

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE *Crassostrea gigas* IMPLANTADAS EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA, ARGENTINA

Evaluation of the bacteriological quality of *Crassostrea gigas* implanted in the estuary of Bahía Blanca, Argentina

Micaela Alexandra GALLICET*, Maria Eugenia STREITENBERGER y Mónica Diana BALDINI

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, Bahía Blanca, CP 8000, Buenos Aires, Argentina

* Autora para correspondencia: micaelagalliget@gmail.com

(Recibido: octubre 2018; aceptado: mayo 2019)

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., ostras, aguas, sedimentos, zona costera

RESUMEN

La ostra del Pacífico, *Crassostrea gigas*, fue introducida en muchos ecosistemas costeros de Argentina. Su rango de distribución en el estuario de Bahía Blanca es incierto, existiendo evidencias de su continua expansión. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad bacteriológica de la ostra en la zona interna del estuario de Bahía Blanca y del agua y sedimentos donde crece. Se establecieron dos estaciones de muestreo: Club Náutico (CN) y Puerto Cuatrerros (PC), donde se realizaron 21 campañas entre junio 2015 y junio 2018. Se recolectaron agua subsuperficial, sedimentos superficiales y ostras de la zona intermareal. En las tres matrices se hicieron recuentos de *Escherichia coli* (*Ec*) y detección de *Vibrio* spp. Además, en el tejido de ostras se buscó *Salmonella* spp. En las dos estaciones, se evidenció la acumulación de *Ec* en ostras y en sedimentos. Se detectaron altos valores de *Ec* en las tres matrices y la presencia de salmonelas en CN. En todas las matrices de ambas estaciones se aislaron especies del género *Vibrio*, incluyendo *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*. Los bancos de ostras estudiados en el estuario están en un lugar muy accesible y los animales son de buen tamaño, lo que los hace atractivos para la recolección informal. Sin embargo, de acuerdo con los resultados bacteriológicos, el 66 % de las muestras de ostras de PC y el 100 % de CN no cumplen con la legislación vigente en Argentina, constituyendo un riesgo potencial para la salud humana.

Key words: *Escherichia coli*, *Vibrio* spp., *Salmonella* spp., oysters, water, sediments, coastal area

ABSTRACT

The Pacific oyster, *Crassostrea gigas* was introduced into many coastal ecosystems of Argentina. Its range of distribution in Bahía Blanca's estuary is uncertain, and there is evidence of its continued expansion. The aim of this work was to evaluate the bacteriological quality of the oyster in the inner area of the estuary of Bahía Blanca, and of the water and sediments where it grows. Two sampling stations were established: Club Náutico (CN) and Puerto Cuatrerros (PC). Subsurface water, surface sediments and oysters were collected from the intertidal zone from June 2015 to June 2018. In the three matrices, counts of *Escherichia coli* (*Ec*) and detection of *Vibrio* spp. were done. In addition, *Salmonella* spp. was searched in the oyster tissue. In the two

stations, an accumulation of *Ec* in oysters and in sediments was evidenced. In addition to the high values of *Ec* in CN, the presence of *Salmonella* in oysters was detected. In all the matrices of both stations *Vibrio* spp. were isolated, including *V. cholerae* and *V. parahaemolyticus*. The oyster beds studied in the estuary are a very accessible place and the specimens are of good size, make them attractive for informal harvesting. However, according to the bacteriological results, 66 % of the samples of PC oysters and 100 % of CN do not comply with the current legislation in Argentina, representing a potential risk for human health.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos continúan siendo una amenaza a la salud pública alrededor del mundo y causa importante de mortalidad. Aunque la mayoría de los casos son leves y se asocian a síntomas gastrointestinales agudos, en ocasiones son más severas y peligrosas para la vida, especialmente en niños, personas inmunocomprometidas y adultos mayores; en ciertas situaciones la infección puede ocasionar enfermedades crónicas (Blackburn y McClure 2002).

El consumo de moluscos bivalvos ha aumentado de manera significativa en los últimos años y algunas especies son consumidas preferentemente crudas (ostras) o poco cocidas (mejillones) (FAO 2008). La importancia de estos organismos es que, al ser filtradores, pueden acumular contaminantes que se hallan en la columna de agua (Ristori et al. 2007, Lee y Silk 2013). Numerosos autores demostraron que las ostras pueden concentrar niveles de contaminantes 100 veces superiores a los existentes en el agua circundante (Soto Varela et al. 2016).

La ostra del Pacífico, *Crassostrea gigas*, nativa de Japón, Corea, China y Rusia, fue introducida en muchos ecosistemas costeros del mundo con fines de cultivo debido a su rápido crecimiento y su tolerancia a un amplio rango de condiciones ambientales (Shatkin et al. 1997). Este molusco genera más del 90 % de la producción mundial de ostras (FAO 2010), por lo cual, su producción comercial se ha convertido en la principal vía de dispersión (Nehring 2006, Troost 2010). El cultivo de *C. gigas* en la Argentina (Bahía Anegada, 40° de latitud Sur) comenzó en 1981, y en los años siguientes se naturalizó formando extensos arrecifes en las zonas intermareales. Dos Santos y Fiori (2010) reportaron por primera vez la presencia de *C. gigas* en el estuario de Bahía Blanca (38° de latitud sur); mencionan que aun existiendo evidencias que permiten afirmar que está en continua expansión, su rango de distribución actual es incierto.

La bacteria *Escherichia coli* (*Ec*) es utilizada tradicionalmente como indicador de contaminación fecal. Se asume que su comportamiento es similar al de otras bacterias del mismo origen cuando son liberadas al ambiente (Lipp et al. 2001, Jeng et al. 2005). Su detección alerta sobre la posible presencia de microorganismos patógenos intestinales, con el consiguiente riesgo higiénico-sanitario para la población.

