

ÍNDICES DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA EN LA OSTRA *Crassostrea cf. corteziensis* PROCEDENTE DE PORTOVELO, ESTUARIO RÍO CHONE, MANABÍ, ECUADOR

Bacterial contamination indices in the oyster *Crassostrea cf. corteziensis* from Portovelo, Río Chone estuary, Manabí, Ecuador

Alexandra Elizabeth BERMÚDEZ-MEDRANDA^{1,2*}, Rodolfo Patricio PANTA-VÉLEZ³,
Lenin CÁCERES-FARÍAS^{1,4} y César LODEIROS¹

¹ Grupo de Investigación en Biología y Cultivo de Moluscos, Departamento de Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez, Manabí 131101, Ecuador.

² Grupo de Investigación en Sanidad Acuícola, Inocuidad y Salud Ambiental, Departamento de Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez, Manabí 131101, Ecuador.

³ Grupo de Investigación en Biodiversidad y Ecología de Sistemas Acuáticos, Departamento de Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Bahía de Caráquez, Manabí 131101, Ecuador. Red Interinstitucional para el estudio de Ecosistemas Acuáticos del Ecuador RIEAE.

⁴ AquaCEAL Corporation, Urb. Las Palmeras, Av. Capitán Byron Palacios y General Quisquis 8, EC23010, Santo Domingo de los Colorados, Ecuador.

*Autora para correspondencia: alexandra.bermudez@utm.edu.ec

(Recibido: enero de 2021; aceptado: noviembre de 2021)

Palabras clave: bioindicadores, bivalvos, salud pública.

RESUMEN

La ostra de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) del estuario del río Chone, provincia de Manabí, Ecuador, supone un rubro de explotación artesanal y venta comercial para el consumo (particularmente cruda) sin conocerse su carga microbiana. Durante un año se evaluó mensualmente la calidad microbiológica (mesofilicos aerobios, coliformes totales, *Vibrio* spp., *Escherichia coli* y *Salmonella*) del bivalvo, así como los parámetros ambientales (temperatura, salinidad, sólidos disueltos y pH) en las aguas del banco. Los promedios anuales obtenidos en la carne de la ostra para los aerobios mesófilos fueron de 4.76×10^5 UFC/g, coliformes totales de 1.15×10^3 UFC/g y vibrios de 0.61×10^4 UFC/g. Aparte de ello existió presencia de *Escherichia coli* en los primeros meses del 2019 con valores hasta 7.70×10^2 UFC/g, y la presencia de *Salmonella* en el 25 % de las muestras los meses de marzo, abril y junio del 2019. Muchos de los valores sobrepasan las normativas internacionales y reflejan un alto riesgo para la salud pública al consumir este molusco sin haber sido previamente sometido a una depuración o procesado que disminuya la carga bacteriana. Los resultados muestran una alta variabilidad de valores durante el año, la cual produce diferencias significativas entre meses. Los mesofilicos aerobios y *Vibrio* spp. muestran la existencia de una fuerte asociación positiva con la temperatura, en tanto que los coliformes (incluyendo *Escherichia coli*) exhiben asociación negativa con la salinidad y los sólidos disueltos, lo cual sugiere una relación con el periodo de lluvias, con mayor descarga y arrastre de contaminantes.

Key words: bioindicators, bivalves, public health.

ABSTRACT

The Portovelo oyster (*Crassostrea cf. corteziensis*) from the Chone River estuary, Manabí province, Ecuador, is an item of artisanal exploitation and commercial sale for consumption (particularly raw), without knowing its microbial load. During one year, the microbiological quality (aerobic mesophilic, total coliforms, *Vibrio* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella*) of the bivalve was evaluated monthly, as well as the environmental parameters (temperature, salinity, dissolved solids and pH) in the waters of the bank. The annual averages obtained in oyster meat for mesophilic aerobes were 4.76×10^5 CFU/g, total coliforms 1.15×10^3 CFU/g, and vibrios 0.61×10^4 CFU/g. Apart from this, there was the presence of *Escherichia coli* in the first months of 2019 with values up to 7.70×10^2 CFU/g, and the presence of *Salmonella* in 25% of the samples in the months of March, April and June 2019. Many of the values exceed international regulations and reflect a high risk to public health when consuming this mollusk without having previously undergone a purification or process that reduces the bacterial load. The results show a high variability of values during the year, which produces significant differences between months. Aerobic mesophiles and *Vibrio* spp. show the existence of a strong positive association with temperature, while coliforms (including *Escherichia coli*) exhibit a negative association with salinity and dissolved solids, which suggests a relationship with the rainy season, with greater discharge and dragging of pollutants.

INTRODUCCIÓN

El consumo de organismos acuáticos contaminados puede conducir a enfermedades importantes en salud pública, dada la ingesta de bacterias, virus o toxinas acumuladas en los mismos, particularmente en moluscos bivalvos filtradores (Lee y Silk 2013, Gallicet et al. 2020), cuyo consumo crudo o sin suficiente cocimiento ha aumentado en las últimas décadas, generando brotes de enfermedades asociadas (Vieira 2011).

