenin, 1998) para este tipo de alimento (1×10^3 UFC/g). Es posible que la alta densidad de *S. aureus* obtenida en las muestras se deba a las condiciones de manipulación, conservación inadecuada del producto durante el expendio, características de los medios empleados para su transporte y estructura de los locales donde se manipulan las pepitonas, lo cual incide en la exacerbación de la microflora presente. Se adiciona,

Cuadro 1. Valores promedios del recuento de *Staphylococcus aureus* y enterobacterias en muestras de carne de pepitonas expandidas en el Mercado Municipal de Cumaná.

Mes	Recuento	
	<i>S. aureus</i>	Enterobacterias
	----- UFC/g -----	
Marzo	2,1x10 ³	3,2x10 ²
Abril	1,8x10 ²	1,6x10 ³
Mayo	1,5x10 ³	3,2x10 ³
Junio	1,5x10 ²	5,4x10 ⁴
Julio	6,4x10 ³	2,6x10 ³
Agosto	2,4x10 ²	2,5x10 ²
Septiembre	2,1x10 ³	3,2x10 ²

además, una carga microbiana por el uso de aguas, utensilios y manejo en condiciones poco higiénicas, factores que deberían ser vigilados y controlados a lo largo del proceso de obtención y manipulación del alimento.

S. aureus se encuentra comúnmente en el vestíbulo nasal anterior y garganta y de esta manera pasa a las manos. Al respecto, Torres y Fernández (1998) y Carbajal-Mendoza *et al.* (2003) señalan que cualquier alimento que requiera una manipulación en su preparación puede fácilmente ser contaminado por este microorganismo. A pesar que *S. aureus* es normalmente indicador de contaminación por manipulación deficiente en los alimentos, se puede encontrar con facilidad en el medio marino, ya que soporta altas concentraciones de sal, por lo que su aislamiento en este caso nos puede indicar la calidad de las aguas donde se cosechan los bivalvos, sin menospreciar el efecto del manejo poscosecha (Carrillo *et al.*, 1988; Villalobos y Elguezábal, 2001).

La importancia de la detección de este coco Gram-positivo radica en la propiedad que tienen algunas cepas de producir enterotoxinas. Esta propiedad se relaciona con la presencia de ciertas enzimas como la DNAsa y la coagulasa. Para estudiar la posible producción de estas enterotoxinas, por parte de las cepas aisladas, se investigó la presencia de estas enzimas. Se aislaron 61 cepas a partir del agar Baird Parker, presentando todas el aspecto típico de las colonias de *S. aureus* en este medio. Del total de cepas aisladas, 26 (42,6%) fueron DNAsa positivas, la coagulasa fue positiva en 23 (37,7%) de las 26 DNAsa positivas, formando coágulos tipo 2+ y 3+, según

la tipificación de Sperber y Tatini (1975). De todos modos, no se puede asegurar con toda confiabilidad que se trate de cepas enterotoxigénicas, pero existe una alta posibilidad. Betancourt *et al.* (2005) señalan que la propiedad de coagular el plasma descalcificado se conoce como una reacción coagulasa positiva y es típica de algunas cepas de *S. aureus*, debido a la producción de una enzima denominada coagulasa libre (estafilicoagulasa). La mayoría del resto de las especies del género no tienen la capacidad de producirla y son conocidas como coagulasa negativas, por lo que usualmente no son patógenas. Esta especie está asociada a una gastroenteritis que se manifiesta clínicamente por un cuadro caracterizado por náuseas, dolores de cabeza, dolores abdominales, vómitos, a menudo acompañado de diarrea.

El recuento de Enterobacterias, al igual que *S. aureus*, también fue relativamente alto, oscilando los valores entre $2,5 \times 10^2$ y $5,4 \times 10^4$ UFC/g (Cuadro 1). La Comunidad Económica Europea ha establecido para estos tipos de alimentos, frescos, refrigerados, salprios, congelados y cocidos un valor de hasta $1,0 \times 10^3$ UFC/g (CEE, 1991). En nuestro estudio, 57,14% de las muestras estuvo por encima de este valor. Mossel y Moreno (1985) establecieron los aspectos prácticos de este tipo de examen cuando se aplica de manera paralela a otros procedimientos similares, en especial a la detección de organismos coliformes que fermenten débilmente la lactosa. Este tipo de prueba detecta la presencia de géneros que son habituales en la flora intestinal, tal como los encontrados en este tipo de estudio. En total, se aislaron 119 cepas a partir del agar VRBGL, distribuidos en 10 especies. En la Figura 1 se muestra la prevalencia de los distintos