El género *Salmonella* incluye algunos de los patógenos más importantes en alimentos crudos, especialmente aquellos de origen animal (González et al. 2009). Su presencia en sistemas acuáticos se atribuye a las descargas de aguas residuales urbanas y agrícolas (Baurdart et al. 2000).

Históricamente, las epidemias causadas por *Vibrio* a nivel mundial se asocian a zonas tropicales y subtropicales, sin embargo, se han reportado brotes en regiones con aguas de baja temperatura (Anderson y Ekdahl 2006, Fuenzalida et al. 2007). Por lo que es necesario incrementar los estudios de estos patógenos en ambientes no considerados endémicos. *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son los principales responsables de las enfermedades infecciosas emergentes y re emergentes en humanos (Morens et al. 2004, Wetz et al. 2014).

En Argentina, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA 2006) establece que los moluscos para consumo humano deben contener menos de 230 *Ec* por cada 100 g de carne y líquido intervalvar, y ausencia de *Salmonella* spp. en 25 g. Si bien la normativa para el consumo interno no exige la búsqueda del género *Vibrio*, varios mercados extranjeros (MINCETUR 2010) establecen como requisito para la importación de los moluscos bivalvos la ausencia de *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae* y *V. vulnificus* en 50 g de tejido.

En el estuario de Bahía Blanca existen registros previos de la presencia del género *Vibrio* (Vuano 2012, Baldini y Vuano 2014) y de *Ec* (Streitenberger y Baldini 2010, Pierini et al. 2012) en el agua, pero no se cuenta con datos sobre la calidad bacteriológica de las ostras implantadas en la zona.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad bacteriológica de la ostra *Crassostrea gigas*, implantada en la zona interna del estuario de Bahía Blanca, además del agua y sedimentos donde se desarrollan.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estuario de Bahía Blanca situado en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires se extiende entre los 38° 42' y 39° 25' de latitud Sur, y entre los 61° 50' y 62° 22' de longitud Oeste, ocupando una amplia faja costera en dirección noroeste-sudeste (Streitenberger y Baldini 2010). Sobre su costa norte se encuentran varias localidades, siendo la de mayor importancia Bahía Blanca, con más de 350 000 habitantes. Estas poblaciones vuelcan sus efluentes cloacales, en su mayoría insuficientemente tratados, en las aguas superficiales costeras del estuario (Fig. 1).

Estaciones de muestreo

Se establecieron dos estaciones de muestreo en la zona interna del estuario de Bahía Blanca: Club Náutico (CN) de Ingeniero White y Puerto Cuatrerros (PC) (Fig. 1). Entre junio de 2015 y junio de 2018, se realizaron 21 campañas. Se recolectaron manualmente agua subsuperficial (≈ 20 cm de profundidad), sedimentos superficiales (2 cm de profundidad) y ostras (*Crassostrea gigas*) de la zona intermareal. Se utilizaron recipientes estériles y aptos para cada caso. Las muestras se trasladaron refrigeradas al

laboratorio y su procesamiento se realizó en menos de dos horas de su recolección (APHA, AWWA, WPCF 2012). Se registró la temperatura del agua in situ.

Análisis microbiológico

En las tres matrices (agua, sedimentos y tejido de ostras) se hicieron recuentos del indicador de contaminación fecal *Ec* y detección de *Vibrio* spp. Además, en el tejido de ostras se buscó el patógeno intestinal *Salmonella* spp.

Para la detección de *Ec* se utilizó la técnica de la doble capa, a fin de recuperar las bacterias estresadas por las condiciones ambientales. La revivificación se hizo durante 2 h en un medio de agar para recuento en placa (PCA; Merck, 5463) para posteriormente adicionar el medio Endo-C-Agar (Merck, 4044; Streitenberger y Baldini 2016). La incubación se realizó a 44.5 ± 0.5 °C durante 24 h (Eijkman 1904). Los resultados para agua se expresaron en unidades formadoras de colonias por 100 mL (UFC/100 mL). Para la identificación bioquímica se realizaron las pruebas de indol, rojo de metilo, Voges Proskauer y citrato (IMViC) y tres azúcares hierro (TSI, por sus siglas en inglés) (McFaddin 2003). Para la búsqueda de *Ec* en sedimentos, se resuspendieron 6 gramos en 54 mL de Locke (dilución 10^{-1}), se agitó a 450 rpm durante 15 min en un agitador rotatorio (New Brunswick Scientific Company) y el homogeneizado se sembró siguiendo la misma metodología que para las aguas. Los resultados se expresaron como UFC por gramo de peso seco (UFC/g). Para la búsqueda de *Ec* y *Salmonella* spp. en tejido de ostras se usaron 30 g de músculo y de líquido intervalvar a los que se adicionaron 120 mL de agua peptonada para obtener una dilución de 10^{-1} . Las muestras para *Ec* se sembraron siguiendo la misma técnica descrita previamente para las aguas, sólo que los resultados se expresaron como UFC/100 g de muestra de tejido de ostras. Para la detección de *Salmonella* spp. se realizó un pre enriquecimiento en agua peptonada amortiguada (preparada en el laboratorio a partir de sus componentes), posteriormente, un enriquecimiento selectivo en caldo tetratonato (Merck, 5285) e inmunoensayo con RapidCheck® *Salmonella* lateral flow (Romer Labs, AOAC Lic. N° 030301), el cual, es sensible para detectar una *Salmonella* en 25 g de muestra. Los resultados positivos se confirmaron por aislamiento en agar *Salmonella*-Shigella (Merck, 7667), Hektoen (Difco, 285340) y agar XLD (Difco, 278850). Finalmente, se realizó la tipificación bioquímica para confirmar el género (Pascual-Anderson y Calderón-Pascual 2000, Caffer y Terragno 2008).

