

Calidad microbiológica de la almeja *Tivela mactroides* (Guacuco), en la playa Caño Sagua, Edo. Zulia

Lennys Chourio G. y Marynes Montiel de M.*

Laboratorio Microbiología Ambiental de Bacterias, Departamento de Biología
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Apdo 526. Maracaibo, Venezuela

Recibido: 11-06-97 Aceptado: 01-10-97

Resumen

Tivela mactroides es un molusco bivalvo que actualmente está siendo explotado con fines comerciales en la zona Nor-Occidental del Estado Zulia. Durante un período de 12 meses (1994-1995) se evaluó la calidad microbiológica de la almeja, y los niveles de microorganismos concentrados en ella. Se utilizó la técnica del Número Más Probable (NMP 100g^{-1}) para cuantificar los coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), estreptococos fecales (SF) y enterococos (EC); la técnica del vaciado en placas para el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC g^{-1}) de aerobios mesófilos y técnicas estándares para el aislamiento e identificación de bacterias, descritas en el APHA (1992). Los valores de UFC g^{-1} de almejas oscilaron entre $3,0 \times 10^2$ y $2,6 \times 10^4$. El promedio del índice del NMP 100g^{-1} de almejas para los CT fue de 5,4; para los SF de 103,6 y para los EC de 65,1. De las 75 cepas identificadas el 54,6% (41/75) correspondió a géneros de la Familia Enterobacteriaceae. Se aisló *Escherichia coli* en el 9,3% (7/75) y *Salmonella sp.* en el 1,3% (1/75) de las cepas. El 45,3% de cepas aisladas fueron recuperadas a partir del medio TCBS, de las cuales, el 25,3% (19/75) resultaron del género *Vibrio*, el resto se identificó como pertenecientes a los géneros *Aeromonas* y *Pleisomonas*. La almeja *Tivela mactroides* cumple con la normativa internacional para ser expendida a nivel de mercado mayor de moluscos bivalvos; sin embargo, los altos valores de SF y EC proponen tanto una revisión de estas normas, como la formulación y aplicación de normas para la carne de los moluscos bivalvos en Venezuela.

Palabras clave: Bivalvo; calidad; microorganismos; molusco; *Tivela*.

Microbiological quality of the clam *Tivela mactroides* (Guacuco) from Caño Sagua, Zulia State

Abstract

Tivela mactroides is a mollusk that is presently being exploited for commercial use in northwestern zones of Zulia state. During a period of 12 months, the microbiological quality of the guacuco (*T. mactroides*) was evaluated. The enumeration of total coliforms (TC), faecal coliforms (FC), faecal streptococci (FS) and enterococci (EC) were determined by the Most Probable Number technique (MPN 100g^{-1}); the colony forming unit (CFU g^{-1}) by the pouring plate technique and standard techniques were used for the isolation and identification of bacteria. The CFU g^{-1} in the clam was between 3.0×10^2 and 2.6×10^4 . The mean index of MPN

* Autor para la correspondencia.

100g⁻¹ for TC was 5,4; for FS was 103,6 and for the EC was 65.1. Of the 75 strains isolated 54.6% (41/75) were of the Enterobacteriaceae Family. *Escherichia coli* was isolated in 9.3% (7/75) and *Salmonella sp.* in 1.3% (1/75) of the strands. 45.3% of the strains were isolated from TCBS, 19 (25.3%) were of the genus *Vibrio* and the rest were *Aeromonas* and *Pleisomonas*. On the basis of these results *Tivela mactroides* meets the international standards for the wholesale market; however, it is also important to take into account the FS and EC to establish rules for the quality of shellfish exploited in Venezuela.

Key words: Bivalve; microorganisms; mollusc; quality; *Tivela*.

Introducción

Los moluscos bivalvos, tales como las ostras y las almejas, constituyen una fuente importante de alimentos para los nativos americanos, ya que algunas especies crecen en abundancia en estuarios y aguas marinas (1-5).

Los bivalvos marinos, debido a su eficiente mecanismo de filtración, son capaces de acumular, a partir del medio circundante, un gran número de microorganismos, que pueden o no ser patógenos para el hombre, dependiendo del agua donde éstos se desarrollen (6-16).

