

Carga bacteriana de los peces *Cynoscion squamipinnis* (Perciformes: Scianidae) y *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) en la cadena de comercialización, Costa Rica

Carolina Marín¹, Cristian Fonseca¹, Sidey Arias¹, Irene Villegas¹, Andrea García¹ & Hikaru Ishihara¹

1. Estación de Biología Marina, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional; cmari@una.ac.cr; cfonseca@una.ac.cr; sarias@una.ac.cr; ivillega2@yahoo.es; apgr_11@hotmail.com; hikaruishihara@hotmail.com

Recibido 29-XI-2007. Corregido 02-VIII-2008. Aceptado 02-IX-2008.

Abstract: Bacteriological load of the fishes *Cynoscion squamipinnis* and *Lutjanus guttatus* in the marketing chain, Costa Rica. To determine the bacteriological quality of fishery products in the different stages from commercialization, monthly samples were taken during March 2004 and February 2006 from a Costa Rica marketing chain. Microbiological analyses were made to determine total coliforms (CT), faecal coliforms (CF), *Escherichia coli* (EC), aerobic total count (RTA), *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus*. Three body zones were analyzed: skin, belly and muscle. There were differences in the amount of CT between parts: skin had the highest counts, 11% of samples were identified as *E. coli*. and 2.5% of total counts were higher than the legal limit. Only 1.3% of the samples were *S. aureus*-positive. *Salmonella* sp., *V. cholerae* and *V. parahaemolyticus* were absent. Rev. Biol. Trop. 57 (1-2): 45-52. Epub 2009 June 30.

Key words: Microbiology, food safety, bacteria, coliforms, vibrio, *Enterobacteriaceae*.

En los últimos años, el consumo de alimentos de origen marino ha aumentado considerablemente, esto debido a que constituyen una fuente balanceada de proteínas, vitaminas y minerales con un contenido calórico relativamente bajo, además, muchos de estos productos poseen ácidos grasos poliinsaturados, principalmente del tipo omega 3, los cuales están relacionados con la prevención de las enfermedades cardiovasculares (Kinsella 1988).

En Costa Rica, el consumo en fresco del pescado ocupa el primer lugar en cuanto a volumen y valor, debido a que las tecnologías para procesamiento del pescado son muy costosas y el consumo en fresco permite que se conserven inalteradas sus características nutritivas y organolépticas (Amerling 2001).

El pescado es un producto altamente perecedero, por lo que los procesos de captura y comercialización deben ser monitoreados y así

asegurar que es apto para el consumo humano. Un producto puede tornarse nocivo para el consumidor, debido a la presencia de cualquier sustancia o agente, incluyendo residuos químicos alimentarios (antibióticos, plaguicidas, etc.), exceso de aditivos, materiales extraños (insectos, pelos de roedores, etc.) y microorganismos (Napomuceno 1999).

Los microorganismos, principalmente las bacterias, son responsables de ciertas características de los productos, pueden producir toxinas microbianas u originar sabores extraños y defectos físicos no deseables (Guerrero 2000).

Según un estudio realizado en el Golfo Dulce de Costa Rica por Segura y Campos (1990), se han identificado que los factores ambientales y la inadecuada manipulación están estrechamente ligados con la proliferación bacteriana, de las cuales, las bacterias patógenas son los principales riesgos de naturaleza

biológica, entre las que se destacan aquellas que se encuentran de forma natural en el medio acuático y las que se encuentran en los productos como consecuencia de la contaminación con aguas residuales, o por la inadecuada manipulación en las diferentes etapas del proceso de comercialización. Las especies de *Vibrio* son comúnmente encontradas en el ambiente marino, asociadas con los tejidos tales como órganos luminosos, en algunos cefalópodos y en algunos peces, así como en el intestino de peces y crustáceos (Álvarez y Austin 2000, Soto-Rodríguez *et al.* 2002), lo que puede afectar la calidad sanitaria de los productos de este origen, que son consumidos por el hombre (García y Antillón 1990). Especies de *Vibrio*, también han sido encontradas en el intestino, hepatopáncreas y en la hemolinfa de algunos crustáceos, como los camarones (Álvarez y Austin 2000, Soto-Rodríguez *et al.* 2002).