Para el aislamiento de las especies de *Vibrio* se

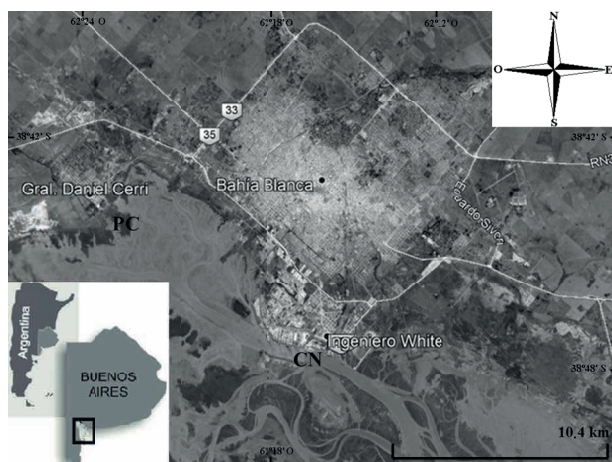


Fig. 1. Estuario de Bahía Blanca, Argentina. Ubicación de las estaciones de muestreo Club Náutico (CN) y Puerto Cuatrerros (PC)

siguió la metodología descrita por el Manual de Procedimientos del Instituto Malbrán, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (INEI-ANLIS) “Dr. Carlos G. Malbrán” (INEI-ANLIS 2010) y el Manual de Procedimientos del Instituto de Salud Pública (Silva-San Cristóbal et al. 2008). Alícuotas de 10 mL de las muestras de agua, 6 g de sedimentos y 30 g de músculo, contenido visceral y líquido intervalvar de ostras se colocaron en distintos matraces Erlenmeyer con agua peptonada alcalina (APA-Britania: peptona de carne 1 %, NaCl 1 %, pH: 8.5 ± 0.2). Se incubaron 24 h a 37 °C. Posteriormente, se aislaron en el medio selectivo tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS, MERCK) (ISO 1990, Kaysner y De Paola 2004). Las colonias se re aislaron en agar nutritivo (Merck) adicionado con 1 % NaCl y en el medio cromogénico CHROMagar *Vibrio* (Microbiología, Francia). Para la identificación bioquímica se utilizaron las pruebas propuestas por Alsina y Blanch (1994) y Silva San Cristóbal et al. (2008). A las colonias presuntivas de *V. cholerae* se les realizó la prueba del cordón (String test) y cultivo en agar sangre con eritrocitos de carnero (Britania) para observar su actividad hemolítica. Además, se llevó a cabo la reacción de Kanagawa en el medio especial agar Wagatsuma (preparado en el laboratorio con glóbulos rojos humanos). Esta prueba tiene por finalidad la detección de una hemólisis específica que se relaciona con la patogenicidad de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (Pascual-Anderson y Calderón-Pascual 2000).

Análisis estadístico

Para verificar los supuestos de normalidad y homocedasticidad los datos se transformaron a \log_{10} . Se aplicó una prueba t a dos colas para muestras apareadas. Los resultados fueron considerados significativamente diferentes $p < 0.05$ (InfoStat, Di Rienzo et al. 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la **figura 2**, los mayores recuentos de *Ec* (expresados como media geométrica) se registraron en la estación CN siendo 1200 UFC/100 mL para aguas y 4200 UFC/100 g para el tejido de ostras. Es evidente la acumulación de esta bacteria en las ostras ya que los recuentos en músculo superaron el orden de magnitud de los registrados en el agua circundante. En el 66 % de las muestras de ostras de PC y en el 100 % de las de CN, los valores de

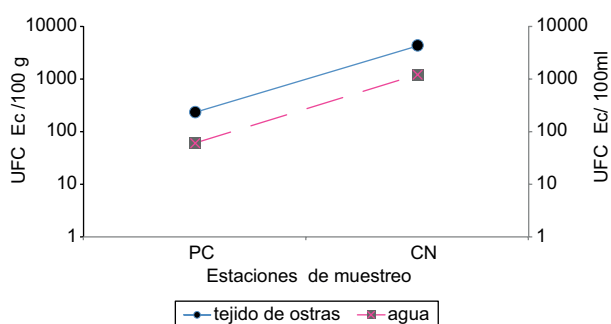


Fig. 2. Recuentos del indicador de contaminación fecal *Escherichia coli* (*Ec*) en aguas y en tejido de ostras del Club Náutico (CN) y de Puerto Cuatros (PC). Los resultados se expresan como medias geométricas de las unidades formadoras de colonias (UFC) por 100 mL de agua o 100 g de tejido de ostras. Las diferencias entre las estaciones en ambas matrices son altamente significativas ($p < 0.01$).