Los ambientes acuáticos naturales pueden albergar una flora abundante, en su mayoría bacterias Gram-negativas; en esta flora los géneros más representativos son *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flexibacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* y *Moraxella* y algunas bacterias Gram-positivas como *Bacillus*, *Corynebacterium* y *Micrococcus* (13,15,17). En ambientes contaminados los moluscos bivalvos pueden acumular microorganismos patógenos, convirtiéndose así en vectores transmisores de enfermedades, ya que estos en su mayoría son consumidos crudos (5).

La calidad microbiológica de los moluscos bivalvos varía de acuerdo a las estaciones del año. Estos cambios vienen dados por la variación en la microflora del agua donde se desarrollan. La misma puede verse afectada tanto por la temperatura, la salinidad, la concentración de nutrientes y los niveles de contaminación (1-4, 6, 17,18).

En Venezuela no existe normativa que determine la calidad de la carne de los moluscos bivalvos. En Estados Unidos a nivel de mercado al mayor, las almejas son consideradas satisfactorias si el índice del NMP de coliformes no excede de 230x100 g⁻¹ y el conteo en placas no es superior a 500.000 UFC g⁻¹ de muestra (18,19).

La almeja *Tivela mactroides* se encuentra ampliamente distribuida en el Mar Caribe y en las Costas del Brasil, llegando hasta el Estado de Santa de Catarina; frecuentemente es empleada como fuente de alimento (20), y es un recurso económicamente importante para el país en especial para la Isla de Margarita (21).

El objetivo del presente estudio fue determinar la calidad microbiológica del guacuco (*T. mactroides*) y comparar la presencia de diferentes grupos de indicadores de contaminación microbiana.

Materiales y Métodos

Descripción de la almeja *Tivela mactroides*

Tivela mactroides, conocida en Venezuela como Guacuco, puede llegar a alcanzar hasta 4,5 cm de longitud; sus valvas son iguales, delgadas, sólidas y de textura porcelanosa, se caracterizan por su superficie externa lisa de color amarillento cremoso o canela, a menudo con bandas radiales de color marrón o marrón-rojizo con las márgenes y extremos algunas veces más oscuros (20).

Toma de muestra

Durante un año (Octubre 1994 - Septiembre 1995) se realizaron muestreos mensuales, y se colectaron muestras de guacuco en la playa Caño Sagua, Estado Zulia.

Las almejas fueron capturadas durante el período de marea baja, con una rastra artesanal, similar a la utilizada actualmente por los pescadores de la zona, modificada para la captura, tanto de animales grandes como pequeños.

Todas las muestras fueron trasladadas al Laboratorio en un recipiente con hielo para su posterior procesamiento, en un lapso no mayor de 6 h después de su recolección.

Parámetros fisicoquímicos

La temperatura, el pH y la salinidad del agua fueron medidos en el lugar de muestreo utilizando un termómetro de mercurio de 0,1 grado de precisión, un pH-metro de campo marca Piccolo (Hanna) modelo 1280 y un salinómetro refractómetro (American Optical Corporation) respectivamente, según recomendaciones del APHA, 1992 (19).

Parámetros microbiológicos

Los parámetros microbiológicos estudiados fueron coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos fecales y enterococos por la técnica del número más probable (NMP). El conteo de heterótrofos por la técnica de vaciado en placas y aislamiento e identificación de bacterias, de la Familia Enterobacteriaceae y Vibrionaceae, según las técnicas descritas en el APHA. 1992.

Preparación del homogeneizado

Los ejemplares fueron lavados con agua y cepillados para eliminar todo el material adherido a los mismos, poniendo especial atención en las hendiduras de las conchas; posteriormente éstos fueron colocados en un recipiente estéril con tapa. El desconchamiento se realizó con un cuchillo estéril, desprendiendo todo el contenido del

interior de la almeja y colocándolo en una placa de Petri. Se pesaron 25 g en una balanza de dos platos marca Harvard Trip (OHAUS). Se colocaron en una licuadora (Oster), se le adicionó 225 ml de agua peptonada al 0,5%, y se homogeneizó a velocidad media durante 2 minutos.

Discusión y Resultados

Los valores máximos, mínimos y promedios para los parámetros microbiológicos medidos en el guacuco se observan en la Tabla 1. El promedio del índice del NMP $100g^{-1}$ de coliformes totales de almejas fue de 35,8, con un intervalo de variación (I.V.) de 0,9-240; para los CF fue de 5,4 con un intervalo de variación de 0,2-4,6.

El 100% de las muestras cumplieron con la normativa internacional para la carne de moluscos bivalvos a nivel del mercado mayor ($<230 CF \times 100g^{-1}$) (5, 19); esto perfila este molusco como apto para su exportación.