La materia fecal es otra de las formas de contaminación alimentaria, debido a la facilidad con que los alimentos la pueden adquirir. Se da por mala manipulación del producto y por la exposición del mismo a fuentes de materia fecal (Arias y Antillón 2000). El indicador de contaminación fecal más utilizado es *Escherichia coli*, que pertenece a los coliformes fecales y constituyen el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales de sangre caliente (Prescott y Harley 2002).

En Costa Rica, la legislación actual (La Gaceta 2000) establece una serie de requisitos microbiológicos para determinar la calidad del pescado fresco y congelado. Con el fin de verificar el cumplimiento de estos estándares de calidad en la cadena de comercialización de pescado, realizamos una serie de muestreos en tres diferentes puntos de la cadena de comercialización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde julio del 2004, hasta marzo del 2006, recolectamos mensualmente muestras de pargo mancha (*Lutjanus guttatus*) y corvina aguada (*Cynoscion squamipinnis*), procedentes

de los recibidores de la zona de Puntarenas, del mercado mayorista CENADA y de mercados y supermercados de venta al público, ubicados en el Área Metropolitana.

En cada muestreo, recolectamos 8 individuos, manipulados con guantes estériles y luego se transportaron al laboratorio en hieleros con hielo para el posterior análisis. A cada organismo le realizamos determinaciones microbiológicas en la piel, el vientre y la carne. Los análisis aplicados fueron el recuento total aerobio (RTA), el número más probable de coliformes totales (CT) y fecales (CF), el recuento de *E. coli* (EC) y *S. aureus*, además de la presencia de *Salmonella sp.*, *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* (FDA 2001).

Procesamiento de las muestras: La piel y el vientre los muestreamos por superficie, utilizando un hisopo y raspando una superficie de 25 cm², mientras que en la carne, utilizamos 25 g. Homogenizamos y realizamos diluciones decimales desde 10⁻¹, hasta 10⁻⁶ (FDA 2001).

Identificación de colonias: Para obtener la identificación, utilizamos métodos bioquímicos y morfológicos, los resultados positivos los corroboramos por medio de API 20E y 20NE (Biomerieux).

Análisis estadístico: Para comparar los CT, CF y EC, en las diferentes zonas corporales del producto y en la cadena de comercialización, aplicamos análisis de varianza (una vía y factorial) y comparaciones múltiples (Tukey), los RTA en los peces y en los puntos de venta los comparamos mediante la prueba U Mann-Whitney (Gutiérrez 2000, Spiegel y Stephens 2002), con un nivel de significancia de 5%, utilizando el paquete estadístico Statistica 6.0.

RESULTADOS

Entre marzo del 2004 y febrero del 2006, recolectamos un total de 240 muestras, de las cuales 120 las obtuvimos de los recibidores, 57 de transportistas-mercado mayorista y 63 de mercados y supermercados de venta al público.

Los datos de las determinaciones microbiológicas los comparamos con los niveles establecidos por el decreto (cuadro 1).

Estadísticamente, no encontramos diferencias significativas al comparar las determinaciones microbiológicas de acuerdo al sitio de la cadena de comercialización muestreado ($F=1.17$, $p=0.3$).

CUADRO 1

Límites establecidos por el decreto nacional, para determinar la calidad del pescado fresco y congelado para consumo humano

TABLE 1

Limits set by the national decree to determine the quality of fresh and frozen fish for human consumption

Parámetro	Pescado fresco y congelado
RTA	5×10^5 ufc/g
CT	1×10^3 NMP
<i>E. coli</i>	1×10^2 NMP
<i>Salmonella sp.</i>	Ausente en 25 g
<i>S. aureus</i>	1×10^3 ufc/g
<i>V. cholerae</i>	Ausente
<i>V. parahaemolyticus</i>	Ausente

El 2.1% de las muestras superaron los límites establecidos de coliformes totales (fig. 1) y al comparar las zonas corporales, encontramos diferencias significativas ($F=6.07$, $p=0.002$) donde, la piel fue la zona con mayor NMP de bacterias por gramo de muestra, seguida del vientre, con ambos resultados mayores a 1000 NMP/g y por último la carne que se mantuvo entre 3 y 499 NMP/g.