Ec fueron mayores a lo establecido por la legislación vigente en Argentina (230 *Ec*/100 g), por lo cual, no serían aptas para consumo humano. La prueba t mostró diferencias altamente significativas entre los sitios muestreados para *Ec* en el tejido de ostras y en el agua ($p < 0.01$) (**Cuadro Ia, b y Fig. 2**). El alto índice de bacterias indicadoras de contaminación fecal en las ostras puede ser atribuido a que la zona está siendo afectada por el volcado de efluentes cloacales crudos. A esto se suma la capacidad concentradora de los moluscos bivalvos (Graü et al. 2004). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) (**Cuadro Ic**) para los recuentos de *Ec* entre los sedimentos de los sitios muestreados. Como se observa en la **figura 3**, los recuentos de *Ec* en sedimentos de ambas estaciones fueron superiores a los de agua. Los valores en CN oscilaron entre 3.7×10^3 y 1×10^5 UFC/g de peso seco y en PC estuvieron entre 7×10^2 y 2.2×10^5 UFC/g. Rehmann y Soupir (2009) y Garzio-Hadzick et al. (2010), mostraron que los sedimentos albergan un mayor número de bacterias que el agua circundante, ya que en él encuentran protección y

CUADRO I. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE t A DOS COLAS. SE COMPARAN LOS RECuentOS DE *Escherichia coli* EN LAS DOS ESTACIONES DE MUESTREO Y EN LAS TRES MATRICES ESTUDIADAS

	a	b	c
Estadístico “t”	5.0857	13.8195	1.6537
p	0.0001	0.0001	0.1138

Las matrices estudiadas fueron: a) tejido de ostras, b) agua y c) sedimentos

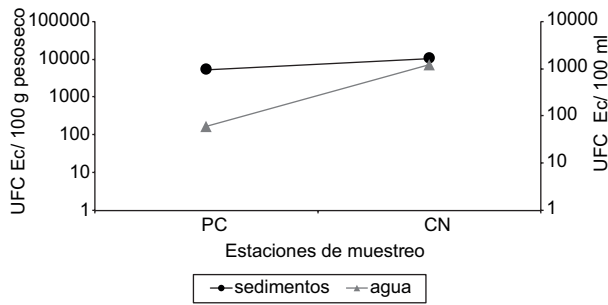


Fig. 3. Comparación de los recuentos de *Escherichia coli* en aguas y sedimentos de los sitios muestreados: Club Náutico (CN) y Puerto Cuatrerros (PC). Los resultados se expresan como medias geométricas de las unidades formadoras de colonias (UFC) por 100 mL de agua o por 100 gramos de peso seco de sedimento. Las diferencias entre las aguas de ambas estaciones son altamente significativas ($p < 0.01$), no así entre los sedimentos ($p = 0.11$).

nutrientes que aumentan su persistencia de semanas a meses. De esta forma, el sedimento constituye un reservorio potencial de bacterias fecales y patógenas (Badgley et al. 2010) que podrían resuspenderse y volver a la columna de agua por corrientes de marea o distintas actividades humanas (Dorsey et al. 2013, Brinkmeyer et al. 2015). Esto último podría explicar la similitud de resultados entre aguas y sedimentos en el CN ya que es una zona somera en donde es posible la suspensión continua de bacterias.

Salmonella spp. se detectó en el 45 % de las muestras ($n = 21$) de tejido de ostras de CN. La totalidad de las muestras de PC fueron negativas para esta bacteria. La salmonela se encuentra con frecuencia en vertidos de granjas, en las aguas residuales humanas y en cualquier material con contaminación fecal. Cortes-Lara (2003) señala que concentraciones mayores de 1000 coliformes fecales/mL aumentan 50 % la probabilidad de encontrar *Salmonella* spp. y cualquier otro patógeno de origen intestinal (bacterias, virus o parásitos).

Vibrio spp. fue detectado en las dos estaciones de muestreo durante todo el período de estudio (Fig. 4). La predominancia de *V. alginolyticus* sobre las demás especies concuerda con resultados obtenidos en estudios realizados en el mar del Caribe de Venezuela (Muñoz et al. 2012) y en el canal inglés al norte de Francia (Tall et al. 2012). Esta especie es la más abundante en el ambiente marino y es habitante recurrente en las costas de regiones templadas (Matté et al. 1994). Las vibriosis causadas por *V. alginolyticus* son esporádicas y conciernen en su mayoría a personas inmunocomprometidas, sin embargo, la importancia de su estudio se debe a la posibilidad de transferencia de genes de pato-

genicidad entre esta especie y *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* (Xie et al. 2005, González-Escalona et al. 2006, Kopprio et al. 2017).

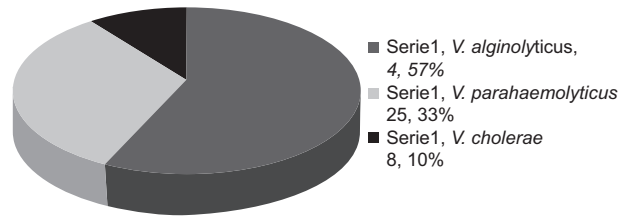


Fig. 4. Especies de *Vibrio* aisladas de aguas, sedimentos y tejido de ostras del estuario de Bahía Blanca, Argentina

Vibrio vulnificus no se encontró en ninguna de las muestras. La ausencia de esta especie en los muestreos no necesariamente determina su inexistencia en el estuario ya que Vuano (2012) la reportó con anterioridad. Esta bacteria es poco frecuente en ambientes estuarinos del sur de Argentina, como lo han demostrado investigaciones en la Patagonia, en las cuales, se identificó en muy baja proporción y asociada a microplancton (Kopprio et al. 2017).