En Venezuela no existe normativa en relación a la carne de almejas, sin embargo es posible inferir que el agua donde se cultiva este molusco, cumple con la normativa venezolana para aguas de cultivo de moluscos bivalvos (22), ya que por su característica de ser filtrador (5, 9, 13) este refleja la calidad del ambiente donde se desarrolla. Así ha sido reportado que la variación en el número de microorganismos en el agua, producto de condiciones ambientales adversas, tales como el aumento de la luz solar incidente y de la temperatura, determinan la cantidad de microorganismos que pudieran concentrar los moluscos bivalvos (4, 5).

La Figura 1A demuestra que el valor máximo para los coliformes totales fue registrado en el mes de octubre, descendiendo bruscamente en el período de noviembre a enero, con ligeros aumentos en los meses de febrero y junio. No se observó influencia de la salinidad del agua de la playa Caño Sagua, sobre los coliformes totales concentrados en la carne del guacuco. Ambos pará-

Tabla 1
Índice del NMP de Coliformes totales, Coliformes fecales, Estreptococos fecales y Enterococos en el guacuco (*Tivela mactroides*)

Muestreos	CT*	CF*	SF*	EC*	UFC g ⁻¹
Octubre	>240	46	93	2,3	1,3x10 ³
Noviembre	46	4,3	>240	2,8	5,6x10 ³
Diciembre	43	<0,3'	>240	>240	9,4x10 ²
Enero	1,5	<0,3	24	2,1	<3,0x10 ²
Febrero	46	0,4	>240	>240	2,1x10 ⁴
Marzo	2,1	<0,3	4,3	1,5	7,2x10 ²
Abril	2,3	0,9	1,5	1,5	<3,0x10 ²
Mayo	0,9'	<0,3	>240	>240	1,1x10 ⁴
Junio	24	<0,3	<0,3'	<0,3'	1,8x10 ³
Julio	9,3	9,3	46	46	2,5x10 ³
Agosto	4,3	0,7	0,4	0,4	3,5x10 ³
Septiembre	9,3	2,3	110	0,4	3,0x10 ²
Promedios	35,9	5,4	103,6	65,1	4,1x10 ³

CT: Coliformes Totales, CF: Coliformes Fecales, SF: Estreptococos Fecales, EC: Enterococos, Valor máximo, 'Valor mínimo, UFC g⁻¹: Unidades Formadoras de Colonias por g de muestra. * Todos los resultados están expresados en 100 g de muestra.

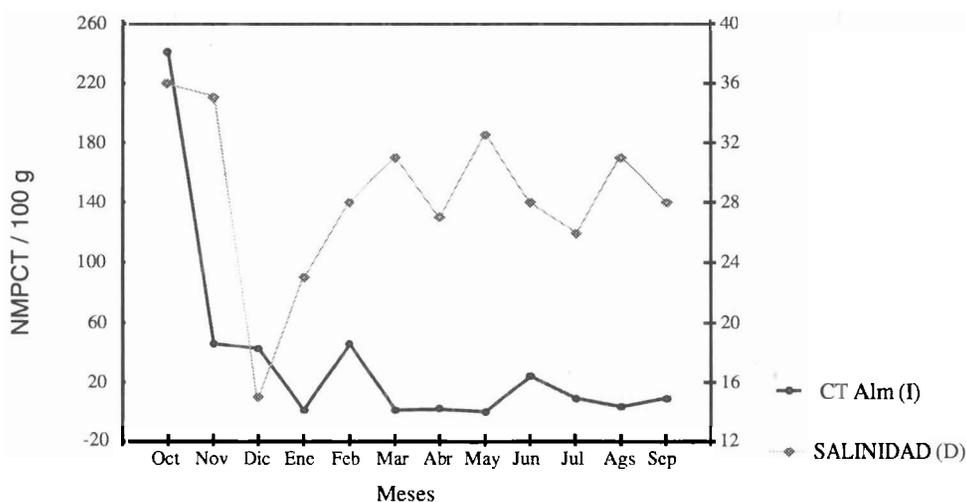


Figura 1 A. Representación gráfica de los valores del índice del NMP de coliformes totales en el guacuco vs la salinidad de las aguas donde se desarrolla. CT: Coliformes totales; Alm: Almejas; (I): Izquierdo; (D): Derecho.

metros no presentaron correlación entre sí ($p < 0,05$; $r = -0,18$).

