

**Estudio bacteriológico de bivalvos
del Golfo de Nicoya, Costa Rica.
I. Condición del molusco recién recolectado***

por

Bernal Fernández** y Tillmann Brunker**

(Recibido para su publicación el 3 de febrero de 1977)

Abstract: During the first six months of 1970 we collected 16 lots of the bivalve *Anadara tuberculosa* from two areas within the Gulf of Nicoya, Costa Rica. These were examined bacteriologically and the coliform levels found in all of them were such that they had to be graded as not satisfactory for human consumption, according to generally accepted norms. The source of these coliforms is attributed to the sewage discharge of the city of Puntarenas into its estuary.

El gusto por la comida de bivalvos, tales como ostiones, almejas, pianguas, chuchecas y mejillones está universalmente difundido. Estos son alimentos sabrosos, digestibles y nutritivos.

A excepción de los envenenamientos por las mitilotoxinas adquiridas por estos animales al ingerir algunas especies de dinoflagelados responsables de las mareas rojas, no se conoce enfermedad propia de los bivalvos que pueda afectar nuestra salud.

Estos moluscos filtran diariamente unos 50 litros de agua por sus branquias (Wilson & Miles, 1964: 2522) para alimentarse y respirar; las partículas alimenticias así atrapadas incluyen plancton, bacterias, virus, etc. Por otra parte, sabemos que el contenido de bacterias en la carne y jugos de los bivalvos guarda una estrecha relación con la calidad del agua en que viven y que los recuentos de coliformes son altos cuando se les recolecta de aguas contaminadas con materias fecales (American Public Health Association, 1962).

Varios investigadores (Krumwiede *et al.*, 1926; Kelly & Arcisz, 1954) han establecido que el bacilo de la tifoidea tiene una larga sobrevivencia (15 a 60 días)

* Esta investigación fue financiada en parte por el Instituto Nacional de Salud, U.S.A. (Research Grant 1 R01 A112910-01) a través del Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento Médico de la Universidad del Estado de Louisiana (LSU-ICMRT) y sus resultados fueron presentados al IV Congreso Centroamericano y III Congreso Nacional de Microbiología y Parasitología celebrado en San José, Costa Rica, en Diciembre de 1976.

** Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de Costa Rica.

tanto en ostiones intactos como en su carne y jugos. La costumbre de comer crudos estos moluscos ha dado origen a muchas epidemias de fiebre tifoidea y otras fiebres entéricas. Así, **Belin** (1934) narra que en Francia ocurrió una epidemia de fiebre tifoidea durante los años de 1929 a 1934 con un total de más de 100.000 casos. También en el área de Nueva York, en los años de 1924-25, hubo otra epidemia de tifoidea que comprendió unos 1500 casos y originó más de 100 muertes (**Ramsey**, 1928); ella pudo ser atribuida a un embarque de ostiones proveniente de un lecho de bivalvos localizado en aguas contaminadas. Lo más corriente, sin embargo, son los brotes aislados de unos pocos casos de tifoidea. Por otra parte, se ha demostrado la ocurrencia en moluscos del *Vibrio parahaemolyticus* (**Baross & Liston**, 1970), agente de gastroenteritis en el hombre; igualmente, se han podido relacionar brotes ocasionales de hepatitis infecciosa al consumo de mariscos (**Mason & McLean**, 1962), haciendo de ésta una modalidad más en la transmisión de esa enfermedad vírica.

En vista de lo anterior, consideramos de interés para la salud pública hacer un estudio de la calidad bacteriológica de uno de los moluscos que más se consume en Costa Rica, las pianguas (*Anadara tuberculosa*). Y ya que el Golfo de Nicoya constituye el principal sitio de recolección de estos bivalvos, centramos nuestra atención en el análisis del material obtenido en esa zona.