Cuando se comparan los resultados de las aguas, los sedimentos y las ostras del estuario, se evidencia que las distintas especies están presentes en las tres matrices, salvo *V. cholerae*, que solamente se aisló del agua y de ostras (Fig. 5). El hallazgo de esta especie implica un riesgo, ya que se han reportado casos de infecciones por *V. cholerae* no-O1 y no-O139 por

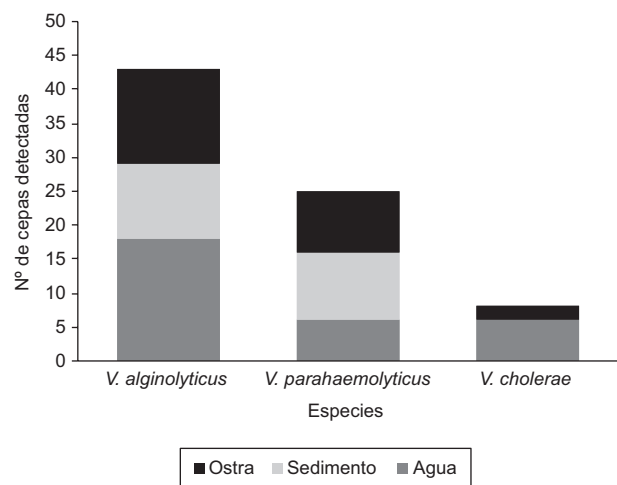


Fig. 5. Distribución de las especies de *Vibrio* en las tres matrices estudiadas.

contacto con agua de mar o consumo de pescados de las zonas costeras del mar Báltico (Lukinmaa et al. 2006). La presencia de *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* en el tejido de las ostras representa un riesgo para la salud, ya que puede ser una vía directa de transmisión a la población por consumo de los ejemplares crudos o insuficientemente cocidos.

La distribución de vibrios en las diferentes matrices según la temperatura del agua se presenta en la **figura 6**. Se observa que a bajas temperaturas se reduce la frecuencia de aislamiento del género en agua. Sin embargo, en los sedimentos y las ostras no se refleja esta tendencia, sino más bien, manifiestan cierto grado de independencia a la temperatura ambiente. Otros autores también han comprobado que la abundancia de *Vibrio* spp. en sedimentos exhibe una moderada a insignificante correlación con la temperatura y salinidad del ambiente (Blackwell y Oliver 2008, Deter et al. 2010, Johnson et al. 2010). Por otro lado, la falta de correlación entre el número de especies de *Vibrio* en las ostras y el aumento de temperatura es un hecho curioso, ya que habría de esperarse que el aumento térmico pudiera acelerar el metabolismo de las ostras estimulando su filtración y, consecuentemente, la concentración de microorganismos en sus tejidos, lo cual, coincide con lo reportado por Deter et al. (2010) y Takemura et al. (2014). La realización de estudios cuantificando bacterias en las ostras del estuario sería útil para detectar la existencia de una relación entre el número de microorganismos y la temperatura del agua.

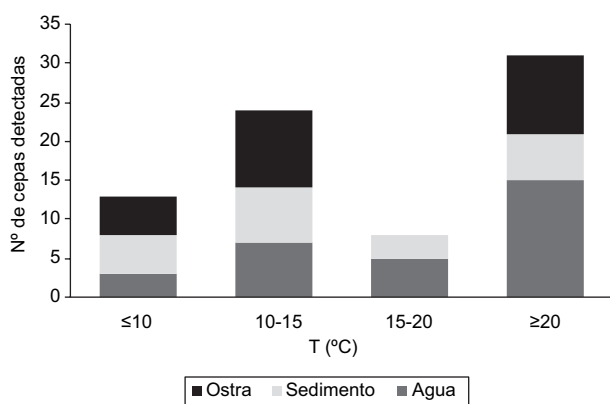


Fig. 6. Relación de la temperatura del agua con la detección de especies de *Vibrio* en las distintas matrices analizadas.

Con respecto a la evaluación de la actividad hemolítica de *V. cholerae*, se obtuvieron cuatro cepas β -hemolíticas, una α -hemolítica y tres que no

presentaron dicha actividad. Este resultado alerta sobre la potencial patogenicidad de las cepas de *V. cholerae* aisladas. La citolisina-hemolisina de *V. cholerae* (VCC) pertenece a una familia de proteínas que generan daños en la membrana celular, llamadas colectivamente toxinas formadoras de poros (Heuck et al. 2001, Tweten 2005). La VCC se encuentra tanto en los serogrupos O1 como en los no-O1 y actúa sobre un diverso grupo de células eucariotas incluyendo eritrocitos, enterocitos y linfocitos (Mazumdar et al. 2011). La VCC es capaz de causar severos efectos citotóxicos tales como lisis celular, vacuolización y aumento de la apoptosis en células del epitelio intestinal (Figuroa-Arredondo et al. 2001, Saka et al. 2008). En este estudio, la reacción de Kanagawa practicada en las 29 cepas de *V. parahaemolyticus* arrojó resultados negativos.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se confirmó la presencia de *Ec*, *Salmonella* spp. y *Vibrio* spp. en la zona interna del estuario de Bahía Blanca. Anteriormente, sólo se contaba con registros en aguas de estos microorganismos (Streitenberger y Baldini 2010, Pierini et al. 2012, Baldini y Vuano 2014). Con este estudio, se extiende la información a otras matrices como sedimentos y ostras. Estas últimas de particular interés desde el punto de vista de la salud pública, ya que pueden actuar como vehículos de transmisión de patógenos a la comunidad.

En ambas estaciones de muestreo se evidenció una acumulación de *Ec* tanto en ostras como en sedimentos, aumentando hasta un orden de magnitud con respecto a lo registrado en el agua circundante. En el CN, además de los altos valores de *Ec* en las tres matrices, se detectó la presencia de salmonelas en ostras.

En todas las matrices de las dos estaciones, se aisló alguna especie del género *Vibrio*, incluyendo a las potencialmente peligrosas para el hombre: *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*. Esto era de esperarse ya que son autóctonas y están ampliamente distribuidas en los ambientes marinos y estuarinos a nivel mundial (Lara et al. 2011, Johnson et al. 2012). Por lo tanto, es necesario aumentar los estudios de estas especies de importancia clínica e incorporar información de los factores de patogenicidad.

