

Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica

II. Condición del molusco al momento de comerlo*

Bernal Fernández

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Kathleen A. Ryan

Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica. Dirección presente: Johns Hopkins University, Baltimore, Md., U.S.A.

(Recibido para su publicación el 26 de mayo de 1983)

Abstract: In a sanitary survey, nine taverns were chosen among those selling mollusk cocktails, eaten raw, in the city of San José so as to represent three socio-economic levels. Sixty-six samples of cocktails were examined for total and fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, and salmonellas. Only 7% of the samples proved to be within the accepted limits for human consumption. No correlation was found between sample origin and its bacteriologically determined quality.

Los bivalvos se alimentan filtrando el agua portadora de plancton y de otros microorganismos, incluyendo algunas veces bacterias y virus patógenos para el hombre

En Costa Rica, las pianguas (*Anadara tuberculosa*) son los moluscos de más consumo y se acostumbra servirlos a manera de "coctel de chuchecas". Este aperitivo consta de los jugos y carne crudos del bivalvo, desconchado pero con todas sus vísceras, entero o picado, condimentado con cebolla y culantro; el cliente puede adicionarle picante, limón y salsa de tomate.

En un trabajo anterior (Fernández y Bruner, 1977), analizamos la condición de las pianguas recién recolectadas y encontramos que los niveles de coliformes totales oscilaban entre 3.000 y 60 000 por 100 ml.

Estos bivalvos son trasladados en sacos a los suburbios de San José para ser sacados de la concha, operación que usualmente se lleva a cabo en patios de tierra bajo condiciones de absoluta carencia de higiene, y finalmente pasan a ser distribuidos a las tabernas en las que pueden

permanecer de unas horas a unos días antes de ser consumidos. Podemos anticipar que a partir del momento en que las pianguas son desconchadas, su flora microbiana se verá enriquecida por el aporte de los diferentes manipuladores y aumentada especialmente cuando no se las mantiene bajo condiciones óptimas de conservación (Brown y McMeekin, 1977).

Dado que los bivalvos juegan un papel importante como agentes transmisores de microorganismos responsables de enfermedad en el hombre, algunos con carácter epidémico, tales como la fiebre tifoidea (Ramsey *et al.*, 1928), la hepatitis A (Dienstag *et al.*, 1976; Smith *et al.*, 1979; Bostock *et al.*, 1979), el cólera (Lewis *et al.*, 1979; McIntyre *et al.*, 1979; Picardi *et al.*, 1980; Morris *et al.*, 1981), *Vibrio parahaemolyticus* (Barker, 1974; Baross y Liston, 1970), y el virus de Norwalk (Murphy *et al.*, 1979; Gunn *et al.*, 1982), consideramos de interés para nuestra salud pública conocer la calidad bacteriológica de estos moluscos al momento de comerlos. Con este fin utilizamos el nivel de coliformes fecales como criterio principal y, adicionalmente, el nivel de coliformes totales y la presencia de estafilococos coagulasa positivos y de salmonelas, con carácter accesorio.

* Este trabajo fue hecho en la Facultad de Microbiología, financiado en parte por la Vicerrectoría de Investigación (P 02-07-05-76) y por el Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento Médico de Louisiana State University (LSU-ICMRT); NIH Research Grant AI-12910).

MATERIAL Y METODOS

Sitios de muestreo: De una lista de 120 tabernas en la Ciudad de San José, suplida por el Ministerio de Salud, encontramos 12 sitios en los que regularmente se ofrecían en venta "cocteles de chuchecas" (pianguas, en realidad). Dentro de éstos escogimos 9 que fueran representativos de tres niveles socio-económico-sanitarios, según la clasificación que nos brindó el Ministerio y nuestro criterio.

Recolección de las muestras: A través de un período de unos tres meses se adquirieron de 7 a 8 muestras de pianguas en cada sitio, las que se transportaron al laboratorio en recipientes plásticos higienizados (lavados con detergente, hipoclorito y finalmente, agua destilada estéril). Usualmente, las muestras se trabajaron dentro de la hora siguiente a su recolección y, cuando ocasionalmente esto no fue posible, se las mantuvo a 4°C hasta que se utilizaran, lo cual no ocurrió más allá de 5 horas después de haber sido obtenidas.

