

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.  
ESCUELA DE BIOLOGÍA.



**Universidad de El Salvador**  
*Hacia la libertad por la cultura*

**“EVALUACIÓN DE CARGA MICROBIANA TERMOTOLERANTES (*Escherichia coli*) POST TRATAMIENTO DE INMERSIÓN DEL “CURIL” (*Anadara tuberculosa*), EN AGUA SOMETIDA A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO POR:  
KAREN LIZBETH FRANCO SOSA.

PARA OPTAR EL GRADO DE:  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO DE 2013.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.  
ESCUELA DE BIOLOGÍA.



**Universidad de El Salvador**  
*Hacia la libertad por la cultura*

**“EVALUACIÓN DE CARGA MICROBIANA TERMOTOLERANTES (*Escherichia coli*) POST TRATAMIENTO DE INMERSIÓN DEL “CURIL” (*Anadara tuberculosa*), EN AGUA SOMETIDA A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO POR:  
KAREN LIZBETH FRANCO SOSA.

PARA OPTAR EL GRADO DE:  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

ASESOR: \_\_\_\_\_

Dr. RIGOBERTO AYALA

ASESORA: \_\_\_\_\_

Lcda. IRIS MABEL PÉREZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO DE 2013.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.  
ESCUELA DE BIOLOGÍA.



**Universidad de El Salvador**  
*Hacia la libertad por la cultura*

**“EVALUACIÓN DE CARGA MICROBIANA TERMOTOLERANTES (*Escherichia coli*) POST TRATAMIENTO DE INMERSIÓN DEL “CURIL” (*Anadara tuberculosa*), EN AGUA SOMETIDA A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO POR:  
KAREN LIZBETH FRANCO SOSA.

PARA OPTAR EL GRADO DE:  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

JURADO: \_\_\_\_\_

Lcda. ÁNGELA GUEDELIA PORTILLO ZELAYA

JURADO: \_\_\_\_\_

M. Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA.

CIUDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO DE 2013.

## **AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

Ing. MARIO ROBERTO NIETO LOVO  
RECTOR

Dr. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA  
SECRETARIA GENERAL

Lcdo. FRANCISCO CRUZ LETONA  
FISCAL

M. Sc. MARTIN GUERRA  
DECANO FACULTAD CIENCIAS NATURALES  
Y MATEMÁTICA

Lcdo. RODOLFO MENJIVAR  
DIRECTOR DE LA ESCUELA

CUIDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO DE 2013.

**TRIBUNAL EVALUADOR**

Dr. RIGOBERTO AYALA  
ASESOR

Lcda. IRIS MABEL PÉREZ  
ASESORA

Lcda. ÁNGELA GUDÉLIA PORTILLO ZELAYA  
JURADO EVALUADOR

M. Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA.  
JURADO EVALUADOR

CIUDAD UNIVERSITARIA, FEBRERO DE 2013.

## **DEDICATORIA**

A mi prima Ana Isabel Franco, gracias por brindarme su cariño y por ayudarme en todo momento de mis estudios por sus consejos y su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios todopoderoso por darme siempre las fuerzas durante toda mi formación académica y bendecirme siempre que lo necesite, a mi padre Juan Inés Franco Enríquez por su apoyo incondicional durante todos mis estudios, a mi madre Rosa Pula Sosa de Franco por sus consejos sinceros y apoyo a mi formación como profesional, a mis hermanos por el apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

A mis asesores Dr. Rigoberto Sandoval Ayala y Lcda. Iris Mabel Pérez por el apoyo profesional y científico brindado en el desarrollo de este trabajo; así como, a los miembros del jurado evaluador, Lcda. Ángela Gudelia Portillo Zelaya y M. Sc. Zoila Virginia Guerrero Mendoza.

También quiero agradecer al Dr. Nelson Adalid Ríos Chicas, Lcdo. Vladlen Henríquez, M. Sc. Ely Heber Velásquez, Lcda. Laura Georgina Vázquez y Lcdo. Wilson Ernesto Rodríguez Pacheco a todos ellos por su aporte y ayuda que me brindaron a la realización de este estudio.

Además, manifiesto mi agradecimiento al personal de la Estación Acuícola de Moluscos de Puerto El Triunfo, y al Lcdo. Saúl Patricio Pacheco Reyes coordinador de dicha institución, a ellos por su apoyo incondicional en la ocupación de las instalaciones de los laboratorios y por su fina y valiosa colaboración prestada en el financiamiento de los análisis de laboratorio. De igual manera expreso mi gratitud a: Dr. Ricardo Miranda director del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y M. Sc. Amy Moran del Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico, por permitirme realizar los análisis microbiológicos de este estudio en las instalaciones del mismo laboratorio.

A mis amigos Lcda. Iselda Vega, Lcda. Stefany Henríquez, Lcda. Leslie Echegochen, Lcda. Delmi Palacios, Lcda. Lya Samayoa, Lcdo. Pedro Raffainer, Karla Escobar y Carolina Hernández por su aporte y apoyo brindado durante todo este estudio.

## ÍNDICE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE ANEXOS	X
RESUMEN	XI
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>i</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>26</b>
<b>III. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>27</b>
3.1 Contaminación del agua.	27
3.1.1 Autodepuración del medio marino.	27
3.2 Contaminación microbiológica.	28
3.2.1 Bacterias Coliformes.	28
3.2.2 Bacterias Coliformes Fecales.	29
3.3 Enfermedades transmitidas por moluscos contaminados.	30
3.4 Aplicación de rayos ultravioleta sobre microorganismos patógenos.	32
3.4.1 Empleo de radiación ultravioleta en la industria alimentaria.	33
3.5 Proceso de depuración o purificación de moluscos bivalvos con radiación ultravioleta.	33
3.6 Clase bivalva (Bivalvos).	35
3.6.1 Forma de alimentación.	35
3.6.2 Descripción y hábitat del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ).	36
3.6.3 Valor y contenido nutricional de los moluscos.	37
<b>IV. METODOLOGÍA</b>	<b>39</b>
4.1 Ubicación geográfica del área de estudio.	39
4.2 Fase de Campo.	39

4.2.1	Recolección y transporte de conchas al área de depuración.	39
4.2.2	Procesamiento previo a la depuración	41
4.3	Fase de Laboratorio.	42
4.3.1	Etapa de depuración: Experimentos preliminares de calibración del sistema de depuración.	42
4.3.1.1	Evaluación del tiempo de inmersión del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) del proceso de depuración.	42
4.3.1.2	Determinación de la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.	42
4.3.1.3	Extracción y procesamiento de muestras de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ).	44
4.3.2	Etapa de análisis de muestras.	45
4.3.2.1	Análisis bacteriológico de tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ).	45
4.3.2.2	Análisis bacteriológico del agua del sistema depuración	47
4.4	Análisis estadístico	49
<b>V.</b>	<b>HIPOTESIS</b>	<b>51</b>
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>52</b>
6.1	Parámetros fisicoquímicos del agua radiada con luz ultravioleta y agua superficial de los sitios de muestreos.	52
6.1.1	Temperatura y salinidad del agua superficial de los esteros.	52
6.1.2	Temperatura, salinidad y pH del agua radiada con luz ultravioleta registrada en un tanque durante los tres muestreos.	52
6.1.3	Temperatura salinidad y pH del agua radiada con luz ultravioleta registrada durante las tres pruebas.	53
6.2	Determinación de tiempo idóneo para disminución de la carga bacteriana en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) a través de tratamiento con radiación ultravioleta (UV).	55
6.2.1	Tratamiento de 24, 48 y 72 horas.	55
6.2.2	Tratamiento de 24 y 48 horas.	59
6.3	Determinación de la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.	61

6.4	Comparación del nivel de contaminación bacteriológico entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.	64
6.5	Efectividad de lámparas germicidas de luz ultravioleta UV en agua marina del sistema de depuración.	66
6.6	Comparación estadística.	68
<b>VII.</b>	<b>DISCUSION</b>	<b>74</b>
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>86</b>
<b>IX.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>88</b>
<b>X.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>90</b>
<b>XI.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>101</b>
<b>XII.</b>	<b>GLOSARIO</b>	<b>115</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

No DE CUADRO		PAGINA
<b>CUADRO 1:</b>	Valor nutricional de moluscos bivalvos (Muñoz <i>et al.</i> , 2002).	<b>38</b>
<b>CUADRO 2:</b>	Coordenadas geográficas de los sitios de muestreo, Bahía de Jiquilisco, Usulután 2012.	<b>39</b>
<b>CUADRO 3:</b>	Control de horas de repeticiones del proceso de depuración.	<b>43</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

No DE TABLA		PÁGINA
<b>TABLA 1:</b>	Temperatura (°C) y salinidad (ups) del agua superficial registrada en los diferentes sitios de estudio Las Flores y El Jobal, entre noviembre 2011 y febrero 2012.	<b>52</b>
<b>TABLA 2:</b>	Temperatura (°C) y salinidad (ups) del agua radiada con luz ultravioleta registrada en un tanque del sistema de depuración, entre, noviembre 2011 y febrero 2012.	<b>53</b>
<b>TABLA 3:</b>	Temperaturas (°C) y salinidad (ups) del agua radiada con luz ultravioleta registrada en los cuatro tanques del sistema de depuración, entre noviembre 2011 y febrero 2012.	<b>54</b>
<b>TABLA 4:</b>	Promedios de Coliformes y <i>E. coli</i> en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) obtenidos en tres muestreos para el sitio Las Flores, Bahía Jiquilisco desde noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>55</b>
<b>TABLA 5:</b>	Promedios de Coliformes y <i>E. coli</i> en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) obtenidos en tres muestreos para el sitio El Jobal, Bahía Jiquilisco desde noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>56</b>
<b>TABLA 6:</b>	Sumatoria del NMP/g de <i>E. coli</i> de los sitios Las Flores y El Jobal, Bahía Jiquilisco, obtenidos en los tres muestreos, desde noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>57</b>
<b>TABLA 7:</b>	Promedios de Coliformes y <i>E. coli</i> en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) obtenidos en los tres muestreos (Pruebas), Bahía Jiquilisco, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>59</b>
<b>TABLA 8:</b>	Promedios de Coliformes y <i>E. coli</i> en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) obtenidos en los tres muestreos (Pruebas), para los diferentes tanques del sistema de depuración, Bahía Jiquilisco, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>62</b>
<b>TABLA 9:</b>	Niveles de <i>E. coli</i> Log (NMP/100ml+1) registrados en las muestras de agua radiada con luz ultravioleta, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>67</b>
<b>TABLA 10:</b>	Comparación de medias para establecer diferencia significativa entre la carga bacteriana <i>E. coli</i> presente en las muestras de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) sometidas al tratamiento de depuración (48 horas) con las muestras no sometidas (0	<b>69</b>

horas).