Los valores de salinidad, medidos en el agua, estuvieron por encima de 23, a excepción del mes de diciembre (Tabla 2). Estudios realizados (4, 5) han demostrado que los coliformes presentan una alta tasa de mortalidad, en condiciones adversas (5), indicando que la salinidad ocasiona una reducción acelerada de los mismos, lo cual se refleja en una reducción en la concentración de los microorganismos en los moluscos bivalvos. Esto pudiera explicar que durante todo el año la almeja presenta bajos valores de este grupo microbiano.

La temperatura fluctuó entre 25,8 y 32,5°C (Tabla 2), registrándose el valor más bajo en el mes de febrero, en el cual se incrementaron los CT. Se encontró correlación negativa no significativa ($p < 0,05$; $r = -0,45$) entre los CT y la temperatura (Figura 1B). Esto puede ser debido a la reducción en la tasa de alimentación del guacuco, tal como ha sido expuesto por otros investigadores para los moluscos bivalvos (4) o por la reducción en el

número de coliformes producto de la incidencia de los rayos solares (4, 23).

El promedio del índice del NMP de $SF \times 100g^{-1}$ en la carne de almejas fue de 103,6 con un I.V. de 0,2 a más de 240. Para los enterococos se encontró un promedio del índice del NMP de $65,1 \times 100g^{-1}$ con un I.V. de 0,2 a más de 240 (Tabla 1).

En el 66,6% de las muestras los SF superaron el valor de los CT, siendo tres veces mayor el promedio de SF encontrados. Resultados similares han sido reportados en un estudio bacteriológico realizado en *Anadara tuberculosa* (6). Esto demuestra, bien sea la capacidad selectiva de *T. mactroides* para concentrar estreptococos fecales, tal y como ha sido reportado para otros bivalvos (6), o que por otra parte debido a que los SF están en mayor proporción en las aguas de la playa Caño Sagua (datos no mostrados) este molusco los concentra en mayor cantidad, ya que es bien conocido que en aguas marinas los estreptococos fecales y enterococos tienen mayor sobrevivencia en comparación con los coliformes (5), es por ello que

Tabla 2
Parámetros fisicoquímicos medidos en el agua de la playa Caño Sagua

Muestreo	Temperatura del agua (°C)	Salinidad	pH
Octubre	32,5	36	8,25
Noviembre	29,5	35	8,37
Diciembre	27,5	15	8,38
Enero	27	23	8,30
Febrero	25,8	28	8,27
Marzo	28,5	31	8,23
Abril	29	27	8,28
Mayo	32,5	32,5	8,15
Junio	30	28	8,21
Julio	28,5	26	8,18
Agosto	32	31	8,01
Septiembre	30	28	8,55

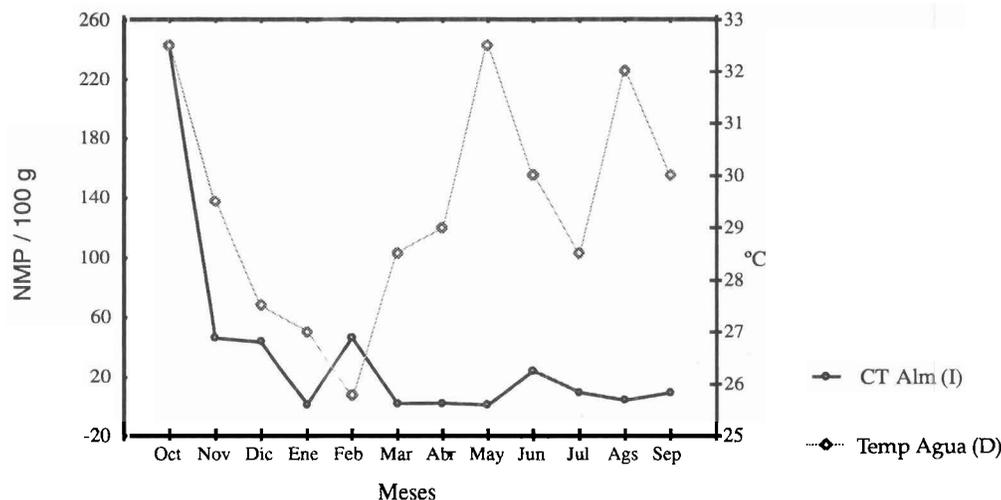


Figura 1 B. Representación gráfica de los valores del índice del NMP de coliformes totales en el guacuco vs la temperatura de las aguas donde se desarrolla. CT: Coliformes totales; Alm: Almejas; Temp: Temperatura; (I): Izquierdo; (D): Derecho.

los SF podrían constituirse en indicadores más sensibles de contaminación fecal en moluscos bivalvos marinos (6).