Históricamente, las bacterias entéricas (coliformes totales y fecales) se han empleado como microorganismos indicadores para evaluar la inocuidad de moluscos y, por consiguiente, para predecir el riesgo de exposición a patógenos entéricos (Lee et al. 2010). Los coliformes, junto con las bacterias mésofilas, se consideran indicadores de higiene, en tanto que la presencia de *Escherichia coli* (ya sea en el agua o en la carne de los organismos) indica contaminación directa o cruzada asociada con brotes de gastroenteritis. Esta bacteria causa enfermedades que pueden variar desde colonizaciones simples en membranas mucosas y meningitis hasta infecciones gastrointestinales intensas cuando se tipifica su patotipo (Santos et al. 2015).

Las bacterias del género *Salmonella* han sido consideradas como microorganismos patógenos

(causantes de enterocolitis) contenidos en los alimentos marinos. Esto, junto con su capacidad para sobrevivir a condiciones de estrés (incluyendo las condiciones del mar) conduce a alertar sobre el riesgo de su transmisión a través de los productos pesqueros, especialmente los moluscos de consumo directo (González et al. 2009).

Las bacterias del género *Vibrio* también se han utilizado como indicadores de contaminación, aunque se encuentran naturalmente en ambientes marinos y estuarinos, y pueden ser de vida libre o ligada a sedimentos. Algunas especies tienen la capacidad de crecer en medios con altas concentraciones de sal (Tall et al. 2013), pudiéndose concentrar en moluscos bivalvos y provocar gastroenteritis aguda y otras enfermedades (FAO/OMS 2020).

Por lo general, la extracción artesanal y comercialización de moluscos bivalvos en países en desarrollo se realiza de manera informal, ofreciéndose en diversas formas, frecuentemente en fresco o vivos, probablemente con una alta carga bacteriana. Esto se debe a que no pasan por un proceso previo de depuración, ya que no existe un control sanitario que garanticen la inocuidad del producto (Gil y Moreno 2007, Uriarte et al. 2008, Lee et al. 2010). Ecuador no es la excepción a esta mala práctica, acompañada de la inexistencia de un control sanitario permanente

por parte de las autoridades de salud pública que garantice la inocuidad del producto para disminuir riesgos sanitarios, particularmente enfermedades gastrointestinales.

En el ecosistema de manglar de la reserva ecológica de Isla Corazón, en el estuario del río Chone, Manabí, Ecuador, hay un banco de ostras (*Crassostrea cf. corteziensis*) que es explotado de forma artesanal por los habitantes del sector Portovelo para fines de consumo y comerciales (Panta-Vélez et al. 2020). Sin embargo, en el sistema acuático de dicho estuario existen vertidos de aguas domésticas y urbanas (Palacios 2013).

Dado que las aguas circundantes del banco de ostras de Portovelo pueden contener agentes contaminantes, entre ellos bacterias patógenas indeseables, y la importancia que tiene la caracterización de las ostras para la salud pública, el presente trabajo evalúa índices de contaminación bacteriana con frecuencia mensual durante un año en la ostra *Crassostrea cf. corteziensis* y su asociación con factores ambientales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La especie del molusco en el banco de Portovelo ubicado en Cantón San Vicente, en el estuario del río Chone, Manabí, Ecuador (0° 38' 31.90" S y 80° 21' 32.10" O), no posee una identificación científica aceptada, incluso después de realizarle análisis genéticos (Lodeiros et al. 2020), por lo que su identificación taxonómica permanece incierta. No obstante, dado que presenta similitudes con *Crassostrea corteziensis*, se le ha considerado como *Crassostrea cf. corteziensis* (Panta-Vélez et al. 2020), identificación que mantenemos en el presente trabajo.

Durante un año (septiembre de 2018 a septiembre de 2019) y con frecuencia mensual, se recolectaron en la zona intermareal 45-50 ejemplares adultos (50 a 100 mm de longitud umbo-extremo de la concha y 26 a 154 g de peso total) provenientes de tres sitios diferentes del banco (tres réplicas de 15 ostras) y se transportaron en un contenedor isotérmico a temperatura de 10 °C al Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Acuicultura y Pesquería de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Técnica de Manabí (~20 min). Las ostras se cepillaron y lavaron externamente con agua de mar esterilizada (autoclave a 121 °C, durante 15 min a 15 lb de presión), así como desbulladas en condiciones de asepsia, siguiendo las recomendaciones de Miescier et al. (1992). De cada réplica, 25 g de carne de las ostras se diluyeron en 225 mL de agua de peptonada al 0.1 % esterilizada y se homogenizaron

durante 2 min obteniéndose una dilución 10^{-1} y en secuencia a través de diluciones sucesivas hasta llegar a 10^{-6} . Para el análisis de *Salmonella* spp., la muestra se diluyó en caldo de lactosa estéril.

La calidad microbiológica se evaluó mediante el método rápido de recuento de placas Petrifilm. Para la cuantificación de aerobios mesófilos totales se utilizó el método 3M-AOAC 990.12 (AOAC 2000), para coliformes totales el método AOAC 998.08 y para determinar *Escherichia coli* el método AOAC 991.14. Para la cuantificación de vibrios y la detección del género *Salmonella* se utilizaron los protocolos del Manual de análisis bacteriológico de la Administración de Drogas y Alimentos de EUA (Kaysner et al. 2004, Andrews et al. 2011).