MATERIAL Y METODOS

Durante los meses de enero a junio de 1970 se recolectaron 16 lotes de pianguas (*Anadara tuberculosa*), todos menos dos, procedentes del área de Chacarita, en el Estero de Puntarenas, y del área de Manzanillo, unos 25 km al noroeste de Puntarenas. Las dos excepciones fueron una de Puerto Quepos y la otra de Puerto Cortés.

Siguiendo las recomendaciones de American Public Health Association, los bivalvos se transportaron en bolsas de plástico sobre hielo y, al llegar al laboratorio, fueron librados del fango, lavados con agua del tubo, cepillados en su exterior y puestos a secar sobre papel absorbente. Se eliminaron de la muestra todas las conchas que no estuvieran herméticamente cerradas o que mostraran espuma en su superficie.

Las conchas de cada lote fueron abiertas asépticamente y se recogió tanto el líquido como la carne en un frasco estéril hasta alcanzar la marca de 200 ml; a esto se adicionó un volumen igual de agua estéril y se homogenizó en licuadora. Después de dos minutos de reposo para que sedimentaran las partículas mayores, se procedió a inocular por quintuplicado tubos de fermentación con caldo de lauril triptosa (Difco B241) así: la primera serie, cada tubo con 2 ml de la muestra homogenizada y diluida 1:2; la segunda, con 1 ml de muestra diluida (en total) 1:10; y la tercera, con 1 ml de muestra diluida (en total) 1:100.

Los tubos se incubaron a 35 C y se hicieron lecturas a las 24 y 48 horas. De aquellos que presentaban gas se sembraron tubos de fermentación conteniendo caldo bilis verde brillante (Difco B7), los que se incubaron también a 35 C por iguales períodos. Con los resultados así obtenidos se procedió a determinar el "número más probable" (NMP) confirmado de coliformes, empleando la tabla de **Hoskins** (1934).

RESULTADOS Y DISCUSION

Para guiar nuestro juicio sobre la calidad sanitaria de las muestras examinadas,

hemos considerado dos normas que juzgamos representativas de varias que han sido propuestas: en los Estados Unidos de N.A., the **American Public Health Association** (1962) indica que cuando los bivalvos frescos contienen 230 o más coliformes por 100 ml, *no* reúnen condiciones sanitarias adecuadas; también señala que pueden tolerarse recuentos de hasta 2400 coliformes por 100 ml siempre que eso no ocurra en más de dos muestreos sucesivos. En Inglaterra, Sherwood y Thompson (**Wilson & Miles**, 1964: 2523) propusieron la siguiente norma:

Grado <i>satisfactorio</i> :	menos de	600 coliformes/100 ml
Grado <i>sospechoso</i> :	de 600 a	1500 coliformes/100 ml
Grado <i>no satisfactorio</i> :	más de	1500 coliformes/100 ml

En la Figura 1 podemos observar los resultados de los exámenes bacteriológicos practicados a los lotes de pianguas procedentes de Chacarita y Manzanillo. Aplicando cualquiera de las dos normas citadas, todas las muestras deben ser calificadas como *no satisfactorias*, puesto que la que menos coliformes presentó fue al nivel de los 2800 por 100 ml.

Además de los anteriores, obtuvimos en mayo un lote de pianguas procedente de Quepos y en junio otro procedente de Puerto Cortés, los que arrojaron 1700 y 2200 coliformes por 100 ml, respectivamente, lo cual los coloca también en el grado de *no satisfactorio*.

Es sabido que la flora microbiana de los moluscos guarda relación con el tipo y número de microorganismos del agua en que hayan estado inmersos poco tiempo atrás (**American Public Health Association**, 1962); por ello y a la luz de nuestros trabajos (**Brunker y Fernández**, 1965; **Fernández et al.**, 1971) en cuanto a niveles de coliformes en las aguas de la playa de baño de Puntarenas y por el conocimiento del estado sanitario del Estero de Puntarenas, los resultados de Chacarita no nos sorprenden. Las aguas negras de la Ciudad de Puntarenas que caen al Estero hacia el final de la marea vaciante son arrastradas "aguas arriba" en dirección de Chacarita y de los diferentes brazos del Estero (Fig. 2) tan pronto la marea comienza a subir, aportando así a los criaderos de moluscos abundante materia orgánica en la forma de microorganismos fecales.