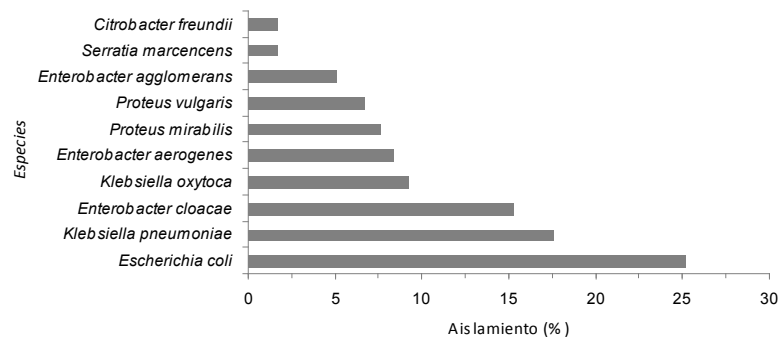


Figura 1. Prevalencia de las distintas especies bacterianas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae presentes en carne de pepitona *Arca zebra*, comercializado en el Mercado Municipal de Cumaná.

géneros y especies identificados. La proporción elevada de enterobacterias está indicando una posible contaminación de las pepitonas, la cual aumenta considerablemente con el desbullado y el manipuleo por parte de los expendedores que hacen posible la introducción y proliferación de patógenos, aunado al almacenamiento a temperaturas inadecuadas que permiten el crecimiento microbiano.

Cabe destacar que la especie bacteriana encontrada con mayor frecuencia fue *E. coli*, microorganismo que tiene un significado especial desde el punto de vista sanitario, ya que su recuperación a partir de alimentos implica que otros microorganismos de origen fecal, incluyendo patógenos, puedan estar presentes. Actualmente se reconoce la existencia de especies patógenas que causan diferentes síntomas diarreicos. Las cepas de *E. coli* productoras de diarrea, que han sido asociadas con enfermedades transmitidas por alimentos, han sido clasificadas en cinco categorías: enterotoxigénica, enteroinvasiva, enteroagregativa, enterohemorrágica y enteropatógena (Koneman *et al.*, 1999). Trabajos publicados por Villalobos y Elguezabal (2001) y Martínez y Villalobos (2005), demuestran la presencia de *E. coli* enteropatógena en moluscos bivalvos que son consumidos en Cumaná.

Otros géneros de enterobacterias como *Enterobacter agglomerans*, *Serratia marcescens* y *Citrobacter freundii* fueron aislados con poca frecuencia durante los diferentes muestreos y probablemente se encuentren en bajo número; sin embargo, su presencia debe servir de advertencia,

puesto que su número puede estar asociado con la incidencia de infección en la población.

En lo que respecta a las siembras realizadas en agar TCBS, se aislaron diversas cepas bacterianas pertenecientes al género *Vibrio*. Las especies identificadas fueron *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii*, *V. fluvialis* y *V. mimicus* (Cuadro 2). Es importante señalar que muchos de los aislamientos obtenidos no correspondían al género *Vibrio*, lo cual también fue observado por Carrillo *et al.* (1988) y Arévalo *et al.* (2003) quienes señalan que el medio empleado (TCBS) no resultó todo lo selectivo que era de esperar, ya que en el pueden crecer microorganismos pertenecientes a los géneros *Aeromonas*, *Plesiomonas* y algunas enterobacterias, y estos fueron los que se obtuvieron en algunos casos. Colwell y Huq (1984), Borroto (1997) y Jorquera *et al.* (2001) mencionan que los vibrios se encuentran en el medio ambiente marino asociados a la distribución de animales invertebrados donde toman formas que no los hacen fácilmente viables en medios de cultivos y de ahí su dificultad de aislamiento.

La tolerancia a la sal (NaCl) permitió en forma definitiva la diferenciación entre las distintas especies aisladas, evidenciándose el carácter de halófila extrema de *V. alginolyticus*, capaz de crecer a la concentración de 10% de NaCl en el medio utilizado. Janda *et al.* (1988) reporta a *V. alginolyticus* como agente causal de infecciones gastrointestinales en el hombre y ocasionalmente extraintestinales. Posee escasa virulencia y se asocia con frecuencia a otros

Cuadro 2. Especies bacterianas pertenecientes al género *Vibrio* aisladas de muestras de carne pepitonas expandidas en el Mercado Municipal de Cumaná.