<b>TABLA 11:</b>	Prueba t de Student en muestras independientes, para establecer diferencia significativa entre la carga bacteriana <i>E. coli</i> presente en las muestras de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) sometidas al tratamiento de depuración (48 horas) con las muestras no sometidas (0 horas).	<b>69</b>
<b>TABLA 12:</b>	Análisis de varianza Anova en bloques completamente aleatorio para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz UV 0 (control), 24, 48 y 72 horas.	<b>70</b>
<b>TABLA 13:</b>	Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz ultravioleta 0 (control), 24, 48 y 72 horas.	<b>70</b>
<b>TABLA 14:</b>	Análisis de varianza Anova en bloques completamente aleatorio para establecer diferencias significativas en las distintas cargas de “curiles” ( <i>A. tuberculosa</i> ) introducidas al sistema de depuración a diferente tratamiento de radiación UV 0 (control), 24 y 48 horas.	<b>71</b>
<b>TABLA 15:</b>	Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en las distintas cargas de conchas introducidas al sistema de depuración a diferente tratamiento de radiación UV 0 (control), 24 y 48 horas.	<b>72</b>
<b>TABLA 16:</b>	Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz UV 0 (control), 24 y 48 horas.	<b>72</b>
<b>TABLA 17:</b>	Comparación de medias para establecer diferencia significativa de la carga bacteriana <i>E. coli</i> en las muestras de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.	<b>73</b>
<b>TABLA 18:</b>	Prueba t de Student en muestras independientes, para establecer diferencia significativa en la carga bacteriana <i>E. coli</i> presente en el “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.	<b>73</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICO

No DE GRÁFICO		PÁGINA
<b>GRÁFICO 1:</b>	Niveles de Coliformes totales (UFC/g) promediados en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>56</b>
<b>GRÁFICO 2:</b>	Niveles de <i>E. coli</i> Log (NMP/g+1) promediados en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>58</b>
<b>GRÁFICO 3:</b>	Niveles de UFC/g de Coliformes totales, fecales y confirmación de totales promediados en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>58</b>
<b>GRÁFICO 4:</b>	Niveles de Coliformes totales (UFC/g) promediados en tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>60</b>
<b>GRÁFICO 5:</b>	Niveles de <i>E. coli</i> Log (NMP/g+1) promediados en tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>60</b>
<b>GRÁFICO 6:</b>	Niveles de UFC/g de Coliformes totales, fecales y confirmación de totales en tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>61</b>
<b>GRÁFICO 7:</b>	Niveles de Coliformes totales (UFC/g) en tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tanques del sistema de depuración, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>63</b>
<b>GRÁFICO 8:</b>	Niveles de <i>E. coli</i> Log (NMP/g+1) en tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), registrados en los tanques del sistema de depuración, de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>63</b>
<b>GRÁFICO 9:</b>	Comparación de niveles de Coliformes totales (UFC/g) registrados en los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal para tejido blando de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ), de noviembre 2011 a febrero 2012.	<b>64</b>
<b>GRÁFICO 10:</b>	Comparación de niveles de <i>E. coli</i> Log (NMP/g+1), registrados en los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal,	<b>65</b>

para tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), de noviembre 2011 a febrero 2012.

- GRÁFICO 11:** Comparación de niveles de Coliformes totales (UFC/g) fecales y confirmación totales registrado en los sitio de muestreo Las Flores y El Jobal, para el tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), de noviembre 2011 a febrero 2012. **65**
- GRÁFICO 12:** Niveles de *E. coli* Log (NMP/ 100ml+1) registrados en las muestras de agua radiada con luz ultravioleta, de noviembre 2011 a febrero 2012. **68**

## ÍNDICE DE FIGURAS

No DE FIGURA		PÁGINA
<b>FIGURA 1:</b>	Vista dorsal de “curil” <i>A. tuberculosa</i> .	<b>36</b>
<b>FIGURA 2:</b>	Mapa de la ubicación geográfica de los sitios de muestreo y la Estación Acuícola de Moluscos del Puerto El Triunfo, Bahía de Jiquilisco del departamento de Usulután.	<b>40</b>
<b>FIGURA 3:</b>	Ubicación de los sitios de muestreo.	<b>41</b>
<b>FIGURA 4:</b>	Determinación de la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.	<b>44</b>
<b>FIGURA 5:</b>	Confirmación de <i>E. coli</i> dando como positivo una fluorescencia azul lechosa intensa por medio de lámparas de radiación de luz ultravioleta.	<b>46</b>
<b>FIGURA 6:</b>	Placa Petri que muestra el color purpura de coliformes totales con un diámetro de $\pm 0,5$ mm.	<b>47</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

No DE ANEXOS		PÁGINA
<b>ANEXO 1:</b>	Extracción de “curiles” ( <i>A. tuberculosa</i> ) en sitio de muestreo Las Flores.	<b>101</b>
<b>ANEXO 2:</b>	Medición de parámetros físicos químicos del agua superficial del estero.	<b>101</b>
<b>ANEXO 3:</b>	Hoja de datos del proceso de colecta.	<b>102</b>
<b>ANEXO 4:</b>	Procesamiento previo a la depuración.	<b>103</b>
<b>ANEXO 5:</b>	Procedimiento del funcionamiento del sistema de depuración.	<b>104</b>
<b>ANEXO 6:</b>	Sistema de Depuración actual de la Estación Acuícola de Moluscos del Puerto El Triunfo (Elaborado por Franco K. 2012).	<b>105</b>
<b>ANEXO 7:</b>	Hoja de datos del proceso de inicio del sistema de depuración.	<b>106</b>
<b>ANEXO 8:</b>	Extracción y procesamiento de muestras de “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ).	<b>107</b>
<b>ANEXO 9:</b>	Análisis bacteriológico de tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ) (Elaborado por Franco K. 2012).	<b>108</b>
<b>ANEXO 10:</b>	Procedimiento del análisis bacteriológico de tejido blando del “curil” ( <i>A. tuberculosa</i> ).	<b>109</b>
<b>ANEXO 11:</b>	Tabla del número más probable para tres serie de tres tubos de 0,1, 0,01 y 0,001 g de inóculo, y un 95 por ciento de intervalos de confianza (NMP/100g) (Feng <i>et al.</i> 2002).	<b>110</b>
<b>ANEXO 12:</b>	Recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) (Elaborado por Franco K. 2012).	<b>111</b>
<b>ANEXO 13:</b>	Análisis bacteriológico del agua radiada con luz ultravioleta del sistema de depuración (Elaborado por Franco K. 2012).	<b>112</b>
<b>ANEXO 14:</b>	Tabla del número más probable para tres series de cinco tubos de 0,1, 0,01 y 0,001 g, inóculo, y un 95 por ciento de intervalos de confianza (NMP/100ml) (Feng <i>et al.</i> 2002).	<b>113</b>

## RESUMEN

Los moluscos bivalvos se alimentan por filtración logrando ingerir partículas en suspensión que pueden contener microorganismos patógenos a un nivel muy superior al de su entorno acuático, por lo tanto los riesgos de enfermedades gastrointestinales para humanos se asocian al consumo de moluscos crudos. Muchas de estas enfermedades transmitidas por moluscos se deben a bacterias entéricas asociadas con contaminación fecal. Para controlar las enfermedades transmitidas por moluscos, se ha ideado la limpieza de moluscos de los contaminantes presentes en su tejido a través de la depuración (un sistema controlado), este es un proceso que consiste en mantener a los bivalvos en tanques con agua de mar libre de contaminantes microbiológicos, en condiciones que permitan maximizar la actividad natural de filtración y expulsar así el contenido intestinal donde están presentes las bacterias nocivas para el consumo humano. La presente investigación consistió en evaluar la depuración a la que se sometió el “curil” (*A. tuberculosa*) para reducir la carga microbiana de *Escherichia coli* y Coliformes, donde los “curiles” se introdujeron en agua radiada con luz ultravioleta, bajo condiciones de temperatura, salinidad y pH, por periodos de tiempo de 24, 48, y 72 horas. Los ejemplares analizados fueron 51 muestras, 24 de ellos se extrajeron de los sitios de cultivo Las Flores y El Jobal de la Bahía de Jiquilisco, del Departamento de Usulután y el resto fueron recolectados en un establecimiento comercial de mariscos de la misma zona para determinar la capacidad máxima del sistema depurador, también se analizó 21 muestras del agua radiada con luz UV para demostrar la efectividad del sistema depurador. Las muestras colectadas de tejido de “curil” y agua de mar fueron trasladadas al Laboratorio del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, para la realización del análisis microbiológico mediante la técnica de placa vertida por medio del recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) (Cuantificación de Coliformes) y Número Más Probable (NMP/ml) (Comprobación de presencia de *E. coli*), ambas técnicas recomendadas por la Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés). Los resultados

mostraron que la carga bacteriana disminuye al transcurrir el periodo de tiempo de 24, 48 y 72 horas, obteniendo mejor resultado a las 48 horas de depuración, lográndose depurar 4,800 “curiles” (168 kg), presentándose solo el 10% de contaminación por *E. coli* en los análisis de agua de mar radiada con luz UV. El sitio con mayor contaminación por *E. coli* fue Las Flores y para Coliformes El Jobal.

## SUMMARY

Bivalve molluscs achieve nourishment by filtration, ingesting particles in suspension that carry pathogens at a level much higher than in their aquatic environment; hence the risks of gastrointestinal diseases associated with consuming raw shellfish. Many of these molluscs-borne diseases are due to enteric bacteria associated with faecal matter contamination. In order to control these diseases, molluscs are cleansed clean of contaminants through purification (a controlled system). This process consists in keeping the bivalves in tanks with clean sea water free of microbiological contamination, conditions that allow it to mimic its natural environment and maximize filtration; by way of this process intestinal content where harmful bacteria is present is thus eliminated. The investigation consisted of purifying the "curil" (*A. tuberculosa*) to reduce the microbial load of *Escherichia coli* and Coliform bacteria. The "curiles" are introduced in water radiated with ultraviolet light, under the conditions of temperature, salinity and pH. This is done for periods of 24, 48 and 72 hours. A total of 51 specimens were sampled, 24 of these were extracted from cultivation sites Las Flores and El Jobal of Jiquilisco Bay, in the Department of Usulután; the rest were collected in a commercial seafood establishment located in the same area; this was done to determine the effectiveness of the system purifier. 21 water radiated samples were also examined with UV light to demonstrate the effectiveness of the purifier. The collected tissue samples of "curil" and sea water were transferred to the University of El Salvador Centre for Health Research and Development (CENSALUD) laboratory to carry out a microbiological analysis by method of colony-forming unit (CFU/g) (quantification of Coliforms) and most probable number method (MPN/ml) (verification of presence of *E. coli*), both methodologies recommended by the Food and Drug Administration (FDA) of the United States of America. The results showed that the formation of colonies reduced in size during purification periods of 24, 48 and 72 hours that the bivalves were submitted to. The best results were obtained during 48 hours of purification, where 4,800 units of "curiles" (168 kg) were purified; of which only a 10% contamination of *E. coli* was detected in the analysis of sea water which

was subjected to UV light. The site with the highest contamination of *E. coli* was Las Flores, while El Jobal was found to have the highest numbers of Coliforms.

## I. INTRODUCCIÓN

En la costa de El Salvador, las especies pertenecientes a la familia Arcidae con importancia comercial, están representadas principalmente por “curil” (*Anadara tuberculosa*), “curililla” (*A. similis*) y “casco de burro” (*A. grandis*), siendo estos los moluscos que poseen mayor grado de aceptación dentro del mercado nacional, debido a que constituyen una fuente importante de alimento por su sabor y alto valor nutritivo, empleo y beneficios económicos para las personas que habitan en las cercanías de las zonas costeras y estuarinas de El Salvador (Vásquez *et al.*, 2009).

Sin embargo, una buena parte del “curil” (*A. tuberculosa*), que se consumen en el país es recolectado en zonas estuarinas que se encuentran contaminadas con materia fecal, como consecuencia de la descarga de aguas negras provenientes de la actividad humana (Campos, 2007). El “curil” se alimenta filtrando el agua y por lo tanto tiende a concentrar contaminantes, constituyéndose en un medio favorable para la proliferación o dispersión de microorganismos perjudiciales para la salud (Campos, 2007), en su mayoría Coliformes fecales, el cual es un grupo de bacterias que ha sido utilizado como indicador de condiciones no sanitarias, debido a que se asocia con el contenido intestinal de los vertebrados de sangre caliente, por este motivo son útiles para medir la contaminación fecal potencial (Greenberg y Hunt 1989).

El miembro del grupo Coliformes más estrechamente asociado a la contaminación fecal es *Escherichia coli*. (Greenberg y Hunt 1989). La presencia de este microorganismo, (*E. coli*) en un alimento se interpreta generalmente como contaminación directa o indirecta de origen fecal. Siendo este el causante de infecciones intestinales y extraintestinales generalmente graves, tales como infecciones del sistema excretor (Thatcher y Clark, 1972), Colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico (OMS 2012).

La alta incidencia en la transmisión de enfermedades atribuidas al consumo de bivalvos se debe a que suelen servirse vivos y enteros incluyendo su contenido estomacal e intestino, lo cual han sido considerados como un alimento no apto para el consumo humano (Fernández y Brunker, 1977; Riesco, 1996).