En el 11% de las muestras, logramos aislar *E. coli*, sin embargo, no encontramos diferencias significativas ($F=1.04$, $p=0.35$) en las tres zonas del producto (fig. 2), el 90% de estas identificaciones estuvo por debajo del límite permitido (cuadro 1 y fig. 2), sin embargo, en el 5.3% de los casos aislados en la piel de las muestras obtenidas del mercado mayorista superaron los límites máximos (cuadro 2).

Del total de muestras que analizamos, solamente el 2.5% superaron los límites establecidos para el RTA (fig. 3), los recuentos más altos, con un promedio de 4×10^5 ufc/g, pertenecen a los recibidores, seguidos por los mercados y supermercados de venta al público (promedio de 1×10^5 ufc/g), mientras que

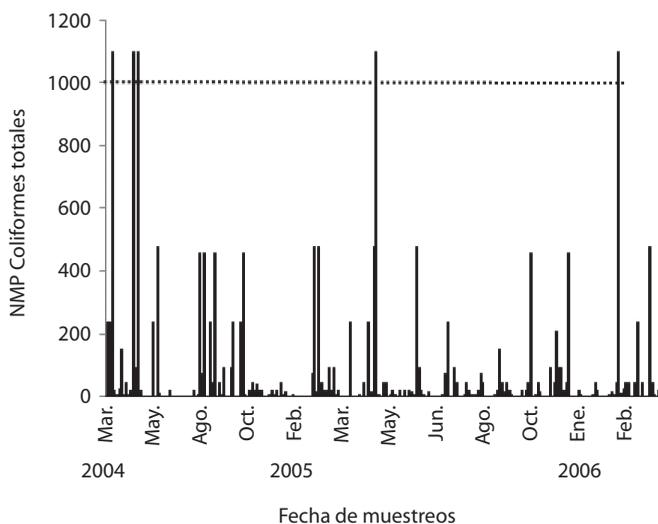


Fig. 1. NMP de coliformes totales en las etapas de comercialización del pescado, durante el 2004-2006 (La línea punteada muestra el nivel máximo permitido).

Fig. 1. MPN of total coliforms in the fish marketing chain during 2004-2006 (Broken line: maximum level permitted by law).

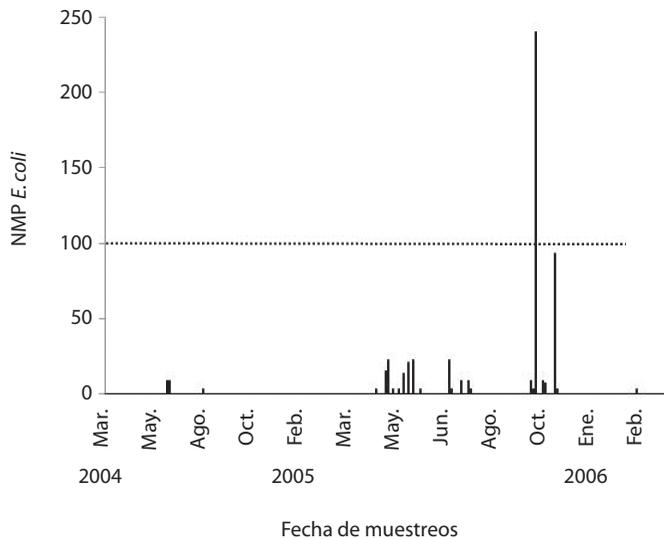


Fig. 2. NMP de *E. coli* en las etapas de comercialización del pescado, durante el 2004-2006 (La línea punteada muestra el nivel máximo permitido).

Fig. 2. MPN of *E. coli* in the fish marketing chain during 2004-2006 (Broken line: maximum level permitted by law).

CUADRO 2

NMP/g de coliformes totales y E. coli en los sitios de la cadena de comercialización

TABLE 2

MPN/g of total coliforms and E. coli in fish collected in the marketing chain

NMP/g	Recibidor (%)			Mercado mayorista (%)			Mercados y supermercados (%)		
	Piel	Vientre	Carne	Piel	Vientre	Carne	Piel	Vientre	Carne
Coliformes Totales									
3-99	84.2	89.5	100	78.9	89.5	100	76.2	77.8	85.7
100-499	15.8	7.9	0	15.8	10.5	0	9.5	22.2	14.3
500-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+1000*	0	2.6	0	5.3	0	0	14.3	0	0
<i>E. coli</i>									
3-99	21	7.9	10.5	10.5	15.8	10.5	4.8	0	4.8
100-499*	0	0	0	5.3	0	0	0	0	0
500-1100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+1100	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Límite máximo permitido/*Limit permitted by law.