Por otra parte, Manzanillo está localizado hacia el fondo del Golfo, a unos 25 km al noroeste de Puntarenas, y allí también encontramos resultados análogos a los de Chacarita. A primera vista, esto nos llama la atención ya que uno se inclina a pensar que las aguas contaminadas del Estero toman una única dirección, o sea, hacia la desembocadura del Golfo. Sin embargo, si consideramos la porción del agua contaminada que acaba de salir del Estero, al momento de detenerse la marea y cambiar el sentido del movimiento de las aguas con la creciente, éstas se pueden dirigir hacia el fondo del Golfo arrastrando el alimento y contaminación fecal de los moluscos que crecen "aguas arriba" del Golfo de Nicoya.

Vemos también en la Figura 1 que es notoria la tendencia a la disminución de coliformes con el inicio de la estación lluviosa en el mes de mayo, acentuándose dicha tendencia más en el mes de junio. Al Estero de Puntarenas desemboca el Río Aranjuez y numerosos riachuelos; otro tanto, guardando la proporción del caso, podemos decir del Golfo de Nicoya (Fig. 2). Es bien conocida la marcada disminución de caudal que sufren los cursos de agua en esta zona del país durante la época seca, al punto de quedar sin agua el lecho de muchos de ellos; igualmente drástico es el aumento de caudal con la entrada de las lluvias, tanto así que el Golfo se torna apreciablemente turbio. **León** (1973) calculó que, en conjunto, el aporte directo de la lluvia y de la descarga de los ríos al Golfo de Nicoya es nueve veces mayor durante la estación lluviosa que durante la seca.

Consideramos que los criaderos de bivalvos en Chacarita y Manzanillo se ven menos afectados por aguas contaminadas con microorganismos fecales durante la época lluviosa debido al aumento de caudal de los ríos que, con su mayor empuje, tienden a mantener un flujo neto más efectivo de las aguas hacia la boca del Golfo. También debemos considerar la posibilidad de que el aporte de microorganismos no fecales que hacen los ríos en los meses lluviosos reemplace en buena parte a los fecales en la nutrición de estos bivalvos.

En 1911 **Phelps** demostró que los moluscos alimentados en aguas contaminadas pueden ser librados totalmente de los microorganismos fecales si se les traslada a aguas puras y ya en 1916 estaba funcionando eficientemente una planta comercial en Inglaterra dedicada a la purificación de mejillones (**Wells**, 1929). ¿Cuándo estaremos en Costa Rica en condición de atender nuestros problemas de prevención de enfermedades transmisibles y otros problemas con una diligencia semejante?

AGRADECIMIENTO

Deseamos dejar constancia de la colaboración brindada por el señor Robert Nishimoto, miembro del Cuerpo de Paz de los Estados Unidos de N.A., en la recolección de todas las muestras empleadas en este estudio.

RESUMEN

Durante los primeros seis meses de 1970 recolectamos 16 lotes del bivalvo *Anadara tuberculosa* procedentes de dos áreas del Golfo de Nicoya, Costa Rica. Se les examinó bacteriológicamente, encontrando niveles de coliformes tales que obligan a calificar a estos lotes como no satisfactorios para el consumo humano, de acuerdo con normas generalmente aceptadas. El origen de dichos coliformes se imputa a la descarga de las aguas negras de la Ciudad de Puntarenas a su estero.

REFERENCIAS

American Public Health Association

1962. *Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish*. 3d ed. Amer. Publ. Hlth. Assoc. New York.