Procesamiento de las muestras: De cada muestra se tomó nota en cuanto a su aspecto, grado de picado de la carne, pH, volumen y la cantidad relativa de carne con respecto a los jugos. A cada muestra de volumen ya conocido se adicionó una cantidad igual de agua peptonada al 0,5% estéril, antes de homogeneizarla y hacer las diluciones y siembras del caso, todo según lo indica la American Public Health Association (Neter, 1970). El tamaño de las muestras obtenidas osciló entre 110 y 300 g, con un promedio de 180 g.

Coliformes totales y fecales: Su determinación se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la American Public Health Association (Speck, 1976), sembrando caldo lauril sulfato por quintuplicado y una dilución máxima de 1:100 000. Se usó caldo bilis verde brillante y caldo EC para las pruebas confirmada y de fecales, respectivamente. Las incubaciones de éstas y de las demás pruebas se hicieron en estufa a 35°C o en bañomaría a $44,5 \pm 0,2$ °C, según correspondiera.

Presencia de *S. aureus* (Método semicuantitativo): Con una asada (ca. 0.01 ml) del homogeneizado se rayó cada uno de 4 platos de agar-manitol-sal (Difco B-30) y se inoculó 2 tubos

de caldo tripticasa-soya al 6,5% de NaCl (Brunker *et al.*, 1981) con 1 ml uno y 0,1 ml el otro.

Después de 24 horas de incubación en este caldo de enriquecimiento, se rayó 2 platos de agar-manitol-sal.

Se identificó como *S. aureus* a aquellas colonias halotolerantes, morfológicamente compatibles con las de esta bacteria, que fermentaran el manitol dentro de las 48 horas, demostraran ser cocos grampositivos de agrupación típica y fueran coagulasa-positivas según la prueba en lámina de Cadness-Graves *et al.* (1943).

Se anotó el número de colonias presente en cada uno de los platos de aislamiento directo con el fin de obtener la densidad aproximada de estafilococos en la muestra de pianguas servida.

Presencia de salmonelas. Cada uno de 4 platos de agar MacConkey (Difco B-75) y de 4 platos de agar Salmonella-Shigella (Difco B-74) fue rayado con una asada del homogeneizado; también se inoculó con 10 ml de éste un volumen de 50 ml de caldo tetracionato (Difco B-104). Después de incubar todo lo anterior por 24 horas, se procedió a rayar platos de MacConkey y de SS a partir del tetracionato y, a partir de las colonias que podrían ser de salmonela, a sembrar los siguientes medios: Agar triple-azúcar-hierro (Difco B-265), caldo urea (Difco B-272), medio para movilidad (Difco B-105), caldo malonato (Difco B-395), y caldo tripton (Difco B-123) para prueba de indol.

Aquellos aislamientos que resultaron ser bioquímicamente compatibles con salmonelas fueron probados con suero antiasmático 0 poli A-I y anti-V_i y los que resultaron positivos, fueron probados más específicamente con los siguientes sueros: anti-0, Grupo E, Factores 1, 3, 10, 15, 19, 34; anti-0, Factor 2; anti-0, Factores 4, 5; anti-0, Grupo C₁, Factores 6, 7; anti-0, Factor 7; anti-0, Factor 8; anti-0, Factor 9; anti-0, Factor 10; y anti-V_i (todos los sueros de la casa Difco).

Detección de ácidos orgánicos: El homogeneizado de bivalvos se clarificó mediante centrifugación a 6 000 x g y subsiguiente filtración a través de membrana Millipore HA (0,45 μm); se manejó, por lo demás, de acuerdo con las recomendaciones de Holdeman *et al.* (1977). El cromatógrafo empleado lo fue el modelo 920 de Varian Aerograph.

Calificación de las muestras: Si bien no existe aún consenso internacional en cuanto a los criterios, normas y métodos a emplear para la evaluación de la calidad sanitaria de bivalvos listos para su consumo, hemos recogido aquí los de aceptación más generalizada.

Coliformes fecales: El número más probable por 100 g (NMP) no debe ser mayor de 230 para considerarla *satisfactoria*; si la cifra es mayor, se la toma como *condicional*. Ambas calificaciones están sujetas a que los bivalvos provengan de áreas que observen las normas sanitarias estipuladas por "the National Shellfish Sanitation Program" (Ingram, 1974).