Mensualmente, en el lugar del banco de ostras se registraron la temperatura (± 0.5 °C), pH (± 0.01), salinidad en unidades prácticas de salinidad (± 1 UPS) y sólidos disueltos totales en partes por mil (± 0.01 ppt) con una sonda multiparamétrica (Apera Instruments PC60).

Todos los datos se contrastaron con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks modificada y la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas. Al no cumplirse los supuestos de normalidad, las diferencias en los niveles mensuales de los diferentes índices bacteriológicos se evaluaron con la prueba no paramétrica de rangos de Kruskal-Wallis y la comparación múltiple post hoc de Tukey para determinar la existencia de diferencias significativas. Para determinar las asociaciones entre los parámetros físicos y químicos y los recuentos bacterianos se establecieron posibles relaciones utilizando un análisis de componentes principales (ACP) y gráficos "biplot" (Johnson y Wichern 1992). Para todas las pruebas estadísticas se estableció una probabilidad de $p = 0.05$.

Para realizar las pruebas estadísticas se usó el programa SPSS v. 25.

RESULTADOS

Índices bacterianos

Los niveles de los índices bacterianos estudiados presentaron diferencias significativas en el tiempo, con un promedio anual de unidades formadoras de colonias (UFC) de 4.76×10^5 , 0.61×10^4 y 1.15×10^3 UFC/g para aerobios mesófilos, vibrios y coliformes totales, respectivamente (todos los valores medios expresados con índice de dispersión de intervalo del 95 % de confianza).

Para los aerobios mesófilos, los valores más bajos fueron de 0.09×10^5 UFC/g en septiembre de 2018

(valores similares de noviembre de 2018 a enero de 2019 y abril a junio de 2019) y el valor más alto fue de 44.67×10^5 UFC/g en marzo de 2019. En el resto de los meses las concentraciones de mesófilos conforman un grupo con valores de 0.24 - 5.33×10^5 UFC/g (Fig. 1).

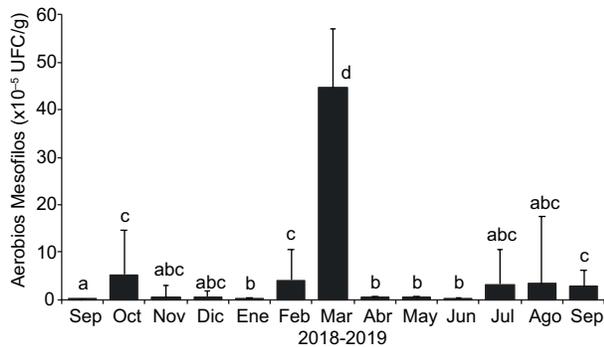


Fig. 1. Promedio mensual de aerobios mesófilos (en UFC/g) en la ostra de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) durante el periodo septiembre de 2018 a septiembre de 2019. Letras iguales y diferentes significan valores medios significativamente iguales o diferentes. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95 %.

En el caso de coliformes totales, durante todo el periodo de muestreo se presentaron valores con variaciones en las medias mensuales, las cuales mostraron diferencias significativas. Los niveles más bajos ($< 0.04 \times 10^3$ UFC/g) se presentaron en septiembre, octubre y noviembre de 2018 y en julio-agosto de 2019, y los más altos en febrero y marzo de 2019 (7.44×10^3 y 5.00×10^3 UFC/g, respectivamente) (Fig. 2).

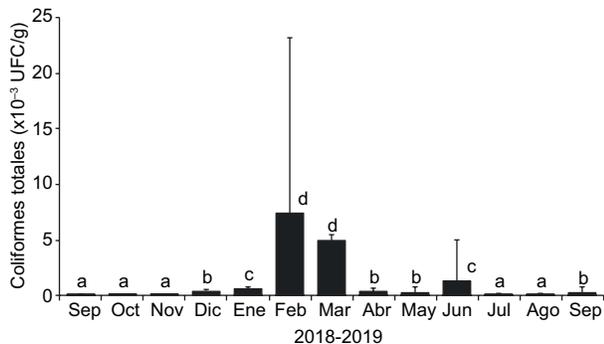


Fig. 2. Promedio mensual de coliformes totales (en UFC/g) en la ostra de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) durante el periodo septiembre de 2018 a septiembre de 2019. Letras iguales y diferentes significan valores medios significativamente iguales o diferentes. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95 %.

Los vibrios estuvieron presentes en las ostras durante casi todo el año, excepto en mayo, julio y agosto de 2019 (Fig. 3). El nivel más alto (con elevada variabilidad) ocurrió en marzo de 2019 (5.67×10^4 UFC/g). Octubre y diciembre de 2018 y febrero y septiembre de 2019 presentaron valores intermedios (0.3 - 1×10^4 UFC/g), y el resto de los meses valores mínimos ($< 0.10 \times 10^4$ UFC/g).