Por lo tanto, resulta muy importante estudiar alternativas que permitan mejorar la inocuidad de los bivalvos, una de ellas es la depuración microbiológica, que consiste en un método utilizado ampliamente por países que cultivan moluscos en grande y pequeña escala, con el fin de mejorar su calidad sanitaria si han sido cosechados en zonas contaminadas (Cantelmo y Carter 1992).

La depuración o purificación es una técnica aplicada en muchas partes del mundo para eliminar los contaminantes microbianos de aquellos moluscos bivalvos que estén ligeramente o moderadamente contaminados, sometiéndolos en tanques de agua de mar limpia para que lleven a cabo su actividad normal de bombeo (filtración) durante un período de tiempo que puede variar desde unas horas hasta varios días (Lee *et al.*, 2010).

Este método de depuración ha sido utilizado en varios países de Europa y en los Estados Unidos que cuentan con una larga experiencia en la utilización de este proceso, en el que ayudado a estos países, a superar los problemas causados por la contaminación fecal de las zonas de cría de moluscos bivalvos. La depuración también se ha practicado de manera relativamente común en Australia y Japón, y en menor medida en Nueva Zelanda, Honduras, Venezuela, España entre otros, donde se ha comprobado la efectividad de dicho proceso con diferentes tipos de depuración (Lee *et al.*, 2010 y Montiel *et al.*, 2009).

Con la aplicación de este método en el país mejorará la inocuidad del alimento y con ello disminuirá los riesgos de enfermedades gastrointestinales, esto tendría grandes beneficios, ya que permitiría una mayor comercialización y aumento de ingresos en las familias que se dedican a la extracción de “curiles”, principalmente las que viven

en la zona costera de nuestro país, ya que esta actividad es muy poco remunerada y las personas que se dedican a la extracción, son las de menos ingresos económicos en el ámbito de la pesca (Bolaños, 2006).

En la presente investigación se aplica el método de depuración por radiación del agua marina a través de luz ultravioleta, en donde fueron inmersas las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*) extraídos de la Bahía de Jiquilisco del Departamento de Usulután, por periodos de 24, 48 y 72 horas, el objetivo principal de esta investigación fue aplicar el método de depuración, para evaluar la reducción de la carga microbiana de *E. coli* en “curil” (*A. tuberculosa*) posteriormente de mantenerlos en tanques con agua de mar radiada con luz ultravioleta, y con ello determinar el tiempo más adecuado de tratamiento y al mismo tiempo, la capacidad máxima de “curiles” que el sistema depurador consigue purificar, en las condiciones de laboratorio más favorables para que el “curil” logre realizar sus funciones fisiológicas adecuadas a la depuración y pueda llevar a cabo su actividad de bombeo (filtración), y así reducir el riesgo de contraer una enfermedad microbiana en las personas que lo consumen.

Con la finalidad de lograr una reducción de la carga bacteriana fecal de las muestras y así mejorar la inocuidad de ellas mismas. Los resultados son expresados en Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) para cuantificar Coliformes y en Número Más Probable (NMP/ml) para comprobar la presencia de *E. coli*, con el propósito de cumplir los estándares de calidad sugeridos por el Reglamento Centroamericano sobre carnes de bivalvos (RTCA 67.04.50:08) 2009, de un nivel de < 3 NMP/ml de *E. coli* y de < 10 UFC/g de Coliformes autorizados por la Norma Cubana (NC) 38-02-14. 1992, y así puedan ser consumidos sin ningún riesgo para la salud humana, contribuyendo a la disminución de enfermedades gastrointestinales en la población.

Además esta investigación genera información a instituciones como el Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA), el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales (MARN), así como también a la población consumidora y a la

encargada de la extracción y comercialización de bivalvos, sobre el efecto positivo del método de depuración de los moluscos bivalvos contaminados por patógenos bacterianos, de manera que se implemente y se ponga en práctica dicho método con el fin que se reduzca las enfermedades gastrointestinales y darle al producto un valor agregado.

## II. OBJETIVOS.

### General:

- Evaluar la carga microbiana termotolerantes (*E. coli*) en “curil” (*A. tuberculosa*) post inmersión en agua sometida a radiación ultravioleta.

### Específicos:

- Demostrar la efectividad del proceso de depuración en “curil” (*A. tuberculosa*).
- Determinar el tiempo idóneo de tratamiento con radiación ultravioleta para disminuir la carga bacteriana en “curil” (*A. tuberculosa*).
- Relacionar los parámetros físicos-químicos con la efectividad del proceso de depuración post inmersión del “curil” (*A. tuberculosa*) en agua tratada con radiación ultravioleta.
- Comparar el nivel de contaminación (*E. coli*) entre los dos sitios de muestreo.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 CONTAMINACIÓN DEL AGUA.

Los usos del agua para otros fines que no sean de consumo, por ejemplo la recreación, la agricultura y acuicultura están contribuyendo significativamente a la eutrofización y la introducción de agentes infecciosos, la contaminación del agua debido a estos usos presenta una gran fuente de peligro a la salud humana. Por ejemplo, la contaminación de mariscos es una de las mayores causas del cólera en las regiones costeras de países en vías de desarrollo (Ford, 1993).

La exposición humana a agentes infecciosos y compuestos químicos tóxicos puede ocurrir por medio de la ingestión directa de agua, mariscos (principalmente bivalvos) y otros alimentos cosechados en aguas contaminadas o irrigados, lavados o preparados con ellas (Havelaar *et al.*, 2001).

Los bivalvos son reconocidos como portadores potenciales de bacterias, virus, protozoos, platelmintos, y otros patógenos asociados a las heces fecales. Estos moluscos guardan una estrecha relación con la calidad de las aguas donde habitan; ya que, incorporan los diversos microorganismos en sus tejidos (Melara, 2006).

En El Salvador, la calidad del agua en la región hidrográfica de la Bahía de Jiquilisco, según el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN, 2011) se ve afectada principalmente por los altos niveles de Coliformes fecales que oscilan entre 2800 y 1700000 NMP/100 ml.

##### 3.1.1 Autodepuración del medio marino.

Cuando el agua residual es vertida a un curso de agua, se provoca la perturbación general del ecosistema, tanto en el plano fisicoquímico como en el biológico. La naturaleza trata de limitar del desequilibrio producido, llevando a cabo una serie de

reacciones espontáneas de los factores bióticos y abióticos que intentan que el curso de agua vuelva al equilibrio ecológico inicial (Félez, 2003).

Según Kopta (1999), los factores bióticos y abióticos se conocen como los mecanismos de autodepuración que se llevan a cabo en el medio marino, los cuales se comprenden como bióticos; los que por la acción de los microorganismos, la materia orgánica que contamina el agua se transforma en diferentes sustancias según las características de la población bacteriana. Las bacterias aerobias (consumidoras de oxígeno) transforman los detritos animales y vegetales en sustancias inorgánicas no tóxicas, tales como dióxido de carbono, nitratos, sulfatos y fosfatos, que son utilizados por las plantas como nutrientes. Y abióticos; se entiende como los componentes fisicoquímicos que dependen no sólo de la naturaleza del contaminante y de su capacidad de dilución, dispersión y sedimentación, sino que además están influenciados por la dinámica del medio receptor y por las reacciones químicas (redox, precipitación, adsorción, etc.) que sean capaces de producirse en el medio (Seoáñez *et al.*, 2000).

## **3.2 CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA.**

### **3.2.1 Bacterias Coliformes.**

Los coliformes, no es una clasificación taxonómica sino más bien una definición de trabajo usada para describir a “un grupo de bacterias en forma de bastón aeróbicas y anaeróbicas facultativas Gram-negativas, no esporuladas, negativas a la citocromo-oxidasa, que fermentan la lactosa con formación de gas a una temperatura de 35°C en 48 horas”. Aplicando este criterio crecerán en el medio de cultivo algunas bacterias de los géneros: *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, entre otros, estos medios pueden ser: Caldo Lactosado o Caldo Bilis Verde Brillante. La prueba de coliformes totales positiva indica la probabilidad de que entre los coliformes aislados se encuentre *E. coli* (Prescott *et al.*, 1996).

Este grupo (coliformes) ha sido utilizado como indicador de condiciones no sanitarias, debido a que se asocia con el contenido intestinal de los vertebrados de sangre caliente, es decir, homeotermos (Prescott *et al.*, 1996). Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo se deduce, que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales (Dufour y Ballentine 1986; Feng *et al.*, 2002),

La denominación genérica “coliformes”, designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos (Cliver, 1998). Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican, en productos alimenticios que han recibido un tratamiento térmico (pasteurización, horneado, cocción, etc.). También se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias (Camacho *et al.*, 2009).

### **3.2.2 Bacterias Coliformes Fecales.**

Según Prescott *et al.*, (1996), las bacterias Coliformes fecales conforman un subgrupo de las bacterias coliformes totales, presentando características similares, excepto que toleran y crecen a una temperatura mayor; (44 – 45°C) por esta característica de cultivo se denominan termotolerantes, generando indol a partir de triptófano. Los organismos que poseen estas propiedades son considerados presuntos de *E. coli* (World Health Organization, Pan American Health Organization, 1988).

*E. coli* es un bacilo corto, Gram negativo, anaerobia facultativa que se encuentra clasificado dentro de la familia Enterobacteriaceae (bacterias entéricas), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales (Camacho *et al.*, 2009) así mismo es esencial para la digestión de los alimentos y la producción de las vitaminas B y K, manteniendo la fisiología del huésped sano (Feng *et al.*, 2002), no obstante,

debido a mutaciones e intercambio genético entre las cepas, han aparecido variantes patógenas causantes de diarrea, las cuales se clasifican en seis categorías: enterohemorrágica, enterotoxígenas, enteroinvasoras, enteropatógenas, enteroagregativas y de adherencia difusa (Darner, 2011). La *E. coli*, crece muy bien en medios de gran simplicidad; fermenta la lactosa y forma un brillo verdoso sobre el agar de eosina y azul de metileno; tiene actividad de descarboxilasa de lisina; utiliza el acetato como única fuente de carbono e hidroliza el triptófano para formar indol (Stuart, 2000).

La presencia de *E. coli*, en un alimento se interpreta generalmente como contaminación directa o indirecta de origen fecal, basándose que es abundante en heces humanas y animales y, que no se encuentra en otros nichos. Por ello, *E. coli* es el indicador clásico de la presencia simultánea de bacterias patógenas entéricas, entre ellas *Salmonella typhi*, otras *Salmonella*, *Shigelas*, *Vibrios*, parásitos diversos agentes de zoonosis y virus entéricos (Feng *et al.*, 2002).

Según la FAO/OMS (2006), los brotes de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAS) en los que intervienen agentes como *E. coli*, *Salmonella* y contaminantes químicos ponen de manifiesto los problemas existentes de inocuidad de los alimentos y aumentan la preocupación pública de que los modernos sistemas de producción agrícola, elaboración y comercialización, no ofrezcan garantías adecuadas para la salud pública.

### **3.3 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR MOLUSCOS CONTAMINADOS.**

En El Salvador el consumo de alimentos populares en el ambiente rural y urbano producen enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) como los mariscos, en la costa salvadoreña del pacífico, los ríos y lagos proveen una gran variedad de pescados, moluscos y crustáceos que se consumen comúnmente como entrada o plato principal bajo la forma de cócteles y cebiches. Los más comunes son los cócteles de concha o camarón, en estos casos, la mayoría de alimentos consumidos,

especialmente aquellos que se consumen crudos, se ven expuestos a contaminación por las condiciones ambientales de su procedencia de origen, de los establecimientos, la deficiente calidad del agua y por ser preparados por personas que carecen, en su mayoría, de la capacitación adecuada para preparar y manipular alimentos en precarias condiciones de higiene y que, sin saberlo, pueden ser portadores de microorganismos de alto riesgo para la salud de los consumidores (Kopper *et al.*, 2009).