Especies bacterianas	Cepas	Frecuencia
	Número	%
<i>V. alginolyticus</i>	5	41,6
<i>V. parahaemolyticus</i>	4	33,3
<i>V. metschnikovii</i>	1	8,3
<i>V. fluvialis</i>	1	8,3
<i>V. mimicus</i>	1	8,3
Total	12	100

patógenos, su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas.

V. parahaemolyticus ha sido una de las especies que más se ha considerado como agente causal de gastroenteritis asociadas al consumo de mariscos. Si bien su distribución es universal, algunos autores señalan que este vibrio no se encuentra en aguas marítimas frías (De Paola *et al.*, 2000). La baja recuperación de la especie pudo haber estado influenciada por la composición de la microflora del bivalvo en el momento del análisis, como podría ser el caso de la predominancia de los vibrios sacarosa positivos en el agar TCBS, especialmente *V. alginolyticus*, el cual aparentemente compite muy bien en este medio con *V. parahaemolyticus*. Los mecanismos de patogenicidad que presenta *V. parahaemolyticus* aún son desconocidos, pero entre sus factores de virulencia se han identificado mecanismos de invasión con toxinas, enzimas de adherencia y la producción de una hemolisina termoestable directa que es codificada por el gen *tdh*, la cual es detectada casi exclusivamente en los aislados clínicos y raras veces es producida por aislados ambientales (Nishibuchi *et al.*, 1992; Arevalo *et al.*, 2003; Balakrish y Hormazabal, 2005). De todos los factores de virulencia que presenta *V. parahaemolyticus* la producción de *tdh* se considera el más importante. Varios investigadores (Miyamoto *et al.*, 1969; Nijkawa *et al.*, 1972; De Paola *et al.*, 2000) aislaron la *tdh* directamente de los filtrados de cultivos de cepas de *V. parahaemolyticus* capaces de producir hemólisis en agar Wagatsuma (un medio

de cultivo que contiene sangre fresca humana o de conejo). Investigaciones epidemiológicas revelaron una asociación entre el fenómeno de Kanagawa (una hemólisis tipo beta en el medio Wagatsuma, KP) y la capacidad del microorganismo para causar gastroenteritis. El fenómeno KP es inducido por la *tdh* que producen exclusivamente algunas cepas de *V. parahaemolyticus*. Dileep (2003), Heitmann *et al.* (2005) y Mancilla (2005) mencionan que una pequeña porción de las cepas ambientales de *V. parahaemolyticus* son virulentas y 1% de estas exhiben una hemólisis tipo β . Al respecto, esta capacidad de hemólisis no fue observada en los aislados *V. parahaemolyticus* en este estudio, concordando con trabajos previos (Grau *et al.*, 2004; Villalobos y Elguezábal, 2001).

La recuperación de *V. metschnikovii*, *V. fluvialis* y *V. mimicus* fue bastante baja en comparación con las descritas anteriormente, quizás debido a fenómenos de competencia con la flora contaminante o posiblemente se encuentren presentes en las muestras algunas cepas en estado viable no cultivable (VBNC). El estado VBNC es una respuesta de sobrevivencia de las bacterias asporógenas a cambios de factores externos como temperatura, humedad, salinidad y nutrientes. Es probable que al estudiar las interrelaciones ecológicas entre estas especies y los factores que los afectan, nos puede aportar información interesante de cómo estos vibrios, considerados como patógenos, pueden prevalecer en un momento dado. Al igual que *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, se les debe reconocer la importancia en su detección tanto en las aguas como en los moluscos que se consumen en la

zona, para que así se puedan identificar y determinar su patogenicidad .

Stamsby (1986), Arias-Echandi y Antillón (2000) y Franco-Monsreal *et al.* (2003) señalan que en los productos marinos precocidos la flora bacteriana, que es en extremo sensible al calor, resulta destruida en elevada proporción, pudiendo en condiciones de higiene deficientes verse reemplazada por otra flora contaminante. Esta flora puede ser incluida en el alimento por la contaminación mecánica ocasionada por las moscas, la contaminación directa por microorganismos presentes en el aire y la constante manipulación del producto, lo cual propicia una contaminación cruzada de los alimentos marinos crudos a los cocidos. En este sentido, no hay razón justificable para encontrar bacilos termolábiles después que el alimento ha recibido un tratamiento térmico. Además, es importante señalar los efectos desfavorables de la congelación y descongelación del producto, ya que una gran parte o incluso la totalidad de las alteraciones microbiológicas de los alimentos tienen lugar durante esta fase.