La Tabla 1 muestra los valores máximos, mínimos y promedios de los organismos heterótrofos. Se detectó un valor máximo de $2,1 \times 10^4$ UFCg⁻¹ y un mínimo de $<3,0 \times 10^2$ UFCg⁻¹ en almeja. Según la normativa sugerida por la APHA (19) para el conteo de heterótrofos ($<5 \times 10^5$ UFC g⁻¹), el 100% de las muestras analizadas cumplieron con esta normativa.

Los valores más altos para los organismos heterótrofos se detectaron en los meses de febrero y mayo (Figura 2). No se encontró correlación significativa entre estos organismos y el pH del agua ($p < 0,05$; $r = -0,10$); esto pudiera estar relacionado con el hecho de que no se registraron variaciones marcadas en el pH del agua (Tabla 2).

Se aislaron un total de 75 cepas a partir de la carne de *Tivela mactroides* (Tabla 3). La enterobacteria aislada en mayor proporción fue *Proteus sp.* (17,3%), seguida de *Enterobacter sp.* (12%), *Citrobacter sp.* y *Escherichia coli* (9,3%), *Hafnia sp.* (4%) *Salmonella sp.* y *Edwardsiella sp.* (1,3%).

Escherichia coli y *Salmonella sp.*, han sido asociadas a enfermedades gastrointestinales transmitidas por el consumo de moluscos bivalvos, ya que estos en su mayoría son consumidos crudos. Aun cuando en este trabajo se detectaron valores inferiores a la dosis infecciosa mínima propuesta (10-15 células) (5,12), se recomienda una vigilancia continua del producto.

De la Familia Vibrionaceae (Tabla 3) se obtuvo un 25,3% del género *Vibrio*, 10,6% *Aeromonas sp* y 9,3% *Pleisomonas shigelloides*. *Vibrio* es parte de la flora natural de los estuarios, por lo que puede ser acumulado por los moluscos durante la filtración, a excepción de *V. cholerae* que no forma parte de la flora de estos ambientes acuáticos; sin embargo, recientemente han sido reportadas en aguas costeras, por lo que su presencia no necesariamente indica contaminación fecal (5).

Conclusiones

La almeja *T. mactroides*, procedente de la playa Caño Sagua, presenta una calidad microbiológica adecuada, según la normativa internacional.

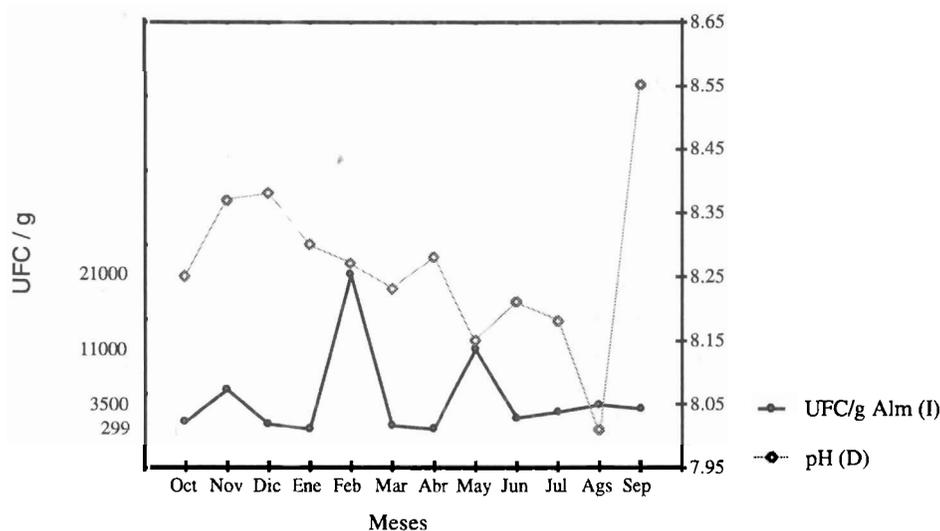


Figura 2. Representación gráfica de los valores de UFC g^{-1} de guacuco vs los parámetros fisicoquímicos de las agua donde se desarrolla. SF: Estreptococos fecales; Alm: Almejas; Temp Ag: Temperatura del agua; (I): Izquierdo; (D) Derecho.