Coliformes totales: El uso de coliformes totales como indicadores de contaminación fecal ha declinado notablemente. Se ofrecen esos datos con el fin de poder comparar nuestros resultados actuales con los de un trabajo anterior (Fernández y Brunker, 1977). Los límites que adoptamos son:

Satisfactorio NMP < 16 000 por 100 ml

Sospechoso NMP 16 000 a 160 000 por 100 ml

No satisfactorio NMP > 160 000 por 100 ml según Ingram (1974, Apéndice 6, pág. 185).

Estafilococos: Varios estados de los EE.UU. de N.A. (Speck, 1976) así como el Reino Unido (Hall, 1975) señalan como límite aceptable una cifra que sea inferior a 100 estafilococos por gramo de alimento.

Salmonelas: Las mismas referencias anteriores indican que *no* es permisible la presencia de estas bacterias en alimentos listos para su consumo.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 tenemos una representación de los niveles promedio de coliformes totales (CT) y de coliformes fecales (CF) encontrados en los cocteles de pianguas servidos en cada una de las nueve tabernas estudiadas.

Desde el punto de vista bacteriológico, cada una de las determinaciones practicadas arrojó resultados que exceden no sólo la norma de CT anteriormente empleada sino también la de CF de uso contemporáneo. El resultado menos grave lo encontramos en la taberna No. 6, cuyas muestras presentaron un nivel medio de

250 000 CT y 180 000 CF por 100 ml; esto significa un exceso de más de 16 veces el límite para CT y casi 800 veces el de CF. En el otro extremo está situada la taberna No. 7, la que excede el límite de CT en 900 veces y el de CF en más de 50 000.

Es interesante observar también en la Figura 1 que hay una correlación entre CF y CT bastante estrecha ($r = 0,94$), que va desde el 100% en 3 de las tabernas hasta un 22% en la que más se aleja, obteniéndose una relación global de 3 CF por cada 4 CT (75%). En un estudio de "The National Shellfish Sanitation Program" Hunt y Springer (1974), encontraron, que en aguas que bañan los criaderos de bivalvos, la relación de fecales a totales es de 1:5 (20%).

En el Cuadro 1 podemos apreciar, además de los valores medios de CF para cada taberna, también el ámbito dentro del que oscilaron los resultados individuales que constituyen cada uno de esos valores promedio. Debemos llamar la atención al hecho de que sólo en dos tabernas, la No. 3 y la No. 6, encontramos muestras con niveles *satisfactorios* de CF (un 38 y un 29%, respectivamente) y también que sus niveles promedio de CF fueron significativamente menores ($p \leq 0,001$, Prueba t de Student) que en las demás. En ninguna de las 7 tabernas restantes obtuvimos una sola muestra de coctel de piangua de calidad bacteriológica *satisfactoria*, lo cual significa que el 93% de todas las muestras analizadas en este estudio era de calidad *no aceptable*.

En los Cuadros 2 y 3 hemos relacionado la frecuencia correspondiente a muestras de cocteles *aceptables* con la categoría socio-económica-sanitaria asignada a cada una de las tabernas. Empleando ya las normas de CF o bien de CT, en ambos casos observamos que la categoría B fue la menos mala, seguida de la C, quedando en la peor posición la categoría A, la que supuestamente cae dentro de la categoría económico-sanitaria superior. Podemos observar que la norma de CF para calificar alimentos es más severa que la de CT, según se desprende de una comparación de la frecuencia de muestras consignadas como *aceptables* en los Cuadros 2 y 3.

En un trabajo anterior (Fernández y Brunker 1977), en el cual examinamos 16 lotes de pianguas recién recolectadas procedentes de 4 áreas geográficas, encontramos una media de 20.000 CT/100 ml y valores individuales distri-

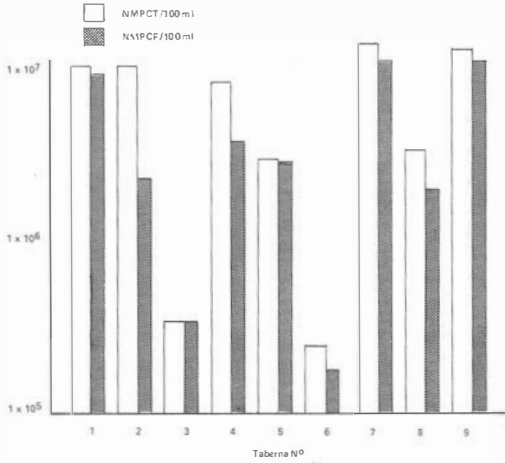


Fig. 1 Promedios de coliformes totales (CT) y fecales (CF) en cocteles de pianguas de 9 tabernas. Los máximos aceptables son $1,6 \times 10^4/100$ ml para CT y $2,3 \times 10^2/100$ ml para CF.