La distribución porcentual por familias en el bivalvo en estudio mostró que la Familia predominante fue la Enterobacteriaceae con 59,5%, seguida por la Micrococaceae (*S. aureus*) con 30,5%, Vibrionaceae 6%, manteniéndose los géneros de otras ubicaciones taxonómicas, no consideradas para este estudio, con 4%.

CONCLUSIONES

- Los resultados del presente estudio revelan que a pesar de la existencia en Venezuela de normas que favorecen la producción de un alimento con características ideales, estas no llegan a cumplirse ya que la mayoría de nuestra producción es artesanal y los pescadores carecen del conocimiento y de los instrumentos para efectuar un trabajo más técnico. Sin embargo, es posible que se implementen planes educativos que les ayude a tomar conciencia del problema y de la necesidad de guardar normas higiénico-sanitarias básicas.
- Alto número de muestras (42,9%) analizadas para el recuento de *S. aureus* se mantuvieron fuera del límite máximo permitido ($1,0 \times 10^3$).
- Los resultados obtenidos han demostrado la presencia de las especies *Vibrio parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*, considerados como patógenos, los cuales podrían significativamente contribuir en la aparición de brotes de gastroenteritis y otras afecciones entéricas, asociadas al consumo de moluscos bivalvos crudos o parcialmente cocidos.
- Las especies de la familia Enterobacteriaceae aisladas e identificadas están asociadas a diversos procesos infecciosos, por lo que su presencia debe alertar sobre posibles riesgos para la salud pública.

LITERATURA CITADA

- Arévalo Z., A. Clavijo, M. de Rolo, M. Álvarez, D. Conroy, D. Infante y J. Santander. 2003. Aislamiento de *Vibrio cholera* a partir de lisas y tilapias en Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 23: 127-130.
- Arias-Echandi M. y F. Antillón. 2000. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. *Rev. Biomed.*, 11: 113-122.
- Balakrish G. y J.C. Hormazabal. 2005. The *Vibrio parahaemolyticus* pandemic. *Rev. Chil. Infectol.*, 22(2): 25-130.
- Betancourt O., D. Del Río Méndez, B. Santana, Y. Falcón, I. Casado-Hernández y C. Galdos. 2005. Plasma equino como sustituto del plasma humano en la identificación del *S. aureus* en los laboratorios de Microbiología. *Rev. Cubana Invest. Biomed.*, 24(2): 112-120.
- Borroto R. J. 1997. Ecology of *Vibrio cholerae* serogroup 01 in aquatic environments. *Rev. Panam. Salud Pública*, 1(1): 3-8.
- Blake P., R. Weaver y D. Hollis. 1980. Disease of humans (other than cholera) caused by vibrios. *Ann. Rev. Microb.*, 34: 341-367.
- Carrillo C., M. Sánchez-Manjavacas y M. González. 1988. Estudio comparado de la microflora contaminante presente en *Cerastoderma edule* L. en estado fresco y congelado. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 5(1): 119-134.