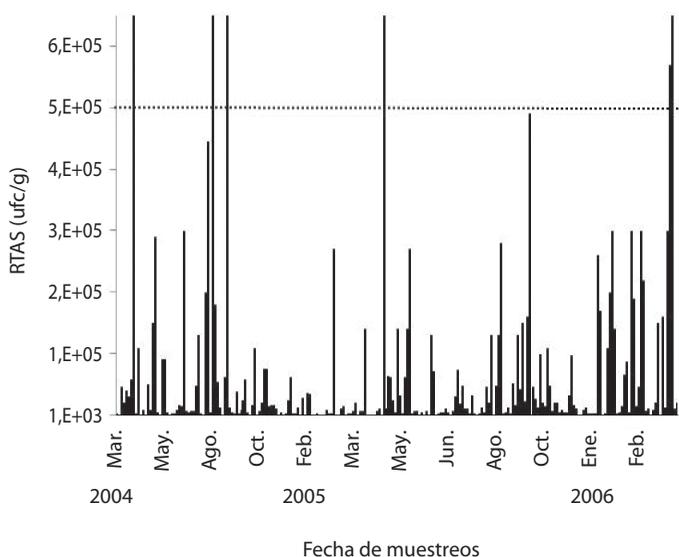


Fig. 3. RTA en ufc/g de las muestras recolectadas en la cadena de comercialización del pescado, durante el 2004-2006 (La línea punteada muestra el recuento máximo permitido).

Fig. 3. RTA (ufc/g) in the fish marketing chain during 2004-2006 (broken line: maximum level permitted by law).

las muestras del mercado de venta mayorista presentaron recuentos más bajos (promedio de 6.7×10^4 ufc/g). En el cuadro 3, se muestra que la mayoría de las muestras tuvieron recuentos entre 10^3 y 10^5 . No encontramos diferencias significativas en los recuentos de la piel, el vientre y la carne ($U = 2574.0$, $p = 0.08$).

En dos ocasiones logramos aislar *S. aureus*, ambas con 8.5×10^2 ufc/g, esta bacteria la encontramos únicamente en el 1.3% de las muestras y exclusivamente en los recibidores. No reportamos la presencia de *V. cholerae*, *V. parahemolyticus* y *Salmonella spp.* en ninguna de las muestras analizadas.

DISCUSIÓN

Coliformes: Pese al bajo porcentaje de muestras que superan los parámetros de ley, el lograr identificar *E. coli* en los productos de consumo humano, se hace evidente la falta de controles higiénicos en las tres etapas de comercialización, lo cual representa un problema de salud pública. Morales *et al.* (2004),

al analizar tilapia fresca, encontraron que en el 74% y 58% de las muestras se superaron los valores permitidos de coliformes totales y fecales respectivamente y atribuyen estos resultados a una alta contaminación de las aguas de crianza, debido a posible filtración de aguas negras en los estanques. En este caso y debido a que las muestras no proceden de la actividad acuícola, la contaminación del producto puede deberse a deficientes medidas de higiene y manipulación.

Recuento total de bacterias mesófilas en placa: Como mencionamos anteriormente, los recuentos más altos fueron encontrados en los recibidores, donde es de esperar que el producto esté colonizado con la flora bacteriana normal, la cual se ha determinado que está entre 10^2 y 10^7 ufc por gramo (Huss 1999). Estos resultados son similares a los obtenidos por Agüeira *et al.* (2004), al valorar la calidad de la carne de *Odontesthes bonariensis*, encontrando recuentos con valores entre 10^3 y 10^6 ufc/g. La disminución de estos valores en los

CUADRO 3

Recuento total aerobio en ufc/g en las tres zonas corporales muestreadas y en los sitios de la cadena de comercialización