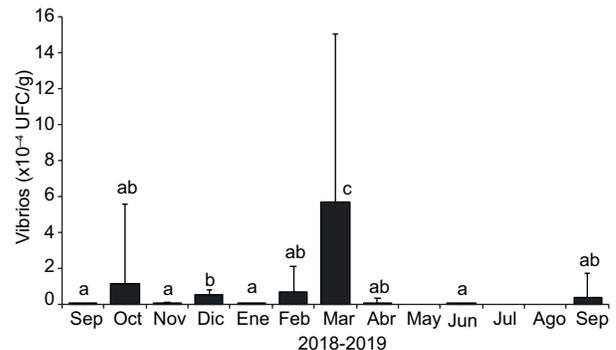


Fig. 3. Promedio mensual de *Vibrios* spp. (en UFC/g) en la ostra de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) durante el periodo septiembre de 2018 a septiembre de 2019. Letras iguales y diferentes significan valores medios significativamente iguales o diferentes. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95 %.

Escherichia coli estuvo presente sólo durante los meses de enero (0.03×10^2 UFC/g) y febrero (7.70×10^2 UFC/g) de 2019. Adicionalmente, se detectó la presencia de *Salmonella* durante los meses de marzo, abril y junio de 2019, representando el 25 % de muestras contaminadas durante el periodo de estudio.

Factores ambientales

La temperatura del agua mostró valores de 25.4 a 29.2 °C durante el periodo de estudio. Los máximos se registraron en noviembre de 2018 y marzo y abril de 2019, y los mínimos en septiembre de 2018 y julio y septiembre de 2019 (Fig. 4a). La mayor diferencia de temperatura respecto al mes anterior ocurrió en agosto y septiembre de 2019.

La salinidad mantuvo valores variables entre 1.65 y 24.0 UPS. El valor máximo se registró en octubre de 2018; posteriormente disminuyó con poca variabilidad entre noviembre y diciembre 2018, en el rango de 7 a 9 UPS (Fig. 4b). Después se observó una disminución de la salinidad debida a la temporada de lluvias entre enero y mayo de 2019, manteniéndose

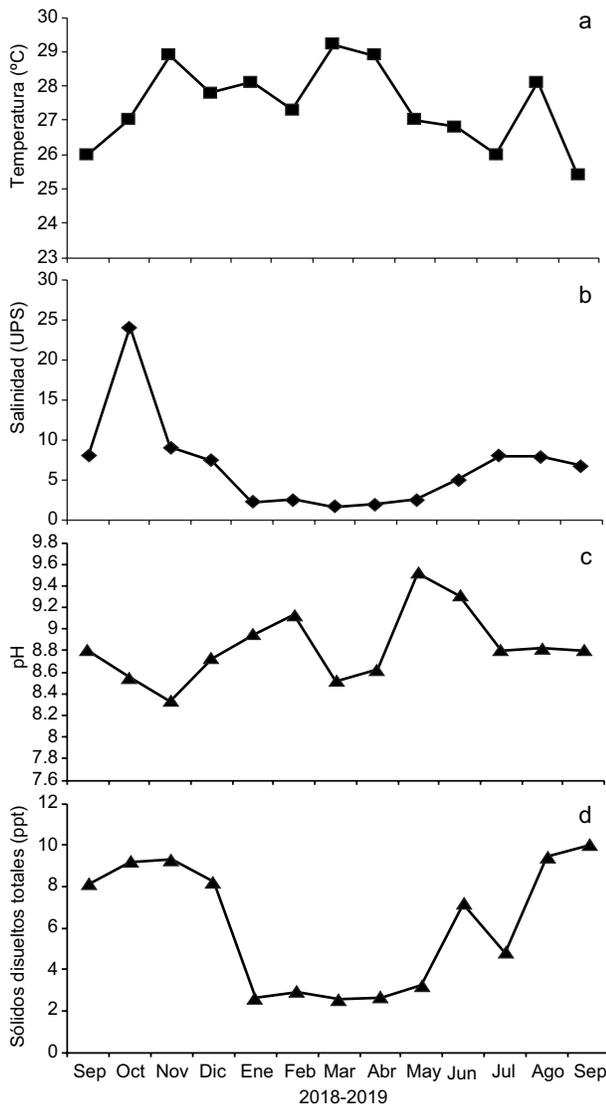


Fig. 4. Variación de (a) temperatura (°C), (b) salinidad, (c) pH y (d) sólidos disueltos totales en el agua del banco de ostras de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) durante el periodo septiembre de 2018 a septiembre de 2019.

en un intervalo de 1.6 a 2.5 UPS, para aumentar progresivamente hasta julio de 2019 y mantenerse en valores de 6 a 7 UPS.

El pH del agua fluctuó entre 8.3 y 9.5. Los valores mínimos (< 8.5) se registraron en noviembre de 2018 y marzo-abril de 2019, para mantenerse después por arriba de 8.5 (Fig. 4c).

La concentración de sólidos disueltos totales se registró en un intervalo de 2 a 10 ppt. De enero a mayo 2019 los valores fueron de 2.56 y 3.22 ppt, y durante el resto del periodo estuvieron por arriba de 4 ppt (Fig. 4d).

Relación entre índices bacteriológicos de contaminación y factores ambientales

Al asociar los factores ambientales y los índices bacteriológicos, las proyecciones ortogonales del análisis de componentes principales muestran la existencia de una fuerte asociación positiva de la temperatura con los recuentos de aerobios mesófilos y vibrios (Fig. 5). La salinidad y los sólidos disueltos totales están asociados negativamente con coliformes, incluyendo *Echericha coli*.