Si bien en la zona de Bahía Blanca no hay una explotación comercial, los bancos de ostras estudiados están en un lugar muy accesible. Esto unido a que los animales son de buen tamaño, los hace atractivos para

su recolección informal y consumo. Los resultados bacteriológicos obtenidos no cumplen, en la mayoría de los casos, con la legislación vigente de Argentina (230 *Ec*/100 g y ausencia de salmonelas en 25 g), por lo cual, representan un riesgo potencial para la salud humana por su consumo.

Se considera necesario continuar con los estudios de la calidad microbiológica de las ostras implantadas en el estuario de Bahía Blanca para generar información que provea herramientas a las instancias de control que les permita manejar y administrar adecuadamente la zona costera.

AGRADECIMIENTOS

Al Comité Técnico Ejecutivo de la Municipalidad de Bahía Blanca, que subvencionó las campañas y colaboró en la realización de los muestreos y al Lic. Ricardo Camina por el asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

REFERENCIAS

- Alsina M. y Blanch A.R. (1994). A set for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *J. Appl. Bacteriol.* 76 (1), 79-85.
DOI: 10.1111/j.1365-2672.1994.tb04419.x
- APHA, AWWA, WEF (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22 ed. American Public Health Association-American Water Works Association-Water Environment Federation, Washington, EUA, 1496 pp.
- Andersson Y. y Ekdahl K. (2006). Wound infections due to *Vibrio cholerae* in Sweden after swimming in the Baltic Sea, summer 2006. *Euro Surveill.* 11 (31), E060803.2.
DOI: 10.2807/esw.11.33.03013-en
- Badgley B.D., Nayak B.S. y Hardwood V.J. (2010). The importance of sediment and submerged aquatic vegetation as potential habitats for persistent strains of *Enterococci* in a subtropical watershed. *Water Res.* 44 (20), 5857-5866. DOI: 10.1016/j.watres.2010.07.005
- Baldini M.D. y Vuano P.A. (2014). Vibrios: antiguos patógenos nuevos desafíos. Memorias. IV Jornadas Bahienses de Seguridad Alimentaria. Bahía Blanca, Argentina. 4 al 6 de setiembre, 2014, pp. 43-54.
- Baudart J., Lemarchand K., Brisabois A. y Lebaron P. (2000). Diversity of *Salmonella* strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (4), 1544-552. DOI: 10.1128/AEM.66.4.1544-1552.2000
- Blackburn C. y McClure P. (2002). Introduction. En: Food-borne pathogens. Hazards, risk analysis and control. (C. Blackburn y P. McClure, Eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, EUA, pp. 151-175.
- Blackwell K.D. y Oliver J.D. (2008). The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina estuaries. *J. Microbiol.* 46 (2), 146-153. DOI: 10.1007/s12275-007-0216-2
- Brinkmeyer R., Amon R.M.W., Schwarz J.R., Saxton S., Roberts D., Harrison S., Ellis N., Fox Y., Diguardi K., Hochman M., Duan S., Stein R. y Elliott C. (2015). Distribution and persistence of *Escherichia coli* and *Enterococci* in stream bed and bank sediments from two urban streams in Houston, TX. *Sci. Total Environ.* 502, 650-658. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.09.071
- Caffer M.I. y Terragno R. (2008). Manual de procedimiento: diagnóstico y caracterización de *Salmonella* spp. Ministerio de Salud. Subsecretaría de Investigación y Tecnología ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Departamento Bacteriología. Servicio Enterobacterias. Buenos Aires, Argentina, 76 pp.
- Cortes-Lara M. (2003). Importancia de los coliformes fecales como indicadores de contaminación en la Franja Litoral de Bahía de Banderas, Jalisco-Nayarit. *Rev. Biomed.* 14 (2), 121-123.
- Deter J., Lozach S., Véron A., Chollet J., Derrien A. y Hervio-Heath D. (2010). Ecology of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* on the French Atlantic coast. Effects of temperature, salinity, turbidity and chlorophylla. *Environ. Microbiol.* 12 (4), 929-937. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02136.x
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C.W. (2011). Infostat software estadístico [en línea]. <http://www.infostat.com.ar> 18/04/18.
- Dos Santos E.P. y Fiori S.M. (2010). Primer registro sobre la presencia de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) (Bivalvia: Ostreidae) en el estuario de Bahía Blanca (Argentina). *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica de Uruguay* 9, 245-252.
- Dorsey J.H., Carmona-Galindo V.D., Learcy C., Huh J. y Valdez J. (2013). An assessment of fecal indicator and other bacteria from an urbanized coastal lagoon in the City of Los Angeles, California, USA. *Environ. Monit. Assess.* 185 (3), 2647-2669. DOI: 10.1007/s10661-012-2737-3
- Eijkman C. (1904). The fermentation test at 46 °C as means of testing potable water. *Centralblatt. Bakteriol. Abth. I, Orig.* 37, 742-744.
- FAO (2008). Bivalve depuration: Fundamental and Practical Aspects. Fisheries Technical Paper. No.511. Reporte Técnico. Food and Agriculture Organization