También estos alimentos, están expuestos a otro tipo de contaminación física, química o biológica como en el caso de microorganismos, parásitos y sustancias tóxicas. La alteración de un alimento depende de factores relacionados principalmente con la cantidad de nutrientes que contiene, el pH, el agua, las condiciones ambientales como humedad, temperatura. En cualquiera de esas etapas el alimento puede ser alterado y constituir un riesgo para el consumidor llegando a ocasionar brotes de las enfermedades conocidas como Enfermedades Transmitidas por Alimentos (Kopper *et al.*, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como: el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (por ejemplo: bacterias o parásitos) o no biológicos (por ejemplo plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de un grupo de personas (OPS/OMS, 1997).

Algunos alimentos populares incluyendo los moluscos, presentan algunas condiciones de alto riesgo, debido a las características intrínsecas del alimento, los principales peligros asociados al consumo de moluscos se derivan de la contaminación microbiológica de las aguas donde se crían, sobre todo cuando los moluscos bivalvos se destinan al consumo en crudo (Lee *et al.*, 2010).

Dado que los moluscos son filtradores, ellos concentran contaminantes a un nivel muy superior al de su entorno acuático. Muchos de estos contaminantes microbiológicos son patógenos, como los virus que provocan gastroenteritis y hepatitis infecciosa o las bacterias que causan fiebre tifoidea, se relacionan normalmente con una contaminación por aguas fecales humanas. Otros, como las bacterias que causan gastroenteritis (*Salmonella* no tifoideas y *Campylobacter*), pueden estar asociados a aguas fecales humanas o animales. Estas últimas también pueden contaminar las zonas de cultivo de moluscos a través de las escorrentías en los periodos de lluvia (Lee *et al.*, 2010).

El FDA (2002), supone que la flora microbiana de los moluscos varía considerablemente, dependiendo de la calidad del agua en la que estos moluscos son capturados, lavados y de otros factores.

### **3.4 APLICACIÓN DE RAYOS ULTRAVIOLETA SOBRE MICROORGANISMOS PATÓGENOS.**

De las diversas radiaciones electromagnéticas, la más utilizada es la radiación ultravioleta, la radiación con longitudes de onda (UV) próximas a los 260 nm es absorbida en gran cantidad y, por lo tanto, es la más bactericida (Frazier y Westhoff 1993).

La intensidad de los rayos al llegar al organismo, el tiempo durante el cual actúan, y la situación del organismo, determinan el efecto germicida. Cada especie microbiana tiene un grado de resistencia característico a la radiación ultravioleta. Este grado de resistencia es en función de la fase de crecimiento y del estado fisiológico de las células microbianas (Frazier y Westhoff 1993).

### **3.4.1 Empleo de radiación ultravioleta en la industria alimentaria.**

Según Frazier y Westhoff (1993), la radiación ultravioleta ha sido la que más se ha empleado en la industria alimentaria, siendo su aplicación entre las más comunes las lámparas germicidas.

Estudios de Kely en 1961, señala buenos resultados en el empleo de rayos ultravioleta como ejemplo en el tratamiento del agua dulce destinada a la fabricación de bebidas, en agua de mar para depuración de mariscos, la maduración de las carnes, el tratamiento de las cuchillas que se emplean para cortar el pan, entre otras.

### **3.5 PROCESO DE DEPURACIÓN O PURIFICACIÓN DE MOLUSCOS BIVALVOS CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.**

La depuración (purificación) es una técnica aplicada en muchas partes del mundo para eliminar los contaminantes microbianos de aquellos moluscos bivalvos que estén ligeramente o moderadamente contaminados, poniéndolos en tanques de agua de mar libre de contaminantes microbianos, para los moluscos lleven a cabo su actividad normal de bombeo durante un período de tiempo que puede variar desde unas horas hasta varios días (Lee *et al.*, 2010).

Según Montiel *et al.*, en el 2009, el proceso de depuración utilizando radiación ultravioleta en el agua, se realiza con el fin de eliminar, de forma natural a los microorganismos presentes en moluscos bivalvos, los cuales han sido acumulados por su proceso de filtración.

El 6° Simposio Brasileiro de Captacao en Manejo de Agua de Chuva en el 2007, consideraron que la desinfección del agua se refiere a la destrucción de organismos causantes de enfermedades o patógenos presentes en ella y para impedir la diseminación de enfermedades de transmisión hídrica.

Así mismo, SEAFISH en 1999, menciona que la purificación (o depuración) es un proceso a corto plazo que es utilizado para quitar niveles bajos de contaminación bacteriológica. Este método no es completamente efectivo en quitar contaminación vírica, química o de toxinas producto de algas, el proceso de purificación es conveniente sólo para moluscos capaces de ser manejados sin morir, consiste en sumergirlos en condiciones convenientes de agua de mar limpia por un determinado tiempo suficiente para que los patógenos puedan ser eliminados por la actividad normal de los moluscos.

Una depuración efectiva requiere que los moluscos se manipulen adecuadamente durante la recolección, el transporte y el almacenamiento previos a la depuración. Asimismo, se requiere un diseño y funcionamiento adecuados para cumplir los requisitos para la eliminación y separación de contaminantes (Lee *et al.*, 2010).

Esta purificación puede realizarse en tanques artificiales de purificación o trasladándolos a áreas naturalmente limpias. Después de la purificación, los moluscos deben encontrar un estándar microbiológico reglamentario, el cual para El Salvador es de < 3 NMP de *E. coli* (RTCA 67.04.50:08, 2009).

La eficacia de la utilización del proceso de depuración en moluscos se ha demostrado en diferentes países como: Venezuela realizado por Montiel *et al.*, en el 2009 donde utilizaron *P. solida* para la depuración bacteriana con luz UV durante 48 y 72 h, la tasa de remoción bacteriana de coliformes totales, fecales, estreptococos fecales y enterococos en *P. solida* fue eficiente en un 80%, alcanzando una calidad bacteriológica adecuada para el consumo humano.

En Costa Rica en 1997, se evaluaron métodos sencillos de depuración utilizando el ácido acético para probar el efecto en la eliminación de *E. coli* y la presencia de *Salmonella* spp., el ácido acético permitió establecer un método artesanal para la depuración de “curiles” (*A. tuberculosa*), dicha eliminación fue más importante en las

primeras 24 horas, tiempo que se definió como el adecuado para aplicar el procedimiento establecido (Wong *et al.*,1997).

### **3.6 CLASE BIVALVA (BIVALVOS).**

Según Carginn y Sarasquete (2008), estos bivalvos presentan simetría bilateral sin una bolsa visceral dorsal. El tegumento forma, a ambos lados, un pliegue o manto que envuelve al cuerpo y sobre el que se desarrolla una concha con dos valvas (bivalvos). También son acéfalos, ya que no presenta una cabeza formada. El pie esta comprimido lateralmente en forma de hacha, es por eso que son conocidos como pelecípodos. Sus branquias, tienen forma de lámina muy desarrollada (lamelibranquios), son excavadores y acuáticos.

#### **3.6.1 Forma de alimentación.**

Se conocen como lamelibranquios, a un grupo de bivalvos protobranquios que evolucionaron su forma de alimentación, donde las branquias y la corriente de ventilación de los protobranquios sufrieron una preadaptación para alimentarse por filtración, lo que dio lugar a los bivalvos filtradores (Barnes, 1989).

Los bivalvos filtradores se alimentan removiendo el material particulado que se encuentra suspendido en el agua, el que además de fitoplancton incluyen partículas inertes que componen el detritus, pudiendo ser este último de origen orgánico o inorgánico (Maeda, 2002).

Según Méndez *et al.*, (2012) estos organismos tienen sus filamentos (que antes formaban las branquias) alargados y plegados en forma de “W”, siendo el vértice central superior el eje de la branquia del que salen dos ramas descendentes y luego otras ascendentes, más cercanas al manto, y sus interconexiones dan a la branquia un aspecto de lamina a lo que se debe que a estos bivalvos se les denomina lamelibranquios, que significa “branquia laminar”. Existen cuatro amplias superficies filtradoras (lamelas), dos en cada hemibranchia (Barnes, 1989).

Los cilios frontales transportan las partículas retenidas por los filamentos, mientras que los laterales continúan batiendo para mantener la corriente de agua. En la superficie de la lamina branquial hay una serie de conductos o surcos alimentarios donde acaban llegando las partículas retenidas por los cilios y envueltas en mucus y que conducen a los palpos labiales; se realiza entonces una selección previa de la comida conjunta entre branquias y palpos, de forma que las partículas mas pequeñas son pasadas a la boca y las mas grandes eliminadas junto con el mucus formado unas pseudoheces que son expulsadas a la zona inhalante y expulsadas cada cierto tiempo (Méndez *et al.*, 2012).

### 3.6.2 Descripción y hábitat del “curil” (*A. tuberculosa*).

Distribución: Océano Pacífico (desde México hasta Perú) Talla: máxima 8 cm, promedio hasta 6 cm. Hábitat: vive casi completamente enterrado en el fango, desde la zona intermareal hasta unos 5 metros de profundidad. Abundante en pantanos de manglares (Figura 1) (Galdámez *et al.*, 2007). Lugares de ocurrencia en el país: Barra de Santiago, Estero de Jaltepeque, Bahía de Jiquilisco, Estero El Espino, Estero El Encantado, Estero El Tamarindo, Bahía de La Unión (Barraza, 2006).



Figura 1: Vista dorsal del “curil” *A. tuberculosa*.

### **3.6.3 Valor y contenido nutricional de los moluscos.**

Según la Organización Mundial de la Salud, los alimentos son la principal fuente de macro y micronutrientes que los seres vivos necesitan para vivir, desarrollarse y llevar a cabo todas las funciones vitales (Kopper *et al.*, 2009).

Los moluscos son reconocidos por su alto valor nutritivo (Cuadro 1), ya que presentan proporciones considerables de vitaminas, sobre todo del complejo B (tiamina o B1, riboflavina o B2, piridoxina o B6 y cobalamina o B12), A y D (CICE, 2005).

Así mismo James, (2000), considera que los moluscos se diferencian en cuanto a su composición química de teleósteos y de los crustáceos por tener un contenido importante de carbohidratos y una menor cantidad total de nitrógeno en su carne, puesto que el carbohidrato se encuentra en gran parte en forma de glucógeno, y con mayor cantidad, es de esperar que existan actividades fermentativas como parte de la alteración microbiana.

Según Cifuentes *et al.*, (1997) los moluscos contienen compuestos glicerofosfóricos, cloruros y proteínas en cantidades adecuadas y de fácil digestión. Las proteínas que están presentes son digeribles casi en un 100%, contra el 63% de las de carne de res. Algunos moluscos, como las ostras, poseen altas cantidades de yodo, compuesto que interviene en el funcionamiento de la tiroides; antianémicos como el cobre y el hierro.

Las carnes de los moluscos contienen niveles elevados de bases nitrogenadas, más o menos como en otros mariscos. De especial interés en el tejido muscular de los moluscos es el contenido de arginina, y de los ácidos aspártico y glutámico libres, mayor que los que se encuentran en el pescado. Es por ello que los moluscos son vulnerables a la alteración por contaminantes; por el alto contenido de materiales de carbohidrato, con respecto a otros alimentos marinos (James, 2000).

Cuadro 1. Valor nutricional de moluscos bivalvos (Muñoz *et al.*, 2002).

Nutrientes	Contenido peso en 100 g	Nutrientes	Contenido peso en 100 g
<b>Elementos principales</b>		<b>Ácidos grasos</b>	
Energía	68	Saturados	0.70
Humedad	282	Monoinsaturados	0.20
Fibra dietética	80.80	Poliinsaturados	0.10
Hidratos de C (como glucosa)	0.00	Linolenico	0.10
Proteínas	1.30	Eicopentaenoico	-
Lípidos totales	14.00	Docosahexaenoico	0.01
<b>Minerales</b>		Colesterol	0.01
Calcio	31.00	<b>Vitaminas</b>	
Fosforo	168.00	Ac. Ascórbico	0.00
Hierro	3.40	Tiamina	-
Magnesio	51.00	Riboflavina	-
Sodio	36.00		
Potasio	235.00		
Zinc	1.70		

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE ESTUDIO.