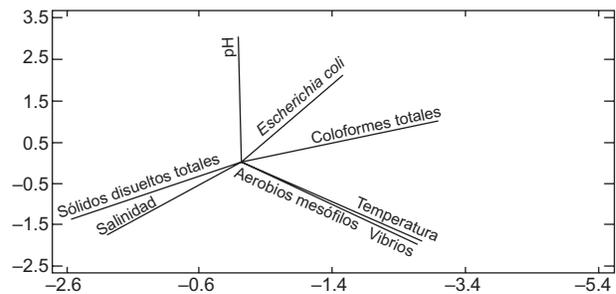


Fig. 5. Análisis de componentes principales de los índices de contaminación bacteriana de la ostra de Portovelo (*Crassostrea cf. corteziensis*) y los factores ambientales determinados en el banco de ostras durante el periodo octubre de 2018 a octubre de 2019.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran una variabilidad elevada de los índices bacteriológicos de contaminación en la carne de la ostra *Crassostrea cf. corteziensis* recolectada en Portovelo, si bien los valores presentados en este estudio estuvieron, en general, por debajo de los límites máximos permitidos por el Programa Nacional de Saneamiento de Mariscos (NSSP 2017) (5.0×10^5 UFC/g) y los permitidos por la Comisión Internacional en Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (10^6 UFC/g; ICMSF 1998) para el caso de las bacterias aerobias mesófilas totales. Una excepción se presentó en marzo de 2019 cuando se alcanzaron 44.67×10^5 UFC/g.

Se han reportado aerobios mesófilos en distintas zonas, climas, aguas y mariscos de todo el mundo (WHO 2011). Por ejemplo, en la Laguna Grande del Obispo, Venezuela (una zona tropical), se detectaron valores de hasta 4.7×10^6 UFC/g en la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (González et al. 2011), similares a los encontrados en las ostras del estuario del río Chone; en contraparte, estos valores fueron muy superiores a los encontrados por Buitrago et al. (2002) en *Crassostrea rhizophorae* cultivada en la

Laguna La Restinga, Isla de Margarita, también en el nororiente de Venezuela (9.4×10^2 UFC/g).

La distribución de bacterias coliformes totales en la carne de la ostra analizada fueron cuantificadas durante todo el periodo de estudio, con valores de $5-7 \times 10^3$ UFC/g. Esto pone de manifiesto que las ostras de Portovelo viven en un ambiente donde existe riesgo de contaminación fecal. Se confirmó la concentración alta de estos microorganismos en el agua del ecosistema de manglar (Barahona y Tapia 2010, Palacios 2013), atribuida al aporte de bacterias, la cantidad y calidad de los residuos domésticos, y las aguas industriales no tratadas procedentes de las poblaciones aledañas, que por efecto del periodo de lluvias suponen el arrastre de bacterias y material orgánico en el estuario del río Chone (Arriaga et al. 1999), lo cual favorece la supervivencia de los microorganismos (Sande et al. 2010, Ballesteros et al. 2018).

Otro agente bacteriano registrado en esta investigación fue *Escherichia coli*, cuyo valor registrado de 7.70×10^2 UFC/g difiere del reportado por Sarcos y Botero (2005) en almeja *Polymesoda solida* (1.9×10^3 UFC/g), y es superior a los 4 log UFC/g encontrados por Neta et al. (2015) en bancos naturales de *Crassostrea rhizophorae* recolectadas en el estuario del río Cachoeira, Brasil. Tomando en consideración el límite permisible de 700 *Escherichia coli* indicado en el CODEX STAN 292-2008 (FAO/OMS 2015) y la Norma Técnica ecuatoriana para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos (INEN 2013), las ostras de Portovelo no tendrían la calidad necesaria para consumo humano durante los primeros meses del año, cuando se detectó la presencia de *Escherichia coli*, microorganismo categorizado como indicador de contaminación fecal de dichos bivalvos.

La presencia de la bacteria del género *Salmonella* se detectó en las muestras de ostras independientemente de la temporada climática, de manera similar a lo reportado por González et al. (2009), quienes detectaron la presencia de *Salmonella* durante las temporadas seca y lluviosa en un depósito pesquero de la ostra *Crassostrea rhizophorae* en Venezuela. Las especies del género *Salmonella* son microorganismos patógenos entéricos importantes del agua contaminada con residuos humanos y/o animales, que se encuentran distribuidos en zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo. Esto ha permitido aislarlos no sólo del medio acuático, sino a partir de una gran variedad de peces, crustáceos y moluscos bivalvos (Kfir et al. 1993, Estrella-Gómez et al. 2016). Los estándares internacionales determinan que

este agente bacteriano debe estar ausente en muestras de 25 g (INEN 2013, Sorio y Peralta 2018). Su presencia durante marzo, abril y junio de 2019, cuando representó el 25 % de las muestras contaminadas, muestra la alta peligrosidad del consumo de ostras de Portovelo, particularmente en dicho periodo.