- of the United Nations. Manual. Roma, Italia, 139 pp. [en línea]. <http://www.fao.org/3/i0201e/i0201e00.htm> 30/10/2018.
- FAO (2010). Purification des coquillages bivalves: aspects fondamentaux et pratiques. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Document technique sur les pêches. No. 511. Roma, Italia, 155p.
- Figuroa-Arredondo P., Heuser J.E., Akopyants N.S., Morisaki J.H., Giono-Cerezo S., Enríquez-Rincón F. y Berg D.E. (2001). Cell vacuolation caused by *Vibrio cholerae* hemolysin. *Infect. Immun.* 69 (3), 1613-1624. DOI: 10.1128/IAI.69.3.1613-1624.2001
- Fuenzalida L., Armijo L., Zabala B., Hernández C., Rioseco M.L., Riquelme C. y Espejo R.T. (2007). *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated during investigation of the summer 2006 seafood related diarrhea outbreaks in two regions of Chile. *Int. J. Food Microbiol.* 117 (3), 270-275. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.011
- Garzio-Hadzick A., Shelton D.R., Hill R.L., Pachepsky Y.A., Guber A.K. y Rowland R. (2010). Survival of manure-borne *E. coli* in streambed sediment: Effects of temperature and sediment properties. *Water Res.* 44 (9), 2753-2762. DOI: 10.1016/j.watres.2010.02.011
- González-Escalona N., Blackstone G.M. y DePaola A. (2006). Characterization of a *Vibrio alginolyticus* strain, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (trh) of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (12), 7925-7929. DOI: 10.1128/AEM.01548-06
- González M., Graü C., Villalobos L.B., 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.
- Graü C., La Barbera A., Zepa A., Silva S. y Gallardo O. (2004). Aislamiento de *Vibrio* spp. y evaluación de la condición sanitaria de los moluscos bivalvos *Arca zebra* y *Perna perna* procedentes de la costa nororiental del estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica* 14 (6), 513-521.
- Heuck A.P., Tweten R.K. y Johnson A.E. (2001). β -barrel pore-forming toxins: intriguing dimorphic proteins. *Biochem.* 40 (31), 9065-9073. DOI: 10.1021/bi0155394
- INEI-ANLIS (2010). Manual de Procedimientos del Instituto Dr. Carlos G. Malbrán. Aislamiento, identificación, caracterización y pruebas de sensibilidad a antimicrobianos de *Vibrio cholerae*. Departamento Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina, 59 pp.
- ISO (1990). ISO 8914: 1990. Microbiology-General guidance for the detection of *Vibrio parahaemolyticus*. International Organization for Standardization. ISO Standards catalogue. Ginebra, Suiza, noviembre de 1990.
- Jeng H.A.C., Englande A.J., Bakeer R.M. y Bradford H.B. (2005). Impact of urban stormwater runoff on estuarine environmental quality. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 63 (4), 513-526. DOI: 10.1016/j.ecss.2004.11.024
- Johnson C.N., Flowers A.R., Noriega N.F., Zimmerman A.M., Bowers J.C., De Paola A. y Grimes D.J. (2010). Relationships between environmental factors and pathogenic vibrios in the northern Gulf of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (21), 7076-7084. DOI: 10.1128/AEM.00697-10
- Johnson C.N., Bowers J.C., Griffith K.J., Molina V., Clostio R.W., Pei S., Laws E., Paranjpye R.N., Strom M.S., Chen A., Hasan N.A., Huq A., Noriega N.F., Grimes D.J. y Colwell R.R. (2012). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal and estuarine waters of Louisiana, Maryland, Mississippi, and Washington (United States). *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (20), 7249-7257. DOI: 10.1128/AEM.01296-12
- Kaysner C.A. y De Paola A. (2004) *Vibrio*. En: Bacteriological manual. (U.S. Food and Drug Administration, Ed). [en línea]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-vibrio> 25/07/2018.
- Kopprio G.A., Streitenberger M.E., Okuno K, Baldini M., Biancalana F., Fricke A., Martínez A., Neogi S.B., Koch B., Yamasaki S. y Lara R.J. (2017). Biogeochemical drivers of the dynamic of *Vibrio* species in two Patagonian estuaries: current baseline and global change scenarios. *Sci. Total Environ.* 39, 646-656. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.045
- Lara R.J., Neogi S.B., Islam M.S., Mahmud Z.H., Islam S., Paul D., Demoz B.B., Yamasaki S., Nair G.B. y Kattner G. (2011). *Vibrio cholerae* in waters of the Sunderban mangrove: relationship with biogeochemical parameters and chitin in seston size fractions. *Wetl. Ecol. Manag.* 19 (1), 109-119. DOI: 10.1007/s11273-010-9204-0
- Lee R.J. y Silk K.R. (2013). Sources of variation of *Escherichia coli* concentrations in bivalve molluscs. *J. Water Health* 11 (1), 78-83. DOI: 10.2166/wh.2012.114
- Lipp E.K., Farrah S.A. y Rose J.B. (2001). Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community. *Mar. Pollut. Bull.* 42 (4), 286-293. DOI: 10.1016/S0025-326X(00)00152-1
- Lukinmaa S., Mattila K., Lehtinen V., Hakkinen M., Koskela M. y Siitonen A. (2006). Territorial waters of the Baltic Sea as a source of infections caused by *Vibrio*