Las muestras (conchas), se colectaron en la Bahía de Jiquilisco, ubicada a 97 kilómetros de San Salvador, en la costa sur del Departamento de Usulután. La bahía limita con 5 Municipios: Jucuarán, Usulután, San Dionisio, Puerto El Triunfo y Jiquilisco (Figura 2).

Análisis de laboratorio, se dividió en dos etapas: **A) Etapa de Depuración**, se realizó en la sala de depuración de la “Estación Acuícola de Moluscos” dependencia del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), la cual se encuentra ubicada en el municipio del Puerto El Triunfo en el departamento de Usulután a 110 Km de San Salvador, a 13°16'28.6" N y 88°33'16.5" O a 6 m.s.n.m. (Figura 2). **B) Etapa de Análisis de Muestras**, se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, en el departamento de San Salvador, final 25 Avenida Norte, ubicada a 13°43'06" N y 89°12'11"O a 705 m.s.n.m.

### 4.2 FASE DE CAMPO

#### 4.2.1 Recolección y transporte de conchas al área de depuración.

Las muestras se colectaron en dos sitios específicos de la Bahía de Jiquilisco, los cuales fueron escogidos por ser viveros y por su comercialización constante (Cuadro 2 y fig. 2).

Cuadro 2: Coordenadas geográficas de los sitios de muestreo, Bahía de Jiquilisco, Usulután 2012.

SITIOS DE MUESTREO	LATITUD	LONGITUD	ALTITUD
	NORTE	OESTE	(msnm)
Las Flores (LF)	13° 16' 29"	88° 33' 27"	6
El Jobal (EJ)	13° 15' 3.6"	88° 35' 43.1"	6

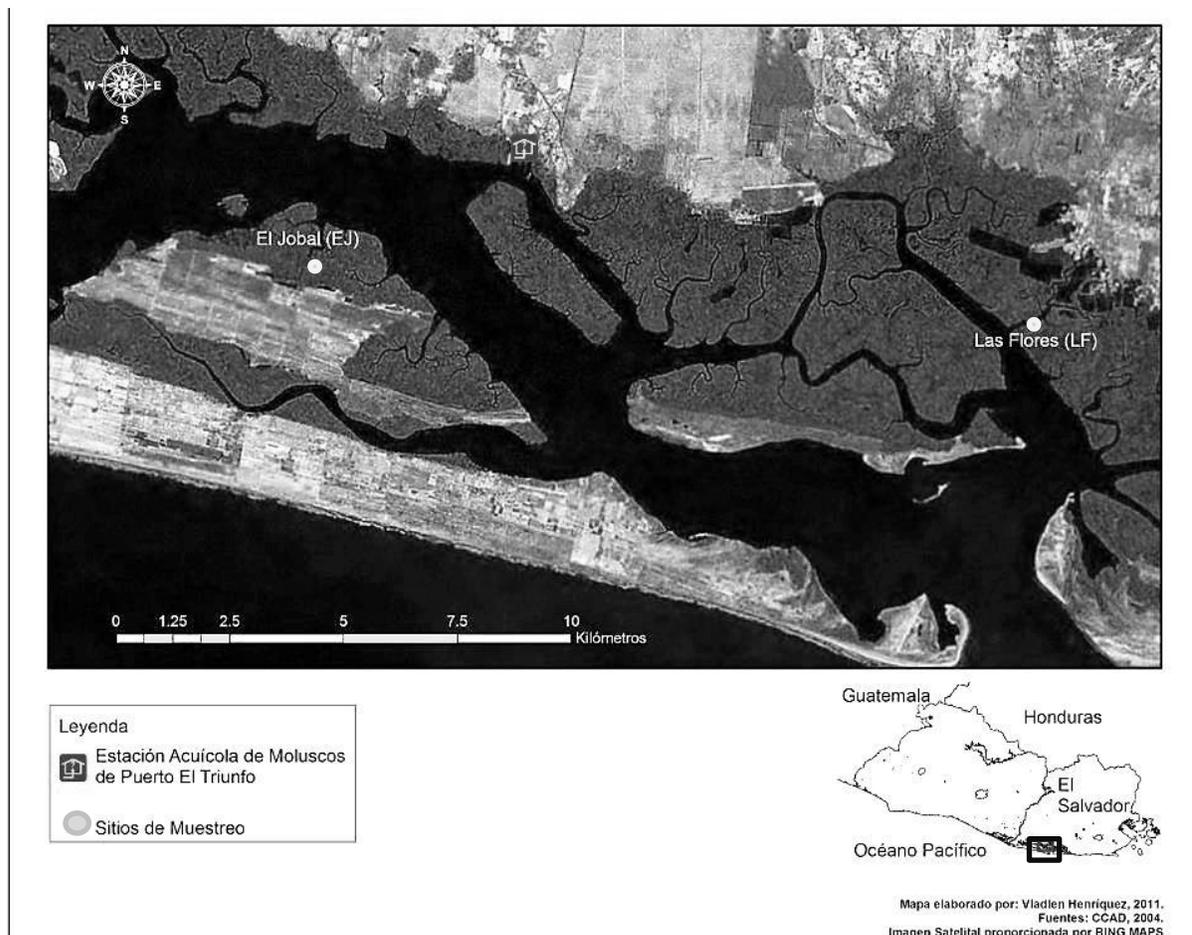


Figura 2: Mapa de la ubicación geográfica de los sitios de muestreo y la Estación Acuícola de Moluscos del Puerto El Triunfo, Bahía de Jiquilisco del departamento de Usulután.

Se realizaron 8 viajes, uno de reconocimiento del lugar, otro de ensayo y 6 de muestreo de las zonas de extracción, entre el mes de noviembre 2011 a febrero de 2012. En cada sitio seleccionado, se realizó la extracción de 40 “curiles” (*A. tuberculosa*) (Ver anexo 1) por cada uno de los 3 muestreos (Figura 3), Haciendo un total de 240 individuos, tal como lo recomienda el Programa Regional para el Biomonitorio de Contaminantes en Moluscos y Peces RLA/5/054 (ARCAL) (2009).

Con el objetivo de determinar la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración se realizaron tres pruebas en 3 muestreos, colectándose 91 kg (2,600 unidades de “curiles”) aproximadamente por cada muestreo, como se menciona posteriormente, estos fueron proporcionados por un comerciante del Puerto Triunfo.

Obteniendo un total de 7,820 “curiles” aprox. durante todo el estudio, de los cuales el número de muestra que se utilizó fue de 10 “curiles” (*A. tuberculosa*) por sitio y tanque. Las muestras obtenidas poseían una talla de 4.5 centímetros en promedio (talla comercial legal) y fueron colectados manualmente con ayuda de curileros.



a. Las Flores.



b. El Jobal.

Figura 3: Ubicación de los sitios de muestreo.

En cada sitio de muestreo se midieron los siguientes parámetros físicos químicos del agua: salinidad mediante un refractómetro y temperatura del agua superficial con un termómetro ambiental (Ver anexo 2), ambos de la marca Horiba, y se anotaron en una hoja de datos (Ver anexo 3), esto para conocer las condiciones naturales de procedencia de los “curiles” y así ajustar los parámetros físico químico del proceso de depuración a las del sitio de recolección.

Se tomaron notas de campo y descripción de los “curiles” en una hoja de datos, (Ver anexo 3). Los “curiles” obtenidos fueron colocados en una hielera y fueron trasladados a la sala de depuración de la Estación Acuícola de Moluscos del Puerto el Triunfo, dentro de un periodo máximo de cuatro horas posterior a la colecta.

#### **4.2.2 Procesamiento previo a la depuración.**

Para eliminar lodo, arena u otros contaminantes los “curiles” fueron lavados con agua de chorro previamente a la depuración y se descartaron aquellos individuos muertos,

con conchas rotas o quebradas (Ver anexo 4). Se colocaron en canasta de plástico dentro del sistema. El tiempo desde la extracción en cada sitio hasta el proceso de depuración de los moluscos no fue mayor de 24 horas.

### **4.3 FASE DE LABORATORIO.**

#### **4.3.1 Etapa de depuración: Experimentos preliminares de calibración del sistema de depuración.**

##### **4.3.1.1 Evaluación del tiempo de inmersión del “curil” (*A. tuberculosa*) del proceso de depuración.**

Se realizaron 3 repeticiones donde se sometieron 40 “curiles” provenientes de cada sitio seleccionado, se utilizaron 4 lapsos de tiempo: 0 (control), 24, 48 y 72 horas, al transcurrir el tiempo designado se extrajeron 10 “curiles” por cada sitio (Ver anexos 5 y 6), se procedió a la extracción del tejido blando, se mantuvieron a una temperatura de 4 °C. Las muestras fueron trasladadas el mismo día que finalizó cada lapso de tiempo designado al Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico, CENSALUD donde se realizó el análisis microbiológico.

En cada prueba se tomaron datos de los parámetros físicos químicos del agua ya irradiada con luz UV, tales como temperatura, salinidad y pH (con un Phidion papers 1 a 12) con el fin de conocer si existe relación con la efectividad del proceso de depuración, se anotaron en una hoja de datos (Ver anexo 7).

##### **4.3.1.2 Determinación de la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.**

Las conchas (curiles) utilizadas en esta prueba fueron proporcionados por un comerciante de Puerto el Triunfo, esto para determinar la cantidad de “curiles” que se pueden depurar en el sistema de depuración simultáneamente que se evaluaba el tiempo idóneo de 24 y 48 horas de inmersión, se realizaron 3 pruebas, donde se colocaron 3.5 kg en biomasa (de 80 a 100 “curiles” aprox.) en cada canasta,

distribuyéndolas de la siguiente forma; 4 canastas en el primer tanque, 6 en el segundo, 9 en el tercer y 12 en el cuarto tanque del sistema de depuración, obteniendo un total de 2,460, 2,520, y 2,600 "curiles" para el 4°, 5° y 6° muestreo respectivamente (Figura 4), al transcurrir el tiempo designado se extrajeron al azar 10 "curiles" aprox. de los canastos de cada tanque (Ver anexos 5, 6 y cuadro 3). Se procedió a la extracción del tejido blando de las muestras, manteniéndose a una temperatura de 4 °C y fueron trasladadas al Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico, CENSALUD para la realización del análisis microbiológico, el mismo día que finalizó cada lapso de tiempo designado.

Cuadro 3: Control de horas de repeticiones del proceso de depuración.

Tiempo (h)	Número de tanques	Número de canastas por cada tanque	Número de repeticiones	Número de muestra por prueba	Total de individuos por tanque.
0 (control)			3	10	
24			3	10	400
48	1	4	3	10	
0 (control)			3	10	
24			3	10	600
48	2	6	3	10	
0 (control)			3	10	
24			3	10	900
48	3	9	3	10	
0 (control)			3	10	
24			3	10	1,200
48	4	12	3	10	
<b>TOTAL</b>	<b>4</b>	<b>31</b>	<b>36</b>	<b>360</b> individuos aprox.	<b>9,300</b> individuos aprox.



a. Tanque con 4 bandejas



b. Tanque con 12 bandejas

Figura 4: Determinación de la capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.

#### 4.3.1.3 Extracción y procesamiento de muestras de “curil” (*A. tuberculosa*).

Se realizó en la Estación Acuícola del Puerto El Triunfo, utilizando la misma metodología por Campos (2007). La cual consistió en: Lavar las muestras con detergente biodegradable (Alconox), luego se lavaron rápidamente con hipoclorito de sodio (10%), y con suficiente agua potable, y finalmente se procedió a la apertura del bivalvo con un cuchillo estéril.

El tejido blando fue extraído con pinzas previamente esterilizadas con hipoclorito de sodio (10%) y lavadas con agua estéril. El lavado de equipo de disección se realizó cada vez que se utilizó para evitar contaminación cruzada.