CUADRO 2

Niveles de coliformes fecales y frecuencia de muestras aceptables según la categoría socio-económica de las tabernas

Categoría	NMP/100 ml $\bar{x} \times 10^3$	Muestras Aceptables %
A	5 800	0
B	1 200	13
C	6 700	9

buidos en un ámbito de 2 000 a 60 000 CT/100 ml. Suponiendo que las pianguas objeto del presente estudio, cuando estaban recién recolectadas, hubieran tenido un nivel de CT semejante al encontrado en el trabajo anterior, es decir, una media de aproximadamente 20 000/100 ml, y ahora encontramos que, al momento de comerlas, el cliente se enfrenta a un alimento que, en promedio, presenta más de 7 500 000 CT/100 ml, entonces el aumento de dicha población bacteriana sería de casi 400 veces. Es razonable concluir que condiciones inadecuadas de transporte, desconche, distribución, y manipulación y conservación en la taberna (Ingram, 1974), son capaces de empeorar la condición original de un producto que *no* era de grado *satisfactorio* para comenzar.

Acido acético: Ya avanzada la investigación nos llamó la atención que los niveles de conta-

CUADRO 1

Número más probable de coliformes fecales en cocteles de pianguas y frecuencia de muestras aceptables

Sitio de Muestreo	NMP/100 ml Ambito $\times 10^{-2}$	NMP/100 ml $\bar{x} \times 10^3$ *	Muestras Aceptables %	
1	230.	a \geq 24000	11000	0
2	70.	a 1800	2400	0
3	0.02	a 2800	350	38
4	4.6	a \geq 24000	4000	0
5	0.5	a \geq 24000	3200	0
6	0.2	a 160	180	29
7	17.	a \geq 24000	12000	0
8	1.7	a 16000	2100	0
9	24.	a \geq 24000	11000	0
Promedio General	0.02	a \geq 24000	5100	7.4

* El nivel máximo aceptable de coliformes fecales es de $0.23 \times 10^3/100$ ml (Ingram, 1974).

CUADRO 3

Niveles de coliformes totales y frecuencia de muestras aceptables según la categoría socio-económica de las tabernas

Categoría	NMP/100 ml $\bar{x} \times 10^3$	Muestras Aceptables %
A	9 400	5
B	2 100	40
C	8 200	28

minación que presentaban las muestras provenientes de dos tabernas (la No. 3 y la No. 6) en cuanto a CT, CF y estafilococos eran significativamente menores que el promedio de todas las muestras. Habiéndose percibido un olor a vinagre en una muestra procedente de la taberna No. 3, se optó por hacerle cromatografía de gases al filtrado y, en efecto, se detectó ácido acético. De aquí en adelante se hizo cromatografía de gases a las 22 muestras restantes; además de ácido acético, detectamos los ácidos propiónico, láctico y succínico. Sin embargo, fueron las muestras de la taberna No. 3 las que destacaron por un contenido promedio de 18 meq de ácido acético/100 ml, en tanto que los cocteles de las demás tabernas contenían entre 0 y 1.2 meq/100 ml. La concentración de los otros ácidos orgánicos mencionados estuvo al nivel de este último ámbito.

CUADRO 4

Frecuencia de muestras con niveles aceptables de *S. aureus* en diversas tabernas, con indicación de su categoría socio-económica

Sitio de Muestreo #	Categoría	<i>S. aureus</i> X UFC/g de muestra*	Muestras Aceptables %
1	A	1.500	0
2	A	240	0
3	C	260	0
4	A	100	29
5	B	100	37
6	B	350	0
7	C	1 100	13
8	B	450	0
9	C	500	0
Promedio General		500	9

* El máximo nivel aceptable para *Staphylococcus aureus* debe ser menor de 100 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo (Hall, 1975).

Los bajos niveles de bacterias en las muestras de la taberna No. 6 quedaron sin explicación, ya que habíamos completado el examen del número de muestras anticipado para este sitio cuando se inició el estudio cromatográfico.