Luis-Villaseñor et al. (2018) manifestaron que los vibrios son las bacterias dominantes en ecosistemas acuáticos durante el periodo lluvioso, especialmente en países tropicales. Dicha proliferación se ha observado en ostras *Crassostrea madrasensis* recolectadas en estuarios del sur de la India con una concentración de 5.4×10^3 UFC/g (Deepanjali et al. 2005), carga inferior a los 6.1×10^3 UFC/g encontrados en las ostras de Portovelo, cuya concentración superó el límite establecido por la norma brasileña de calidad microbiológica para el consumo de moluscos bivalvos (1×10^2 UFC/g) (MS 1997). Estos microorganismos constituyen un riesgo sanitario eminente cuando están presentes en alimentos, especialmente los pertenecientes a especies como *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae*, ya que al ser consumidos en productos marinos crudos o con un mínimo de cocción pueden producir enfermedades graves en el hombre (Pérez et al. 1987, McLaughlin et al. 2005, Pérez-Ayala et al. 2012).

Nuestros resultados muestran que la concentración de bacterias vibrios y aerobios mesófilos se encuentra positivamente asociada a la temperatura, factor que influye en la abundancia y ecología de bacterias, sobre todo a pH elevados (Harvell et al. 2002, Lipp et al. 2002, Parveen et al. 2008); además, se observó que las concentraciones menores de sólidos suspendidos y las menores salinidades están asociadas a una mayor contaminación por coliformes (LeChevallie 2003, Jonge et al. 2004). Dichas concentraciones pueden estar relacionadas con la temporada de lluvia, debido a descargas, lavado de terreno y arrastre de contaminación antrópica, así como a presencia de animales en los alrededores y aguas arriba (An et al. 2002, George et al. 2004, Liang et al. 2008, Florini et al. 2020). Arriaga et al. (1998), Barahona y Tapia (2010) y Palacios (2013) reportaron previamente esta asociación de contaminación antrópica con periodos de lluvia en la zona, lo cual se confirmó en este trabajo.

Nuestros resultados muestran riesgos en el consumo de ostras de bancos naturales del río Chone. Aunque Ecuador cuenta con un criterio de calidad para aguas de mar y estuarinas incluido en el libro VI, anexo 1, tabla 3 del Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente y Agua (TULSMA 2003), así como una reglamentación

oficial sobre los índices de calidad microbiológicas de productos bivalvos provenientes de medios acuáticos (INEN 2013), estas normas son parciales y se enfocan a un pequeño grupo de agentes bacterianos, por lo que se sugiere realizar un ampliación que permitiría una mejor gobernanza y la seguridad alimentaria de la población.

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio muestra contaminación temporal de las ostras del banco de Portovelo, estuario del río Chone, Manabí, Ecuador, con bacterias potencialmente patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., particularmente en el periodo febrero-marzo asociado a la temporada de lluvias. El consumo de ostras constituye un riesgo potencial para la incidencia de enfermedades bacterianas.

Si las ostras extraídas no son sometidas a un preprocesamiento que elimine o disminuya la carga bacteriana, esta puede incluso aumentar y elevar más el riesgo de consumo tras el almacenamiento y transporte. Por ello se sugiere que la venta de ostras pueda realizarse de forma pretratada, si bien con procesos de depuración o de cocción, ya sea por calor o por la acción de ácidos (avinagrados).

REFERENCIAS

- An Y.J., Kampbell D.H. y Breidenbach GP. (2002). *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at lake marinas. *Environmental Pollution* 120 (3), 771-778. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00173-2)
- Andrews W.H., Jacobson A. y Hammack T (2011). *Salmonella*. En: *Bacteriological analytical manual*. U.S. Food and Drug Administration [en línea]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella> 06/02/2020
- AOAC (2000). *Official methods of analysis*. Generic *E. coli* petrifilm. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md, Washington, USA, 2200 pp.
- Arriaga L., Montaña M. y Vásconez J. (1999). Integrated management perspectives of the Bahía de Caráquez zone and Chone River estuary, Ecuador. *Ocean and Coastal Management* 42 (2-4), 229-241. [https://doi.org/10.1016/S0964-5691\(98\)00055-6](https://doi.org/10.1016/S0964-5691(98)00055-6)
- Ballesteros E.R., da Costa Andrade V., Barbieri E., Pinto A.B., de Oliveira R.S. y de Oliveira A.J.F.C. (2018). Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.) e de águas coletadas em cultivos em bancos naturais de Cananéia (SP). *Boletim do Instituto de Pesca* 42 (1), 134-144. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n1p134>
- Barahona M. y Tapia R. (2010). Calidad y tratabilidad de aguas provenientes de ríos de llanura y embalses eutrofizados, caso de estudio: Carrizal - Chone La Esperanza. Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador, 211 pp.
- Buitrago E., Lunar K. y Moren P. (2002). Cultivo piloto de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en la Laguna de La Restinga, Isla de Margarita. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales* 60 (154), 25-38.
- MS (1997). Regulamento técnico. Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Ministério da Saúde do Brasil. Portaria No. 451. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 22 de septiembre.
- Deepanjali A., Kumar H.S., Karunasagar I. y Karunasagar I. (2005). Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (7), 3575-3580. <https://doi.org/10.1128/aem.71.7.3575-3580.2005>
- Estrella-Gómez N., Escalante-Réndiz D., González-Burgos A., Sosa-Cordero D. y Rojas-Herrera R. (2016). Análisis microbiológico del pulpo rojo en puertos pesqueros de Campeche, México. *Salud Pública de México* 58 (4), 453-460. <https://doi.org/10.21149/spm.v58i4.8026>
- FAO/OMS (2015). CODEX STAN 292-2008. Norma para los moluscos bivalvos y los moluscos bivalvos crudos. Comisión del Codex Alimentarius, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud, Roma, Italia.
- FAO/OMS (2020). Risk assessment tools for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* associated with seafood. *Microbiological Risk Assessment Series* No. 20. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud, Roma, Italia, 71 pp.
- Florini S., Shahsavari E., Ngo T., Aburto-Medina A., Smith D. y Ball A.S. (2020). Factors influencing the concentration of fecal coliforms in oysters in the River Blackwater estuary, UK. *Water* 12 (4), 1086. <https://doi.org/10.3390/w12041086>
- Gallicet M.A., Streitenberger M.E. y Baldini M.D. (2020). Evaluación de la calidad bacteriológica de *Crassostrea gigas* implantadas en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 36 (1), 63-72. <https://doi.org/10.20937/RICA.2020.36.53427>
- George I., Anzil A. y Servais P. (2004). Quantification of fecal coliform inputs to aquatic systems through soil