Se envolvieron 25 g de tejido húmedo y jugos de los bivalvos en doble papel aluminio libre de contaminantes, luego se colocaron en doble bolsas plásticas esterilizadas tipo “Ziploc” debidamente etiquetadas y se transportaron a una temperatura de (4 °C) (RLA/5/054 ARCAL, 2009) al Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico, CENSALUD, en un tiempo máximo de 6 horas donde posteriormente se realizó la fase de evaluación microbiológica de *E. coli* (Ver anexo 8).

### **4.3.2. Etapa de análisis de muestras.**

#### **4.3.2.1 Análisis bacteriológico de tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*).**

Se realizó mediante la técnica de placa vertida por medio del recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) en medio sólido, para evidenciar Coliformes y, la técnica del Número Más Probable (NMP/ml) para comprobar la presencia de *E. coli*, técnicas propuestas por Feng *et al.* (2002), recomendada por la Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de América (FDA).

#### **Preparación de la muestra (Técnica de dilución).**

Los caldos EC, Bilis Verde Brillante (BVB), Rapid Hi Coliform, agua peptona, agua destilada y toda la cristalería utilizados fueron previamente autoclavados en un aparato Sterilizer SN510 de la marca Yamato.

Para evitar una contaminación se trabajó en una cámara de flujo laminar de la marca Telstar BX-100, se colocó aproximadamente 25 g de tejido de “curil” en una bolsa stomacher plástica y se le agregó una cantidad en peso de diluyente de 225 ml de agua peptonada (0.1%) y se homogenizó en un aparato stomacher de la marca Seward 400 circulator por 260 revoluciones durante 2 minutos, considerada esta dilución como 1/1, luego se transfirieron 10 ml del homogenizado 1/1 a un frasco de dilución con 90 ml de agua peptonada (0.1%) y se mezcló quedando una dilución de 1/10, posteriormente se tomó 10 ml de la dilución 1/10 y se mezcló con otro frasco de agua peptonada (0.1%) quedando una dilución de 1/100 (Anexo 9 y 10).

Luego se procedió a transferir 1 ml del homogenizado a tubos de ensayo conteniendo 10 ml del caldo Rapid Hi Coliform por triplicado, y así sucesivamente para cada una de las diluciones obteniendo un total de 9 tubos por muestra, luego se incubaron a 35 °C por 48 horas en una incubadora de la marca P Selecta incubator CO<sub>2</sub> (Anexo 9 y 10).

De las diluciones preparadas anteriormente, se tomó 1 ml de cada una y se vertieron en 3 cajas Petri, se realizó por duplicado para cada dilución, obteniendo 6 cajas Petri por muestra. Finalmente se agregó a cada caja 10 ml de agar Bilis Rojo Violeta (VRBA), mantenido a 48 °C, dejando que se solidificara por aproximadamente 10 min a temperatura ambiente, luego se incubaron a 35 °C por 24 horas (Anexo 9 y 10).

Luego de 48 horas de incubación cada tubo conteniendo Rapid Hi Coliform se colocó cerca de una lámpara de radiación de luz ultravioleta de la marca Cole Pamer, observándose una fluorescencia azul lechosa intensa (Figura 5), evidenciando la presencia de *E. coli*, se agregó 3 gotas del reactivo Kovac a cada tubo, que al formar un anillo rojo ladrillo se confirma la presencia de *E. coli*.

El cálculo del NMP de *E. coli* se determinó por medio de la tabla del NMP para 3 series de 3 tubos en base al número de tubos positivos (Ver anexo 11).

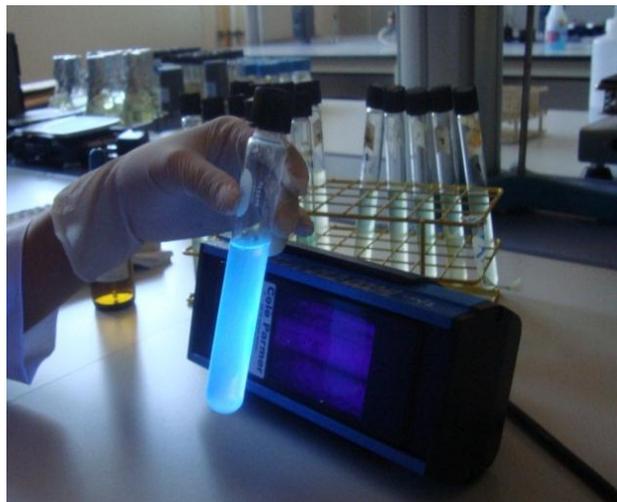


Figura 5: Confirmación de *E. coli* dando como positivo una fluorescencia azul lechosa intensa por medio de lámparas de radiación de luz ultravioleta.

### **Recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g).**

Pasadas las 24 horas de incubación, se observaron las cajas Petri, si hubo o no crecimiento de colonias, se procedió a contabilizar por medio del contador de

colonias de la marca Comecta SA, el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) que presentaban las características; color rojo purpura, de 0,5 mm o más de diámetro y rodeadas por una zona traslúcida que constituyen a las bacterias Coliformes totales (Figura 6), se seleccionó una placa por cada dilución (1/1, 1/10 y 1/100) que presentaron mayor número de UFC/g, de las cuales, de cada dilución se inoculó un máximo de 10 UFC/g a 10 tubos de ensayo conteniendo Caldo EC y 10 colonias a 10 tubos conteniendo Caldo Bilis Verde Brillante (VBB) (una UFC/g por cada tubo), todos los tubos de ensayo de ambos caldos contenían tubos Durham invertido, luego se incubaron a 35 °C por 24 horas. Trascorridas las 24 horas, se observaron los tubos tomando como positivos los que presentaban producción de gas y turbidez en el tubo Durham invertido, evidenciando Coliformes fecales en Caldo EC y la confirmación de Coliformes totales en Caldo Bilis Verde Brillante (Ver anexo 12).

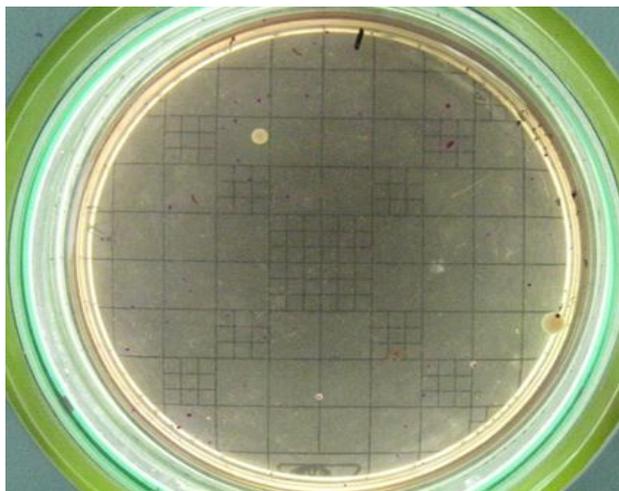


Figura 6: Placa Petri que muestra el color purpura de coliformes totales con un diámetro de  $\pm 0,5$  mm.

#### **4.3.2.2 Análisis bacteriológico del agua del sistema depuración.**

Para demostrar la efectividad de las lámparas germicidas de luz ultravioleta en el agua, se realizó el análisis a 25 muestras de agua, simultáneamente que se realizaba la prueba de tejido, efectuándose mediante la técnica de “fermentación de tubos múltiples” que comprende análisis cualitativo y cuantitativo (Número Mas

Probable) para comprobar la presencia de *E. coli*, así como lo recomienda la Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de América (FDA) (Feng *et al.*, 2002) propuesta por la Organización Internacional para la Estandarización (ISO, 1999).

La muestra de agua radiada por luz ultravioleta se tomó directamente del flujo de agua del sistema de depuración en un frasco de plástico esterilizado con capacidad para 1 litro. Posteriormente el frasco se depositó en una hielera a 4 °C para ser transportado al Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico CENSALUD para la realización de su análisis microbiológico el mismo día de la colecta (ISO, 1999).

### **Técnica de dilución**

Se realizaron tres diluciones, se tomó 10 ml de agua pura del frasco estéril para mezclarlo con 90 ml de agua peptonada y de ésta primera concentración se tomó otros 10 ml y se mezcló a otro frasco con 90 ml de agua petonada (ISO, 1999) (Ver anexo 13).

Se prepararon tres series de cinco tubos conteniendo caldo Rapid Hi Coliform, una serie de tubos contenían 10 ml de doble concentración y las restantes contenían 10 ml de concentración simple, donde, se agregó a cada tubo de doble concentración, 10 ml de agua pura del frasco estéril y, luego a un set de tubos de concentración simple, se le agregó 1ml de la primera dilución y al segundo se le agrego 0.5 ml de la segunda dilución, posteriormente se incubaron a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas (ISO, 1999) (Ver anexo 13).

A 48 horas de incubación cada tubo conteniendo Rapid Hi Coliform se coloco cerca de una lámpara de radiación de luz ultravioleta de la marca Cole Pamer, observándose una fluorescencia azul lechosa intensa, evidenciando la presencia de *E. coli*, se agregó 3 gotas del reactivo Kovac a cada tubo, que al formar un anillo rojo ladrillo se confirma la presencia de *E. coli*. (ISO, 1999) (Ver anexo 13).

El cálculo del NMP de *E. coli* se determinó en base al número de tubos positivos por medio de la tabla del NMP para 3 series de 5 tubos (Feng *et al.*, 2002) (Ver anexo 14).

#### **4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Para una mejor interpretación y facilitar el análisis estadístico se consideró el valor de tabla del NMP/ml para ambas series de tubos, el valor  $< 3$  NMP/ml como 2.99 NMP/ml y  $< 1,8$  NMP/ml como 1.79 NMP/ml (Campos, 2007). También, debido a que los datos obtenidos de *E. coli* en tejido blando de “curil” *A. tuberculosa* y agua estuarina radiada con UV presentaron tendencias diferentes a la distribución normal, se aplicó la transformación logarítmica ( $\text{Log}(\text{NMP}+1)$ ) a esos datos, la cual ayudó a establecer rangos más cercanos entre dichos niveles (Ott, 1988).

##### **Prueba de Hipótesis**

Para comprobar la hipótesis se utilizó la “prueba t student”, que tiene como objetivo evaluar si dos grupos difieren entre si de manera significativa respecto a sus medias (Hernández *et al.* 1997), ésta fue utilizada para determinar si existía diferencia significativa en la carga microbiana (*E. coli*) de las muestras sometidas al tratamiento de depuración con las muestras no sometidas, mediante el programa SPSS 2010.

De esta forma también se utilizó la misma prueba para comparar si existen diferencias significativas, en el nivel de contaminación de carga microbiana (*E. coli*) entre los dos sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.

Para demostrar si existen diferencias significativas, en la carga microbiana (*E. coli*) presentes en las muestras sometidas al agua con radiación ultravioleta a diferentes horas de tratamiento, se utilizó el análisis de Varianza (ANOVA) en Bloques Completamente Aleatorio, se realizó mediante el programa Software Estadístico InfoStat 2008. Precisamente, se aplicó el mismo análisis para determinar si hay diferencias significativa en la carga microbiana (*E. coli*) presentes en las muestras

sometidas a diferente saturación de bandejas conteniendo “curil” (*A. tuberculosa*) a los diferentes tratamientos.

Se aplicó la prueba de medias de Tukey al valor que se consideró estadísticamente significativo de la probabilidad obtenida en el análisis de Varianza de Anova en bloques completamente aleatorio que fue menor a 0.05, con un intervalo de confianza de 95%.

## V. HIPÓTESIS

La Hipótesis Nula ( $H_0$ )

“El tratamiento aplicado a “curil” (*A. tuberculosis*) no disminuye la carga microbiana termotolerantes (*E. coli*)”.

La Hipótesis alterna ( $H_a$ )

“El tratamiento aplicado a “curil” (*A. tuberculosis*) disminuye la carga microbiana termotolerantes (*E. coli*)”.