Baross, J., & J. Liston

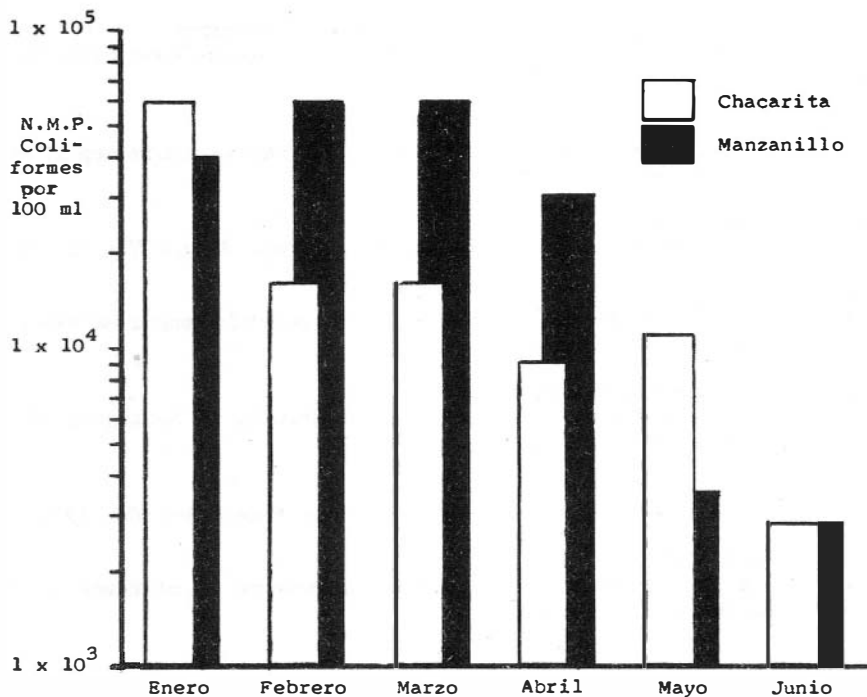
1970. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and related hemolytic vibrios in marine environments of Washington State. *Appl. Microbiol.*, 20: 179-186.

Belin, V. M.

1934. *Coquillages et fièvres typhoides. Un point d'histoire contemporaine*. Les presses universitaires de France. Paris.

Brunker, T., & B. Fernández

1965. Calidad sanitaria de las aguas de la playa de Puntarenas. *Rev. Biol. Trop.*, 13: 259-269.



Fernández, B., T. Brunker, & C. González

1971. Calidad sanitaria de las aguas de la playa de Puntarenas. II. Primera recalificación. *Acta Médica Cost.*, 14: 91-100.

Hoskins, J. K.

1934. Most probable numbers for evaluation of coli-aerogenes tests by fermentation tube method. *Publ. Hlth. Rep.*, 49: 393-404.

Kelly, C. B., & W. Arcisz

1954. Survival of enteric organisms in shellfish. *Publ. Hlth. Rep.*, 69: 1205-1210.

Krumwiede, C., W. H. Park, G. Cooper, M. Grund, C. Tyler, & C. Rosenstein

1926. Effect of storage and changing sea water on contaminated oysters. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 16: 263-275.

León, P. E.

1973. Ecología de la ictiofauna del Golfo de Nicoya, Costa Rica, un estuario tropical. *Rev. Biol. Trop.*, 21: 5-30.

Mason, J. R., & W. R. McLean

1962. Infectious hepatitis traced to the consumption of raw oysters. *Amer. J. Hyg.*, 75: 90-98.

Phelps, E. B.

1911. Some experiments upon the removal of oysters from polluted to unpolluted waters. *J. Amer. Publ. Hlth. Ass.*, 1: 305-314.

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.

Wells, W. F.

1929. Chlorination as a factor of safety in shellfish production. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 19:72.

Wilson, G. S., & A. A. Miles

1964. *Topley & Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*. 5th ed. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London. 2 vols.