Dado que el uso de ácido acético en alimentos es lícito, la práctica adoptada por la taberna No. 3 ha de considerarse dentro de las prerrogativas culinarias.

Estafilococos: Podemos ver en el Cuadro 4 que sólo 2 de las 9 tabernas presentan un promedio de estafilococos *acceptable* y también que sólo en 3 de ellas (No. 4, No. 5 y No. 7) se obtuvieron muestras con menos de 100 UFC/gramo, correspondiéndoles una frecuencia de 29,37 y 13% , respectivamente. El nivel de contaminación por *Staphylococcus aureus* exhibe una fluctuación mucho menor entre los promedios de cada taberna que la observada al respecto con los coliformes fecales (Cuadro 1) o con los coliformes totales (no se muestran esos datos). Esto y los niveles bastante más bajos de los estafilococos nos permite sugerir que la contaminación de las pianguas con estas bacterias es más reciente, tal vez en la etapa del desconche y en la manipulación al preparar los cocteles.

Salmonelas: De las 66 muestras examinadas se aislaron 103 cepas bioquímicamente compatibles con salmonelas; de éstas, 46 (43%) resultaron positivas por suero anti-0 A-I. Lamentablemente, perdimos parte de éstas antes de poderlas examinar con sueros específicos de grupo. Con estos últimos reconocimos en muestras de la taberna No.1, 2 cepas del grupo A y

1 del C₂; de la taberna No. 4, 1 cepa del grupo A; de la No. 7, 3 del C₂; de la No. 9, 2 del B, para un total de 9 aislamientos identificados hasta serogrupo.

Si recordamos que las normas internacionales no permiten el más mínimo nivel de contaminación con bacterias del género *Salmonella* en alimentos listos para consumir (Speck, 1976; Hall, 1975), aún por este criterio deben ser calificados globalmente los cocteles de pianguas como *no aptos para el consumo humano*.

No encontramos correlación entre el nivel de coliformes fecales en una muestra determinada y la presencia de salmonelas. Esto está en concordancia con los resultados obtenidos por Hood *et al.* (1983), los cuales le permiten concluir que un bajo nivel de CF es altamente indicativo de la ausencia de salmonelas, más no así la situación inversa.

Hemos demostrado que al consumir "cocteles de pianguas" se está incurriendo en un riesgo nada despreciable de contraer alguna de una serie de enfermedades trasmisibles por esta vía. Es necesario hacer conciencia sobre este tipo de situaciones por lo que ellas puedan afectar nuestra salud pública, así como insistir en que está a nuestro alcance implantar medidas razonables para corregir problemas como el que nos ocupa. Basta trasladar los bivalvos recién sacados de sus lechos de fango contaminado a pilas o estanques con agua de mar libre de microorganismos fecales para que los moluscos se autopurifiquen en el transcurso de una a dos semanas (Phelps, 1911). Con esto se logra eliminar el primer eslabón en la cadena de contaminación; luego, corresponde a la inspección sanitaria verificar que las operaciones de transporte, desconche, distribución y manipulación y conservación en los sitios de consumo de estos mariscos, se ajusten a las normas usuales aplicables a alimentos que se consumen crudos.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento al Dr. Franklin Jiménez por su revisión del manuscrito, al señor Oscar Prendas por su competente desempeño como asistente de laboratorio y al señor William Castillo por su eficiente ayuda en la obtención de las muestras y otros menesteres de laboratorio.

RESUMEN

Para un estudio de la calidad sanitaria de moluscos al momento de comerlos, escogimos

nueve tabernas de la Ciudad de San José dentro de aquellas que usualmente tenían a la venta "cocteles de chuchecas" (en realidad, de pianguas), de suerte que representaran tres niveles socio-económicos-sanitarios. De ellas adquirimos un total de 66 muestras de cocteles para su examen bacteriológico por coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus* y salmonelas.

Solamente un 7% de las muestras resultaron ser de calidad apta para el consumo humano. No encontramos correlación entre la clasificación sanitaria de las tabernas y la calidad bacteriológica del producto ofrecido en venta.