Y las Hipótesis Estadísticas son:

$$H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$H_a : \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

En donde:

La variable Independiente es:

X= El tratamiento aplicado a “curil” (*A. tuberculosis*).

La variable Dependiente es:

Y= La carga microbiana termotolerantes (*E. coli*) presentes en el “curil” (*A. tuberculosis*).

## VI. RESULTADOS

### 6.1 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA RADIADA CON LUZ ULTRAVIOLETA Y AGUA SUPERFICIAL DE LOS SITIOS DE MUESTREO.

#### 6.1.1 Temperatura y salinidad del agua superficial de los esteros.

La temperatura fue similar en ambos sitios de estudio, registrando un mínimo de 27.0 °C y máximo de 30.0 °C en ambos sitios. La salinidad varió poco en los dos estuarios en estudio: desde 2.6 hasta 2.9 unidades ponderadas de salinidad (ups) (Tabla 1).

Tabla 1: Temperatura (°C) y salinidad (ups) del agua superficial registradas en los diferentes sitios de estudio Las Flores y El Jobal entre noviembre 2011 y febrero 2012.

Muestreo	Fecha	Sitios			
		Las Flores		El Jobal	
		T °C	Sal. (ups)	T °C	Sal. (ups)
1	28-11-2011	29.0	27.0	28.0	27.0
2	23-01-2012	30.0	26.0	29.0	26.2
3	30-01-2012	28.0	29.0	27.0	28.0

#### 6.1.2 Temperatura, salinidad y pH del agua radiada con luz ultravioleta registrada en un tanque durante los tres muestreos.

La temperatura del agua radiada con luz ultravioleta registrada durante los tres muestreos oscilaron entre 26.0 y 29.9 °C., la salinidad varió entre los 34 y 40 ups. Y el pH se mantuvo siempre a 7 unidades (Tabla 2).

Tabla 2. Temperatura (°C) y salinidad (ups) del agua radiada con luz ultravioleta registrada en un tanque del sistema de depuración, entre noviembre 2011 y febrero 2012.

Muestreo	Fecha	T °C	Salinidad (ups)	pH
1°	28/11/11	27.1	34	7
	29/11/11	28.6	35	7
	30/11/11	28.0	35	7
	01/11/11	26.0	39	7
2°	23/01/12	28.7	38	7
	24/01/12	27.6	38	7
	25/01/12	29.9	38	7
	26/01/12	27.1	39	7
3°	30/01/12	29.4	39	7
	31/01/12	28.6	40	7
	01/02/12	28.5	39	7
	02/02/12	26.9	38	7

### 6.1.3 Temperatura salinidad y pH del agua radiada con luz ultravioleta registrada durante las tres pruebas.

Para las temperaturas de las tres pruebas registradas en los diferentes tanques las mediciones para el 1er tanque fueron de 29.8 y 27.0, 2do tanque 29.9 y 26.0, 3er tanque 29.9 y 26.0, 4to tanque 29.8 y 27.0; máximas y mínimas respectivamente. La salinidad registrada para el 1er tanque osciló entre 40 y 29, 2do tanque 40 y 29, 3er tanque 40 y 25, 4to tanque 39 y 27 ups, máximas y mínimas respectivamente. El pH se mantuvo siempre a 7 unidades en los cuatro tanques (Tabla 3).

Tabla 3: Temperaturas (°C) y salinidad (ups) del agua radiada con luz ultravioleta registrada en los cuatro tanques del sistema de depuración, entre noviembre 2011 y febrero 2012.

Muestreo	Fecha	Tanques	T° C	Salinidad (ups)	pH
1°	09/02/12	1	28.9	39	7
		2	29.9	39	7
		3	28.9	39	7
		4	29.1	39	7
	10/02/12	1	28.9	39	7
		2	29.0	39	7
		3	29.0	39	7
		4	29.0	39	7
2°	14/02/12	1	28.1	40	7
		2	28.3	40	7
		3	28.4	40	7
		4	28.4	39	7
	15/02/12	1	27.0	39	7
		2	26.0	40	7
		3	26.0	39	7
		4	27.0	39	7
3°	24/02/12	1	29.8	29	7
		2	29.8	30	7
		3	29.2	30	7
		4	29.3	30	7
	27/02/12	1	29.8	29	7
		2	29.8	29	7
		3	29.9	25	7
		4	29.8	27	7

## 6.2 DETERMINACIÓN DE TIEMPO IDÓNEO PARA DISMINUCIÓN DE LA CARGA BACTERIANA EN TEJIDO BLANDO DEL “CURIL” (*A. TUBERCULOSA*) A TRAVÉS DE TRATAMIENTO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV).

### 6.2.1 Tratamiento de 24, 48 y 72 horas.

En la tabla 4, 5 y grafico 1 se muestra los niveles de Coliformes totales en promedio del tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*) analizadas en las 12 muestras de las 3 colectas del sitios Las Flores y El Jobal. También se observa que para las tres colectas, se obtuvo una disminución significativa de Coliformes totales después de 24 horas de depuración, no obstante en ambos sitios en el segundo muestreo hubo un aumento a las 48 horas de depuración.

Tabla 4: Promedios de Coliformes y *E. coli* en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*) obtenidos en los tres muestreos para el sitio Las Flores, Bahía Jiquilisco desde de noviembre 2011 a febrero 2012.

Muestreo	Fecha	Horas	UFC/g de coliformes totales	Coliformes Fecales	Confirmación de coliformes totales	NMP/g de <i>E. coli</i>
1°	28/11/11	0	642	61	61	93.0
	29/11/11	24	183	6	6	15.0
	30/11/11	48	52	14	14	2.99
	01/11/11	72	0	0	0	2.99
2°	23/01/12	0	182	115	115	75.0
	24/01/12	24	22	2	2	9.20
	25/01/12	48	25	0	0	2.99
	26/01/12	72	0	0	0	2.99
3°	30/01/12	0	30	2	2	64.0
	31/01/12	24	0	0	0	2.99
	01/02/12	48	0	0	0	2.99
	02/02/12	72	10	1	0	2.99

Tabla 5: Promedios de Coliformes y *E. coli* en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*) obtenidos en los tres muestreos para el sitio El Jobal, Bahía Jiquilisco desde de noviembre 2011 a febrero 2012.

Muestreo	Fecha	Horas	UFC/g de coliformes totales	Coliformes Fecales	Confirmación de coliformes totales	NMP/g de <i>E. coli</i>
1°	28/11/11	0	1712	342	399	23.0
	29/11/11	24	17	0	0	9.20
	30/11/11	48	13	0	0	2.99
	01/11/11	72	3	0	0	2.99
2°	23/01/12	0	28	0	0	20.0
	24/01/12	24	33	0	0	2.99
	25/01/12	48	400	0	0	3.60
	26/01/12	72	0	0	0	2.99
3°	30/01/12	0	17	0	0	43.0
	31/01/12	24	0	0	0	3.60
	01/02/12	48	0	0	0	2.99
	02/02/12	72	7	0	0	2.99

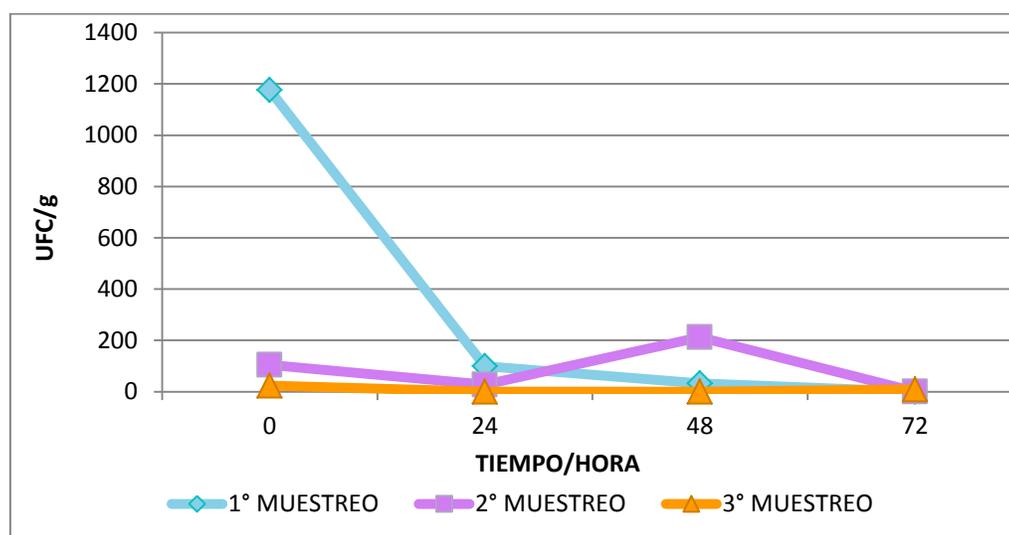


Grafico 1: Niveles de Coliformes totales (UFC/g) promediados en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.

En la identificación de *E. coli*, en tabla 6 y grafico 2 se observa una disminución de la carga bacteriana inicial de las muestras de “curil” al transcurrir el tiempo de 24, 48 y 72 horas.

Tabla 6: Sumatoria del NMP/g de *E. coli* de los sitios Las Flores y El Jobal, Bahía Jiquilisco, obtenidos en los tres muestreos, desde de noviembre 2011 a febrero 2012.

<b>Muestreo</b>	<b>Fecha</b>	<b>Horas</b>	<b><math>\Sigma</math> de NMP/g de <i>E. coli</i> de sitios muestreo</b>	<b>Log (NMP/g+1) de <i>E. coli</i></b>
1°	28/11/11	0	116	3.06
	29/11/11	24	24	2.38
	30/11/11	48	6	1.78
	01/11/11	72	6	1.78
2°	23/01/12	0	95	2.98
	24/01/12	24	12	2.09
	25/01/12	48	7	1.82
	26/01/12	72	6	1.78
3°	30/01/12	0	107	3.03
	31/01/12	24	7	1.82
	01/02/12	48	6	1.78
	02/02/12	72	6	1.78

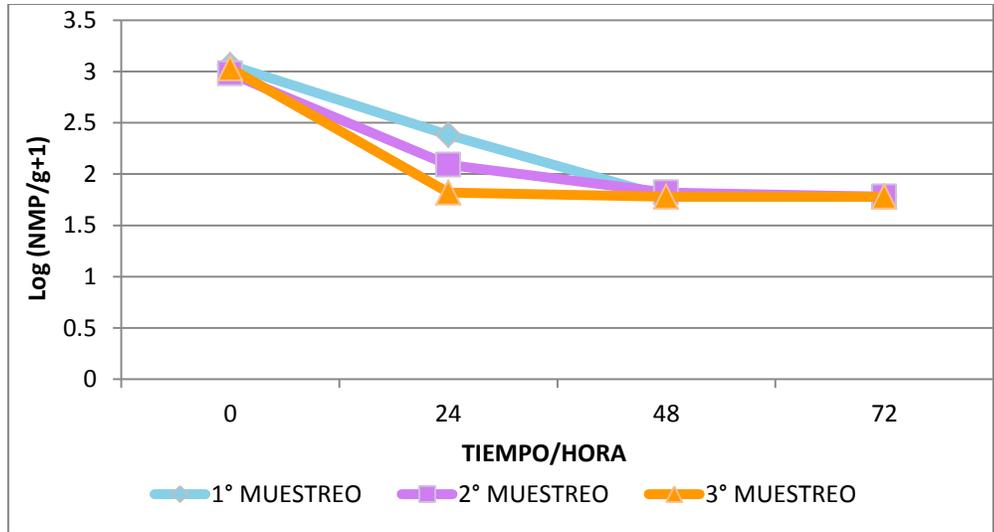


Gráfico 2: Niveles de *E. coli* Log (NMP/g+1) promediados en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.

Durante los tres primeros muestreos, se observa en la tabla 1, 2 y gráfico 3 la tendencia de disminución de UFC/g de Coliformes totales a medida transcurre el tiempo, al igual que la presencia de Coliformes fecales que disminuyen considerablemente a las 24 horas, manteniéndose esta tendencia hasta las 72 horas.