- leaching. *Water Research* 38 (3), 611-618. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.022>
- Gil H.A. y Moreno M.A. (2007). Explotación y comercialización de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae*, en algunas playas turísticas del Estado Sucre, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 25 (3), 215-219.
- González M., Graü C., Villalobos L., Gil H. y Vásquez-Suárez A. (2009). Calidad microbiológica de la Ostra *Crassostrea rhizophorae* y aguas de extracción, Estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica* 19 (6), 659-666.
- González M., Villalobos L.B., Vásquez-Suárez A., Graü C. y Gil H. (2011). Enumeración de aerobios mesófilos, coliformes fecales y *Clostridium perfringens* en la ostra *Crassostrea rhizophorae* procedente de laguna grande del obispo, Estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica* 21 (1), 80-87.
- Harvell C.D., Mitchell C.E., Ward J.R., Altizer S., Dobson A.P., Ostfeld R.S. y Samuel M.D. (2002). Climate warming and disease risk for terrestrial and marine biota. *Science* 296 (5576), 2158-2162. <https://doi.org/10.1126/science.1063699>
- ICMSF (1998). Microorganismos en los alimentos 5: características de los patógenos microbianos. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos. Acribia, Zaragoza, España, 514 pp.
- INEN (2013). NTE INEN 2729: Norma para los moluscos vivos y los moluscos bivalvos crudos (CODEX STAN 292-2008, MOD). Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito, Ecuador.
- Johnson R.A. y Wichern D.W. (1992). *Applied multivariate statistical analysis* Prentice Hall, Nueva York, EUA, 393 pp.
- Jonge L.W., Moldrup P., Rubæk G.H., Schelde K. y Djurhuus J. (2004). Particle leaching and particle-facilitated transport of phosphorus at field scale. *Vadose Zone Journal* 3 (2), 462-470. <https://doi.org/10.2136/vzj2004.0462>
- Kaysner C.A., DePaola A y Jones J. (2004). *Vibrio*. En: *Bacteriological analysis manual*. U.S. Food and Drug Administration [en línea]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio-06/02/2020>
- Kfir R., Burger J.S. y Idema G.K. (1993). Detection of *Salmonella* in shellfish grown in polluted sea water. *Water Science and Technology* 27 (3-4), 41-44. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0318>
- Lee R., Lovatelli A. y Ababouch L. (2010). *Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos*. Documento Técnico de Pesca 511. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia, 174 pp.
- Lee R.J. y Silk K.R. (2013). Sources of variation of *Escherichia coli* concentrations in bivalve molluscs. *Journal of Water and Health* 11 (1), 78-83. <https://doi.org/10.2166/wh.2012.114>
- LeChevallie M.W. (2003). Conditions favouring coliform and HPC bacterial growth in drinking. En: *Heterotrophic plate counts and drinking-water safety* (Bartram J., Cotruvo J., Exner M., Fricker C. y Glasmacher A., Eds.). Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza, 177-198.
- Liang Y., Hong H. C., Dong L.H., Lan C.Y, Han B.P. y Wong M.H. (2008). Sources and properties of natural organic matter (NOM) in water along the Dongjiang River (source of Hong Kong's drinking water) and toxicological assay of its chlorination by-products. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54 (4), 597-605. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9069-2>
- Lipp E.K., Huq A. y Colwell R.R. (2002) Effects of global climate on infectious disease: The cholera model. *Clinical Microbiology Reviews* 15 (4), 757-770. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.757-770.2002>
- Lodeiros C., Cáceres-Farías L., Hernández-Reyes, D., Cruz-Quintana Y., Rey-Méndez M. y González-Enríquez N. (2020). Identificación de la ostra de Portovelo, estuario del río Chone, provincia de Manabí, Ecuador. IX Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura, 387-393.
- Luis-Villaseñor I.E., Zamudio-Armenta O.O., Voltolina D., Rochin-Arenas J.A., Gómez-Gil B., Audelo-Naranjo J.M. y Flores-Higuera F.A. (2018). Bacterial communities of the oysters *Crassostrea corteziensis* and *C. sikamea* of Cospita Bay, Sinaloa, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 34 (2), 203-213. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.02>
- Mieser J.J., Hunt D.A., Redman J., Salingo A. y Lucas J.P. (1992). Molluscan shellfish, oyster, mussels and clams. En: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington, EUA, 897-918.
- McLaughlin J.B., DePaola A., Bopp C.A., Martinek K.A., Napolilli N.P., Allison C.G. y Middaugh J.P. (2005). Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaska oysters. *New England Journal of Medicine* 353 (14), 1463-1470. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa051594>
- NSSP (2017). *Guide for the control of molluscan shellfish*. 2017 revision. National Shellfish Sanitation Program, College Park, EUA [en línea]. <https://www.fda.gov/food/federalstate-food-programs/national-shellfish-sanitation-program-nssp-06/01/2020>
- Neta M.S., Maciel B.M., Lopes A.T.S., Marques E.L.S., Rezende R.P. y Boehs G. (2015). Microbiological quality and bacterial diversity of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in a monitored farming