- cholerae* non-O1, non-O139: report of 3 hospitalized cases. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 54 (1), 1-6.
DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2005.06.020
- Matté R., Matté M., Rivera I. y Martins M. (1994). Distribution of potentially pathogenic vibrios in oysters from a tropical region. *J. Food Prot.* 57 (10), 870-873.
DOI: 10.4315/0362-028X-57.10.870
- Mazumdar B., Ganguly S., Ghosh A.N. y Banerjee K.K. (2011). The role of C-terminus carbohydrate-binding domain of *Vibrio cholerae* haemolysin/cytolysin in the conversion of the pre-pore β -barrel oligomer to a functional diffusion channel. *Indian J. Med. Res.* 133 (2), 131-137.
- McFaddin J. F. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina, 170 pp.
- MINCETUR (2010). Guía de requisitos sanitarios y fitosanitarios para exportar alimentos a la Unión Europea. Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. Lima, Perú, 31 pp.
- Morens D. M., Folkers G. K. y Fauci A. S. (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 430 (6996), 242-249.
DOI: 10.1038/nature02759
- Muñoz D., Graü de Marín C., Marval H. y Martínez C. (2012). Identificación de bacterias del género *Vibrio* asociadas a zonas productoras de moluscos bivalvos, Estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica* 22 (5), 459-467.
- Nehring S. (2006). Four arguments why so many alien species settle into estuaries, with special reference to the German river Elbe. *Helgol. Mar. Res.* 60 (2), 127-134. DOI: 10.1007/s10152-006-0031-x
- Pascual-Anderson M. y Calderón-Pascual V. (2000). Microbiología Alimentaria Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2º edición. Díaz de Santos, S. A., Madrid, España, 441 pp.
- Pierini J.O., Streitenberger M.E. y Baldini M.D. (2012). Evaluation of faecal contamination in Bahía Blanca estuary (Argentina) using a numerical model. *Rev. Biol. Mar. Ocean.* 47 (2), 193-202.
DOI: 10.4067/S0718-19572012000200003
- Rehmann C.R. y Soupir M.R. (2009). Importance of interactions between the water column and the sediment for microbial concentrations in streams. *Water Res.* 43 (18), 4579-4589. DOI: 10.1016/j.watres.2009.06.049
- Ristori C.A., Iaria S.T., Gelli D.S. y Rivera I.N.G. (2007). Pathogenic bacteria associated with oysters (*Crassostrea brasiliensis*) and estuarine water along the south coast of Brazil. *Int. J. Environ. Health Res.* 17 (4), 259-269.
DOI: 10.1080/09603120701372169
- Saka H.A., Bidinost C., Sola C., Carranza P., Collino C., Ortiz S., Echenique J.R. y Bocco J.L. (2008). *Vibrio cholerae* cytolysin is essential for high enterotoxicity and apoptosis induction produced by a cholera toxin gene-negative *V. cholerae* non-O1, non-O139 strain. *Microb. Pathog.* 44 (2), 118-128.
DOI: 10.1016/j.micpath.2007.08.013
- SENASA (2006). Resolución SAGPyA N° 829/2006 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [en línea]. <http://nuevaweb.senasa.gov.ar/15/09/2018>.
- Shatkin G.S., Shumway S.E. y Hawes R. (1997). Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: A review of a global experience. *J. Shellfish Res.* 16 (2), 463-477.
- Silva-San Cristóbal W., Olea A., Cachicas Cubillos V., Fernández Órdenes J., Ibáñez Cabrera D., Hormazábal J.C., García Moreno J. y Maldonado Ballesteros A. (2008). Manual de procedimientos aislamiento, identificación y caracterización de *Vibrio parahaemolyticus*. Departamento Laboratorios Biomédicos, Sección Bacteriología (ISP), Departamento de Salud Ambiental, Sección Microbiología de Alimentos, División de Epidemiología (Minsal) Ministerio de Salud - Instituto de Salud Pública. Santiago, Chile, 45 pp.
- Soto Varela Z., Perez Lavalle L. y Estrada Alvarado D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Salud Uninorte* 32 (1), 105-122.
DOI: 10.14482/sun.32.1.8598
- Streitenberger M.E. y Baldini M.D. (2010). Deterioro de un área recreacional por efectos del volcado de líquidos cloacales. *Rev. Arg. Microbiol.* 42 (4), 307-310.
- Streitenberger M.E. y Baldini M.D. (2016). Aporte de los afluentes a la contaminación fecal del estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 32 (2), 243-248. DOI: 10.20937/RICA.2016.32.02.10
- Tall A., Teillon A., Boisset C., Delémont R., Touron-Bodilis A. y Hervio-Heath D. (2012). Real-Time PCR optimization to identify environmental *Vibrio* spp. strains. *J. Appl. Microbiol.* 113 (2), 361-372.
DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05350.x
- Takemura A. F., Chien D. M. y Polz M. F. (2014). Associations and dynamics of *Vibrionaceae* in the environment, from the genus to the population level. *Front. Microbiol.* 5, 38. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00038
- Troost K. (2010). Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. *J. Sea Res.* 64 (3), 145-165.
DOI: 10.1016/j.seares.2010.02.004

- Tweten R.K. (2005). Cholesterol-dependent cytolysins, a family of versatile pore-forming toxins. *Infect. Immun.* 73 (10), 6199-6209.
DOI: 10.1128/IAI.73.10.6199-6209.2005
- Vuano P.A. (2012). Detección e identificación de vibrios en aguas del estuario de Bahía Blanca. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina, 50 pp.
- Wetz J.J., Blackwood A. D., Fries J.S., Williams Z.F. y Noble R.T. (2014). Quantification of *Vibrio vulnificus* in an Estuarine Environment: a Multi-Year Analysis Using QPCR. *Estuar. Coasts* 37 (2), 421-435.
DOI: 10.1007/s12237-013-9682-4
- Xie Z.Y., Hu C.Q., Chen C., Zhang L.P. y Ren C.H. (2005). Investigation of seven *Vibrio virulence* genes among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains from the coastal mariculture systems in Guangdong, China. *Lett. Appl. Microbiol.* 41 (2), 202-207.
DOI: 10.1111/j.1472-765X.2005.01688.x