TABLE 3
RTA (ufc/g) in fish collected in the marketing chain

RTA ufc/g	Recibidor (%)			Mercado mayorista (%)			Mercados y supermercados (%)		
	Piel	Ventre	Carne	Piel	Ventre	Carne	Piel	Ventre	Carne
0-10 ³	2.3	13.6	15.9	0	5.3	0	5.9	0	5.9
10 ³ -10 ⁴	27.3	52.3	65.9	5.3	26.3	78.9	23.5	5.9	41.2
10 ⁴ -10 ⁵	50	25	18.2	57.9	36.8	21.1	41.2	29.4	47.1
10 ⁵ -10 ⁶ **	15.9	6.8	0	36.8	31.6	0	29.4	64.7	5.9
10 ⁶ -10 ⁸	4.5	2.3	0	0	0	0	0	0	0

** Límite máximo permisible 5x10⁵ ufc/g

** Limit permitted by law is 5x10⁵ ufc/g

mercados de venta al mayorista, se deben a que el producto luego del recibidor es transportado en cámaras de enfriamiento a una temperatura de 0-5°C, lo cual disminuye la carga bacteriana y es llevado directamente al centro de mayoristas, donde se comercializa rápidamente. El aumento de la carga bacteriana en los mercados y supermercados de venta al público, es debido al deficiente enfriamiento del producto, ya que en la mayoría de las pescaderías, los productos estaban cubiertos con hielo sólo en algunas partes del cuerpo, para dejar que el cliente pueda observar lo que compra. Lo anteriormente mencionado también puede ser ocasionado por el incremento en los tiempos de manipulación, lo cual debe ser controlado ya que genera un aumento en la temperatura y consecuentemente un incremento en el crecimiento bacteriano (Huss 1999).

S. aureus: El aislamiento de cepas de este tipo de bacterias se relaciona principalmente a la falta de guantes, delantales y cobertores de cabello y boca durante el proceso de manipulación, ya que los *Staphylococcus* son habitantes normales de las vías respiratorias superiores, además de la piel y pueden ser transmitidos a los alimentos mediante propagación manual o ser expelidos por el aparato respiratorio (Prescott *et al.* 2000). Esta bacteria

estuvo ausente en el mercado mayorista y en los mercados y supermercados de venta al público, debido posiblemente a la temperatura tan baja que se mantiene en el primero y a la utilización de guantes para manipular los productos en ambos puntos de comercialización. La escasa presencia de esta bacteria, concuerda con lo reportado por Herrera *et al.* (2006), quienes lograron aislar *S. aureus*, procedentes de muestras de pescados marinos congelados y empacados, sin embargo, los recuentos fueron muy bajos (<1x10²ufc/g).

Salmonella sp., V. cholerae y V. parahaemolyticus: Al igual que en el trabajo realizado por Herrera *et al.* (2006), la presencia de *Salmonella sp.* y *V. cholerae* estuvieron ausentes en todas las muestras. En el caso de *V. parahaemolyticus*, estos autores reportan dos identificaciones de las 24 muestras analizadas, sin embargo, en nuestro estudio no encontramos representantes de esta especie. *V. parahaemolyticus* es una bacteria halófila que puede ser afectada por los cambios de salinidad y temperatura y ha sido aislado en varios organismos marinos (Leyva *et al.* 1996, Mira-Gutiérrez y García 1997, Álvarez *et al.* 2000, Daniels *et al.* 2000 y Croci y Suffredini 2003). Durante la cadena de comercialización, se realizan lavados del producto con agua

dulce, lo cual podría haber disminuido la posibilidad de lograr encontrar a esta bacteria en los productos.

AGRADECIMIENTOS

A la Agencia de Cooperación Internacional de Japón (JICA), a la Estación de Biología Marina y la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional y a todas las personas que nos facilitaron la obtención de las muestras.

RESUMEN

Con el fin de determinar la calidad bacteriológica de los productos pesqueros en las diferentes etapas de comercialización, desde marzo del 2004 y hasta febrero del 2006, recolectamos muestras mensuales y realizamos análisis microbiológicos para determinar coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli*, recuento total aerobio (RTA), *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* en la piel, el vientre y la carne de los productos. Hubo diferencias en la cantidad de CT encontrada entre las diferentes zonas corporales muestreadas, siendo la piel la zona con mayor conteo. En el 11% de las muestras identificamos *E. coli* y el 2.5% de los recuentos totales superaron los límites máximos aceptados. *Salmonella* sp., *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* estuvieron ausentes, mientras que sólo el 1.3% de las muestras fueron positivas para *S. aureus*.