Tabla 3

Bacterias aisladas e identificadas en muestras de guacuco (*Tivela mactroides*) capturadas en la playa Caño Sagua

Cepas aisladas	N° de cepas aisladas	%
Enterobacteriaceae		
<i>Proteus</i>	13	17,3
<i>Enterobacter</i>	9	12
<i>Citrobacter</i>	7	9,3
<i>Escherichia coli</i>	7	9,3
<i>Hafnia</i>	3	4
<i>Salmonella</i>	1	1,3
<i>Edwardsiella</i>	1	1,3
Vibrionaceae		
<i>Vibrio sp.</i>	19	25,3
<i>Aeromonas sp.</i>	8	10,6
<i>Pleisomonas shigelloides</i>	7	9,3
Total	75	100

Se encontraron significativamente más estreptococos fecales y enterococos en comparación con coliformes fecales. Esta diferencia puede atribuirse a la ventaja que encuentran los estreptococos fecales y enterococos en ambientes marinos ya que éstos tienen una mayor resistencia que los coliformes fecales en aguas salobres.

Los estreptococos fecales y enterococos encontrados demuestran la necesidad de evaluar la normativa venezolana acerca de la calidad de los ambientes marinos, ya que estos grupos han sido propuestos como mejores indicadores de contaminación fecal en aguas marinas.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a los Laboratorios de Cultivo y Sistemática de Invertebrados Acuáticos por la ayuda prestada para la realización de este trabajo. Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) a través del programa *Tivela* por el financiamiento parcial del trabajo.

Bibliografía

1. CHAI T., HANT R. COCKEY R. *J Food Prot* 57: 229-234, 1994.
2. JONES D., ROBERT L., BEJ A. *Food Sci* 58: 6, 1993.
3. PLUSQUELLEC A., BEUCHER M., PRIERUR D., GAL L. *Shellfish Res* 9: 95-101, 1990.
4. WOOD P. *Manual de higiene de los mariscos*, Acribia. Zaragoza (España), pp. 23-29, 1979.
5. DONN R., CAMERON R. *Microbiology of marine food products*, Van Nostrand Reinhold, New York (USA), pp. 19-34, 1992.
6. ARAYA V., GARCÍA C. *Rev Lat-Amer Microbiol* 30: 235-238, 1988.
7. BERTULLO V. *Tecnología de productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos*, Hemisferio Sur, pp. 123-131, 1975.
8. BUCHANAN R., DEROEVER C. *J Food Prot* 56: 725-729, 1993.
9. CHICHESTER C., GRAHAM H. *Microbial safety of fishery*, Academic Press Inc., New York (USA), pp. 53-57, 1973.
10. CURTIS J., SLOAN E., LANCETTE A., PELLER J., SOFOS J. *J Food Prot* 57: 403-409, 1994.
11. GROUBERT T., OLIVER J. *J Food Prot* 57: 224-228, 1994.
12. JAWETZ E., MELNICK J., ADELBERG E. *Microbiología Médica*, El Manual Moderno, S.A. de C. V., México (D. F), pp. 225-236, 243-250, 1992.
13. LARKIN P., HUNT D. *Bioscience* 32: 193-197, 1982.
14. MORFORT P., LE GAL D., LE SAUX J., PICLET G., RAGUENES P., BOULBEN S., PLUSQUELLEC M. *Microb Meth* 19: 67-79, 1994.
15. THE NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS. *J Food Prot* 55: 463-480, 1992.
16. TORRES M., FERNANDEZ E. *Rev Lat.-Amer Microbiol* 35: 267-272, 1993.
17. LODEIROS S., CESAR J. *Acta Cient Venez* 39: 249-256, 1988.
18. WEST P., COLEMAN M. *Appl Bacteriol* 61: 505, 1986.
19. APHA. American Public Health Association, *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, pp. 371-421, 897-917, 1992.
20. MARTINEZ R. *Natura* 79: 41-42, 1984.
21. ETCHEVERS S. *Bol Inst Oceanogr Univ Oriente* 15(1): 57-64, 1976.
22. **GACETA OFICIAL DE LA REPUBLICA DE VENEZUELA**. No. 5021 Extraordinario. Año CXXIII - Mes III. Caracas (Venezuela), 1995.
23. ALKAN U., ELLIOTT D., EVISON L. *Wat Res* 29(9): 2071-2081, 1995.