- CEE (Comunidad Económica Europea). 1991. Normas microbiológicas para productos frescos, salpescados, refrigerados y congelados de la pesca y acuicultura. Directiva 91/20734/CEE, Comunidad Económica Europea, Madrid. España. pp. 27153-27155.
- Colwell R. y A. Huq. 1994. Vibrios in the environment: Viable but non-culturable *Vibrio cholerae*. En Kaye Wachsmuth I., P. Blake y O. Olsvik (Eds). *Vibrio cholerae* and Cholera: Molecular to Global Perspectives. American Society for Microbiology, Washington, EUA. pp. 117-133.
- Carbajal-Mendoza M., P. Rabelo, C. González y M. Ayala. 2003. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla-Perú. *Rev. Cub. Salud Pública*, 29(2): 121-123.
- Covenin. 1984. Alimentos. Métodos para recuentos de bacterias coliformes en placas de Petri. Norma 1086. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas. Venezuela.
- Covenin. 1989. Alimentos. Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Norma 1126. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas. Venezuela.
- Covenin. 1989. Alimentos. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Norma 1292. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas, Venezuela.
- Covenin. 1998. Alimentos. Principios generales para el establecimiento de criterios microbiológicos. Norma 409. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas. Venezuela.
- De Paola A., C. Kaysner, J. Bowers y D. Cook. 2000. Environmental investigations of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters after outbreaks in Washington, Texas, and New York (1997-1998). *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(11): 4649-4654.
- Dileep V., Y. Kumar, M. Nishibuchi y I. Karunasagar. 2003. Application of polymerase chain reaction for detection of *Vibrio parahaemolyticus* associated with tropical sea food and coastal environment. *Lett. Appl. Microbiol.*, 36: 423-427.
- Figueroa Y. y E. Fernández. 1999. Presencia del género *Vibrio* en agua y sedimentos marinos de la Bahía de Mochima. *Bol. Inst. Oceanogr. UDO*, 38(1): 147-148.
- Fontáñez Y. 2005. Determinación del perfil microbiológico de la almeja (*Lucina pectinata* Gmelin, 1791), del ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828) y las aguas de extracción de bivalvos en la zona suroeste de Puerto Rico. Tesis Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. Puerto Rico.
- Franco-Monsreal J., J. Flores-Abuxapqui, G. Suárez-Hoil, M. Puc-Franco, M. Heredia-Navarrete y M. Vivas-Rosel. 2003. Prevalencias de las especies *Vibrio hollisae*, *Vibrio mimicus* y *Vibrio vulnificus* en alimentos marinos de origen animal de marisquerías de la ciudad de Chetumal, Quintana Roo, México. *Rev. Salud Pub. Nutr.*, 14(1): 9-16.
- Graü De Marín C., A. La Barbera, A. Zerpa, S. Silva y O. Gallardo. 2004. Aislamiento de *Vibrio* spp. y evaluación de la condición sanitaria de los moluscos bivalvos *Arca zebra* y *Perna perna* procedentes de la costa nororiental del estado Sucre, Venezuela. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 14(6): 513-521.
- Heitmann I., L. Jofré, C. Hormázabal, A. Olea, C. Vallebuona y C. Valdés. 2005. Revisión y recomendaciones para el manejo de diarrea por *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Chil. Infect.*, 22(2): 131-140.
- Janda J., C. Powers, R. Bryant y S. Abbott. 1988. Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. *Clin. Rev.*, 1: 245-267.
- Jiménez M.R. 1986. La pepitona (*Arca zebra*): Su explotación y aprovechamiento. *Fonaiap Divulga*, 21: 25-28.
- Jonquera M., F. Silva y C. Riquelme. 2001. Bacteria in the culture of the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquacult. Int.*, 9: 285-303.

- Kaysner C. A. y De Paola A. 1998. *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and other *Vibrio* spp. En FDA (Ed). Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration. 8^{va} ed, Washington, DC. pp. 1-27.
- Koneman E., S. Allen, V. Dawell, W. Janda, H. Sommers y W. Winn. 1999. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
- Leyva C., A. Valdés, D. Cisnero y S. Pérez. 1996. Aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba. Rev. Cubana Aliment. Nutr., 10: 189-198.
- Lodeiros C., B. Marín y A. Prieto. 1999. Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela: Clase Bivalvia. Edición APUDONS. Cumana, Venezuela.
- Mac Faddin J. 1980. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Mancilla E. 2005. Intoxicación por *Vibrio parahaemolyticus*. Cuad. Med. Soc. Chile, 45: 43-47.
- Martínez N. R. y L. Villalobos. 2005. Ocurrencia de *Escherichia coli* enteropatógena en moluscos bivalvos en Cumaná, Venezuela. Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ, 15(2): 163-167.
- MSAS (Ministerio de Sanidad y Asistencia Social). 1996. Buenas prácticas de fabricación, almacenamiento y transporte de alimentos para consumo humano. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 36.081. Caracas, Venezuela.
- Miyamoto Y., Y. Obara, S. Akiyama, K. Takizawa y S. Yamai. 1969. *In vitro* hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. J. Bacteriol., 100: 1147-1149.
- Mossel D. y G. Moreno. 1985. Microbiología de Alimentos. Ed. Acribia- Zaragoza, España.
- Nijkawa T., Y. Obara, S. Yamai y Y. Miyamoto. 1972. Purification of a hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus*. Jap. J. Med. Sci. Biol., 25: 197-200.
- Nishibuchi, M., A. Fasano, R. Rusell y J. Koper. 1992. Enterotoxigenicity of *Vibrio parahaemolyticus* with and without genes encoding thermostable direct hemolysin. Infect. Immun., 60: 3539-3545.
- Sperber W. y S. Tatini. 1975. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol., 29: 502-504.
- Stamsby M. 1986. Tecnología de la Industria Pesquera. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Torres A. y E. Fernández. 1998. Causas más frecuentes de problemas sanitarios en alimentos. Rev. Cubana Aliment. Nutr., 12 (1): 20-23.
- Villalobos L. y L. Elguezabal. 2001. Microbiological quality of the bivalve *Pinctada imbricata* commercialized in Cumaná, Venezuela. Acta Cient. Ven., 52(1): 55-61.