Palabras clave: microbiología, seguridad alimentaria, bacterias, coliformes, vibrios, enterobacterias.

REFERENCIAS

Agüeira D., F. Grosman., A. Tabera., P. Sanzano & R. Porta. 2004. Valoración de la calidad de carne de Pejerrey *Odontesthes bonariensis*. Rev. Aquatic. 20: 9-19

Álvarez J & B. Austin. 2000. Especies de *Vibrio* y *Aeromonas* aisladas del intestino de camarones marinos sanos silvestres y cultivados en Venezuela. Vet. Trop. 25: 5-27

Amerling C. 1991. Tecnología de la carne. EUNED, San José.

Arias ML & F. Antillón. 2000. Contaminación microbiológica de los alimentos e Costa Rica. Una revisión de 10 años. Rev. Biomed. 11: 113-22.

Croci L & E. Suffredini. 2003. Rischio microbiológico associato al consumo di prodotti ittici. Ann. Ist Super Sanita. 39: 35-45.

Daniels N., B. Ray., A. Easton., N. Marano., E. Kahn., A. McShan., L. Del Rosario., T. Baldwin., M. Kingsley., N. Pühr., J. Wells & F. Angulo. 2000. Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in raw oyster. JAMA. 248: 1541-6

Kinsella J. 1988. Fish and Seafoods: Nutritional implications and quality issues. Food Technol. 42: 146-150.

Huss HH., 1999. El pescado fresco, su calidad y cambios en su calidad. Documento técnico de pesca 348. FAO, Roma.

García V. & F. Antillón. 1990. Aislamiento de Vibrios enteropatógenos de bivalvos y cieno del Golfo de Nicoya, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 38: 437-440.

Guerrero, P. 2000. Programas estratégicos para el desarrollo de la biología. Microorganismos de uso industrial. Manual XX Aniversario de la licenciatura en biología. Universidad de Costa Rica, San José.

Gutiérrez, E. 2000. Métodos Estadísticos para las Ciencias Biológicas. EUNED, San José.

Herrera F., J. Santos., A. Otero & M. García-López. 2006. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackage portions of marine fish in Spain. J Appl. Microbiol. 100: 527-536

La Gaceta. 2000. Límites máximos permitidos para residuos tóxicos y recuento microbiológico para los productos y subproductos de la pesca, para el consumo humano. Decreto Ejecutivo N° 29210-MAG-MEIC-S. 28 dic N° 249.

Leyva V., E. Valdés., E. Cisneros & B. Pérez. 1996. Aislamiento de Vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba. Rev. Cubana Alimentr. Nutr. 10: 1-5.

Mira-Gutiérrez J & P. García-Martos. 1997. Vibrios de origen marino en patología humana. Enf. Infecc. Microbiol. Clin.15: 383-388.

Morales G., L. Blanco., ML. Arias & C. Chaves. 2004. Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. ALAN. 54: 433-7

Napomuceno, E. 1999. Tecnología avanzada de carnes e derivados. Contaminação e deterioração da carne. Manual. UNICAMP, Rio de Janeiro, Brasil.

Prescot, L., J. Harley & D. Klein. 2002. Microbiology. Mc Graw-Hill, Nueva York, EEUU.

Segura A & J. Campos. 1990. Pérdidas poscapturas en la pesquería artesanal del Golfo Dulce y su proyección al Pacífico de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 38: 425-429

Spiegel, M & L. Stephens. 2002. Estadística. Mc Graw Hill, México.

Soto-Rodríguez S., N. Simoes & D. Jones. 2002. Assessment of fluorescent-labelled bacteria for evaluation of in vivo uptake of bacteria (*Vibrio* spp.) by crustacean larvae. J Microbiol. Met. 52: 101-114.

REFERENCIA DE INTERNET

U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological analytical manual online. (Downloaded: January 2002, <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>)