- system and from natural stocks. *Genetics and Molecular Research* 14 (4), 15754-15768. <https://doi.org/10.4238/2015>
- Palacios C. (2013). Distribución de coliformes fecales en el área marina de la costa ecuatoriana en las provincias de Esmeraldas y Manabí, 2008-2013. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 18 (1), 59-64.
- Panta-Vélez R.P., Moncayo-Rodríguez M.L., García-Bermúdez A.E., Matos-Briones Z.G., Mogro-Loor L.J., Alvarado-Rizo R.C., Suarez Avilés Reyna, J.D., Torres-Farías P.A., Bedón-Zambrano C.E., Zambrano-Gómez V.H., Bernal-Zambrano J.J. y Retamales-González R.A. (2020). Dinámica poblacional del ostión *Crassostrea cf. Corteziensis* en el estuario del río Chone. IX Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura, 434-443.
- Parveen S., Hettiarachchi K.A., Bowers J.C., Jones J.L., Tamplin M.L., McKay R., Beatty W., Brohawn K., DaSilva, L.V. y DePaola A. (2008). Seasonal distribution of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay oysters and waters. *International Journal of Food Microbiology* 128 (2), 354-361. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.09.019>
- Pérez-Ayala A., Fernández S. y Alós J.I. (2012). Diarrea por *Vibrio cholerae* no O:1, un diagnóstico que tener en cuenta. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 30 (8), 507. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.04.004>
- Pérez J.L., Cabré M., Riera L., Priu R. y Berrocal C.I. (1987). Gastroenteritis por *Vibrio parahaemolyticus* asociada a consumo de ostras. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 5, 160-163.
- Sande D., Melo T.A., Oliveira G.S.A., Barreto L., Talbot T., Boehs G. y Andrioli J.L. (2010). Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 47 (3), 190-196. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2010.26854>
- Santos S.S., Barreto L.M., Silveira C.S., Reis N.A., Lima K.A., Souza J.S. y Evangelista-Barreto N.S. (2015). Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources* 3 (2), 49-60. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2015.3.2.49-60>
- Sarcos M. y Botero L. (2005). Calidad microbiológica de la almeja *Polymesoda solida* recolectada en playas del Municipio Miranda del estado Zulia. *Ciencia* 13 (1), 34-43.
- Sorio J.C. y Peralta J.P. (2018). Microbiological quality of oyster (*Crassostrea iredalei*) in selected production areas in Dumangas, Iloilo, Filipinas. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation* 11 (2), 319-326.
- Tall A., Hervio-Heath D., Teillon A., Boisset-Helbert C., Delesmont, R., Bodilis J. y Tournon-Bodili A. (2013). Diversity of *Vibrio* spp. isolated at ambient environmental temperature in the Eastern English Channel as determined by pyrH sequencing. *Journal of Applied Microbiology* 114 (6), 1713-1724. <https://doi.org/10.1111/jam.12181>
- TULSMA (2003). Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria, actualizado a diciembre 2008. Decreto Ejecutivo 3516, Corporación de Estudios y Publicaciones, Ministerio del Ambiente. Publicado en el Registro Oficial N° E 2, de 31 de marzo. Quito, Ecuador, 407 pp.
- Uriarte I., Lovatelli A., Farías A., Astorga M., Molinet C., Medina M., Avendaño M., Lodeiros C., Velasco L.A., Rupp G., Cáceres-Martínez J. y Mendo J. (2008). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO, 20-24 de agosto, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura 12, 377 pp.
- Vieira R.H.S.F. (2011). Microbiología do pescado. En: *Tecnología do pescado: Ciência, tecnologia, inovação e legislação* (Gonçalves A.A., Ed.). Atheneu, São Paulo, Brasil, 33-42.
- WHO (2011). *Guidelines for drinking-water Quality*. 4a ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza, 564 pp.