REFERENCIAS

- Barker, W.H. 1974. *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. *Lancet*, 1:551-554.
- Baross, J. & J. Liston. 1970. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and related hemolytic vibrios in marine environments of Washington State. *Appl. Microbiol.*, 20:179-186.
- Bostock, A.D., T. Metham, S. Phillips, S. Skidmore, & M.H. Hambling. 1979. Hepatitis A infection associated with consumption of mussels. *J. Infection*, 1: 171.
- Brown, R.K., & T.A. McMeekin. 1977. Microbial aspects of oyster production in southern Tasmania. *Food Tech. Aust.*, 29:103-106.
- Brunker, T., N. González, O. Prendas, & B. Fernández. 1981. Medio de enriquecimiento selectivo para el aislamiento de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Cost. Cienc. Méd.*, 2:1-5.
- Cadness-Graves, B., R. Williams, C. J. Harper, & A.A. Miles. 1943. Slide test for coagulase positive staphylococci. *Lancet*, 2: 736-738.
- Dienstag, J.L., I.D. Gust, C.R. Lucas, D.C. Worig & R.H. Purcell. 1976. Mussel-associated viral hepatitis type A: Serological confirmation. *Lancet*, 1: 561.
- Fernández, B., & T. Brunker. 1977. Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica. I. Condición del molusco recién recolectado. *Rev. Biol. Trop.*, 25:101-107.
- Gunn, R.A., H.T. Janowski, S. Lieb, E.C. Prather & H.B. Greenberg. 1982. Norwalk virus gastroenteritis following raw oyster consumption. *Am. J. Epidemiol.*, 115:348-351.
- Hall, L.P. 1975. A manual of methods for the examination of frozen foods. Chipping Cambden, Gloucestershire (England). 2nd ed. 85 p.
- Hood, M.A., G.E. Ness, & N.J. Blake. 1983. Relationship among fecal coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* spp. in shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45:122-126.
- Holdeman, L.V., E.P. Cato, & W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe laboratory manual. VPI Anaerobe Laboratory, Blacksburg (Virginia). 4th ed. 156 p.
- Hunt, D.A. & J. Springer. 1974. Preliminary report on a comparison of total coliform and fecal coliform values in shellfish growing areas and a proposed fecal coliform growing area standard. p. 48. *In* Quality criteria for water. 1976. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. 256 p.
- Ingram, M. 1974. Chairman. International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Association of Microbiological Societies. Microorganisms in food. 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. University of Toronto Press, Toronto. 213 p.
- Lewis, C., J. Harris, K. Hausfeld, E.C. Prather, & A.E. Roberts. 1979. Non-01 *Vibrio cholerae* infections - Florida. *Morbidity and Mortality Weekly Rep.*, 28: 571-577.
- McIntyre, R.C., T. Tira, T. Flood, & P.A. Blake. 1979. Modes of transmission of cholera in a newly infected population on an atoll: Implications for control measures. *Lancet*, 1: 311-314.
- Morris, J.G. Jr., R. Wilson, & B.R. Davis. 1981. Non-0 group 1 *Vibrio cholerae* gastroenteritis in the United States: Clinical, epidemiologic, and laboratory characteristics of sporadic cases. *Ann. Intern. Med.*, 94:656-658.
- Murphy, A.M., G.S. Grohmann, & P.J. Cristopher. 1979. An Australia-wide outbreak of gastroenteritis from oysters caused by Norwalk virus. *Med. J. Aust.*, 2:329-333.
- Neter, E. 1970. Chairman. American Public Health Association. Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish. APHA, Inc. Washington, D.C. 4th ed. 105 p.
- Phelps, E.B. 1911. Some experiments upon the removal of oysters from polluted to unpolluted waters. *J. Amer. Publ. Hlth. Ass.*, 1:305-314.
- Picardi, J.L., C.R. Field, & E. Grant. 1980. Cholera - Florida. *Morbidity and Mortality Weekly Rept.*, 29: 601.
- Ramsey, G.H., G.F. McGuinnis, & P.R. Neal. 1928. An outbreak of typhoid fever and gastroenteritis attributed to the consumption of raw oysters. *Publ. Hlth. Rep.*, 43:2395.
- Smith, D., J. Cutts, T. Chester, & R. Gunn. 1979. Viral hepatitis outbreaks - Georgia, Alabama. *Morbidity and mortality Weekly Rep.*, 28:581.
- Speck, M.L. 1976. Editor. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA, Inc. Washington, D.C. 702 p.