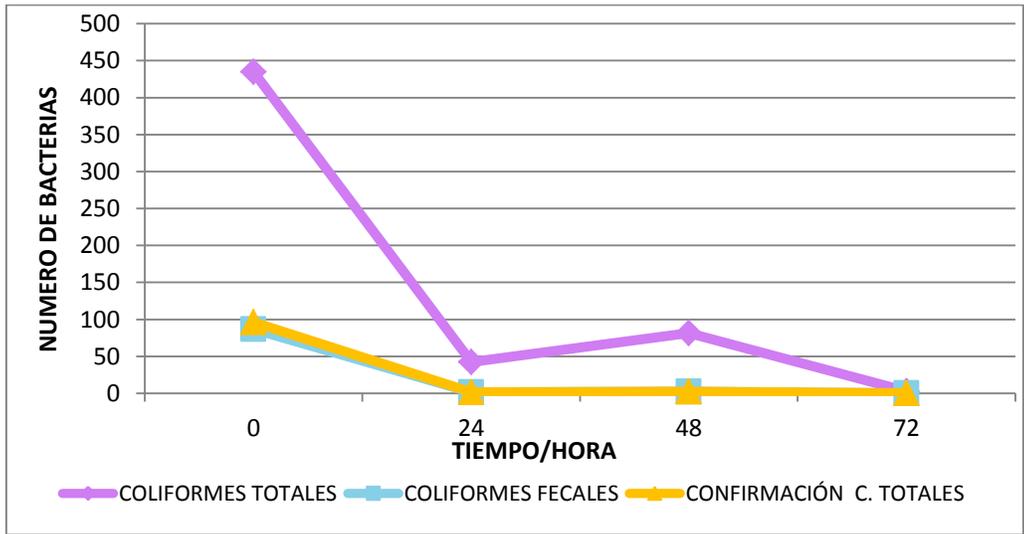


Gráfico 3: Niveles de UFC/g de Coliformes totales, fecales y confirmación de totales promediados en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos, de noviembre 2011 a febrero 2012.

### 6.2.2 Tratamiento de 24 y 48 horas.

La tabla 7 y gráfico 4 muestra los niveles de coliformes totales promediados en tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), estos oscilaron entre 25 a 30 UFC/g para la 1ra prueba, 24 a 275 UFC/g para la 2da y de 1 a 260 UFC/g para la 3ra. También se observa que a medida transcurre el tiempo, la cantidad de UFC/g de Coliformes totales disminuye durante las 3 pruebas.

Tabla 7: Promedios de Coliformes y *E. Coli* en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*) obtenidos en los tres muestreos (Pruebas), Bahía Jiquilisco, de noviembre 2011 a febrero 2012.

Pruebas	Fecha	Horas	UFC/g de Coliformes totales	Coliformes Fecales	Confirmación de coliformes totales	NMP/g de <i>E. coli</i>	Log (NMP/g+1) de <i>E. coli</i>
1°	08/02/12	0	50	3	0	23.0	2.36
	09/02/12	24	25	4	0	4.70	1.67
	10/02/12	48	30	0	0	3.14	1.50
2°	14/02/12	0	275	0	0	9.20	1.96
	15/02/12	24	42	1	1	2.99	1.48
	16/02/12	48	24	0	0	2.99	1.48
3°	23/02/12	0	260	26	26	3.60	1.56
	24/02/12	24	3	0	0	2.99	1.48
	27/02/12	48	1	0	0	2.99	1.48

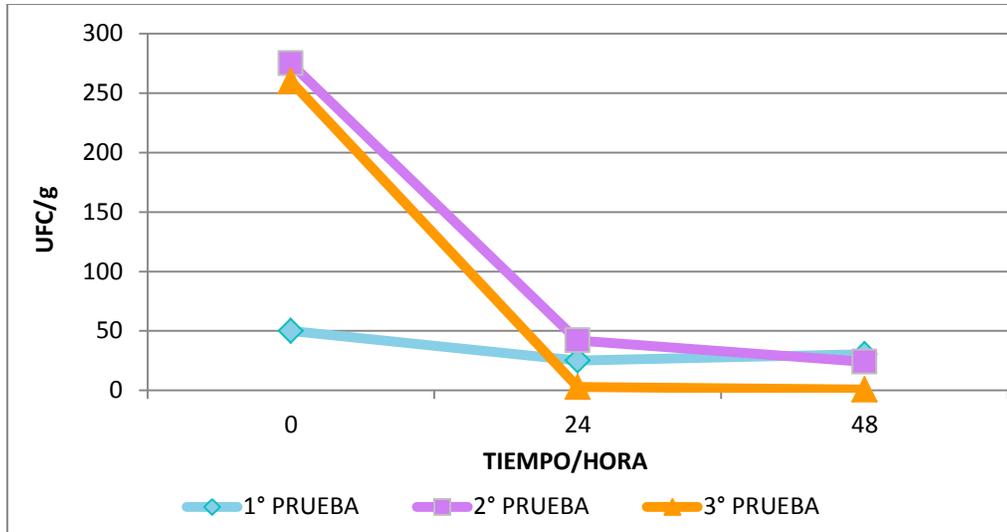


Gráfico 4: Niveles de Coliformes totales (UFC/g) promediados en tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.

Para la 1°, 2° y 3° prueba en la tabla 4 y gráfico 5 se observa una clara tendencia de reducción de la carga bacteriana semejante a los 3 muestreos anteriores.

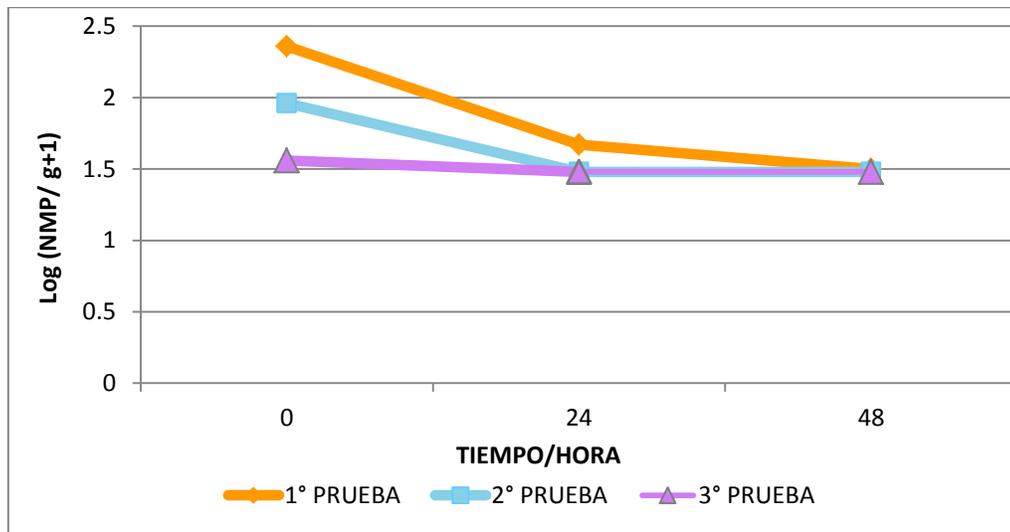


Gráfico 5: Niveles de *E. coli* Log (NMP/g+1) promediados en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.

La tendencia de la carga microbiana de Coliformes totales y fecales en la tabla 4 y gráfico 6 se observa una disminución de la contaminación durante las tres pruebas.

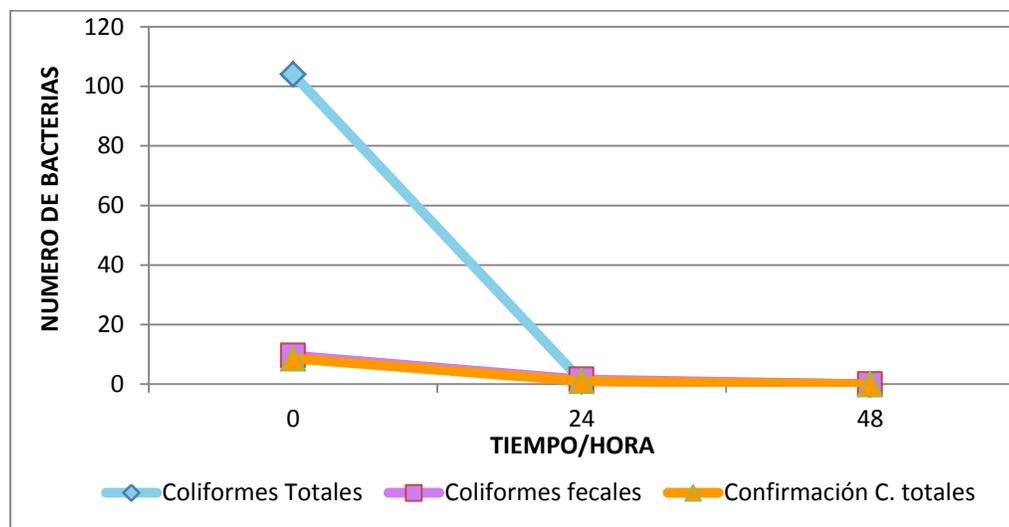


Gráfico 6: Niveles de UFC/g de Coliformes totales, fecales y confirmación de totales en tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tres muestreos (Pruebas), de noviembre 2011 a febrero 2012.

### 6.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD MÁXIMA DE LOS TANQUES DEL SISTEMA DE DEPURACIÓN.

La reacción de la carga bacteriana de UFC/g de Coliformes totales y fecales en el proceso de depuración, con la introducción de diferente cargamento de conchas a los tanques del sistema, disminuye siempre al transcurrir el tiempo de las 24 y 48 horas (tabla 8 y gráfico 7).

Tabla 8: Promedios de Coliformes y *E. coli* en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*) obtenidos en los tres muestreos (Pruebas), para los diferentes tanques del sistema de depuración, Bahía Jiquilisco, de noviembre 2011 a febrero 2012.

Pruebas	Fecha	Tanque	Número de individuos (curiles)	Tratamiento (horas)	UFC/g de coliformes totales	Coliformes fecales	Confirmación de coliformes totales	NMP/g de <i>E. coli</i>	Log (NMP/g+1) de <i>E. coli</i>
1°	08/02/12	A	400	0	50	3	0	23.0	2.36
	09/02/12			24	2	0	0	2.99	1.48
	10/02/12			48	2	0	0	2.99	1.48
	09/02/12	B	600	24	22	4	0	9.20	1.96
	10/02/12			48	17	0	0	2.99	1.48
	09/02/12	C	900	24	65	0	0	3.60	1.56
	10/02/12			48	28	0	0	2.99	1.48
	09/02/12	D	1,200	24	12	0	0	2.99	1.48
10/02/12	48			75	0	0	3.60	1.56	
2°	14/02/12	A	400	0	275	0	0	9.20	1.96
	15/02/12			24	60	0	0	2.99	1.48
	16/02/12			48	8	0	0	2.99	1.48
	15/02/12	B	600	24	47	0	0	2.99	1.48
	16/02/12			48	2	0	0	2.99	1.48
	15/02/12	C	900	24	43	1	1	2.99	1.48
	16/02/12			48	77	0	0	2.99	1.48
	15/02/12	D	1,200	24	18	0	0	2.99	1.48
16/02/12	48			10	0	0	2.99	1.48	
3°	23/02/12	A	400	0	260	26	26	3.60	1.56
	24/02/12			24	5	0	0	2.99	1.48
	27/02/12			48	0	0	0	2.99	1.48
	24/02/12	B	600	24	7	0	0	2.99	1.48
	27/02/12			48	2	0	0	2.99	1.48
	24/02/12	C	900	24	0	0	0	2.99	1.48
	27/02/12			48	0	0	0	2.99	1.48
	24/02/12	D	1,200	24	0	0	0	2.99	1.48
27/02/12	48			2	0	0	2.99	1.48	

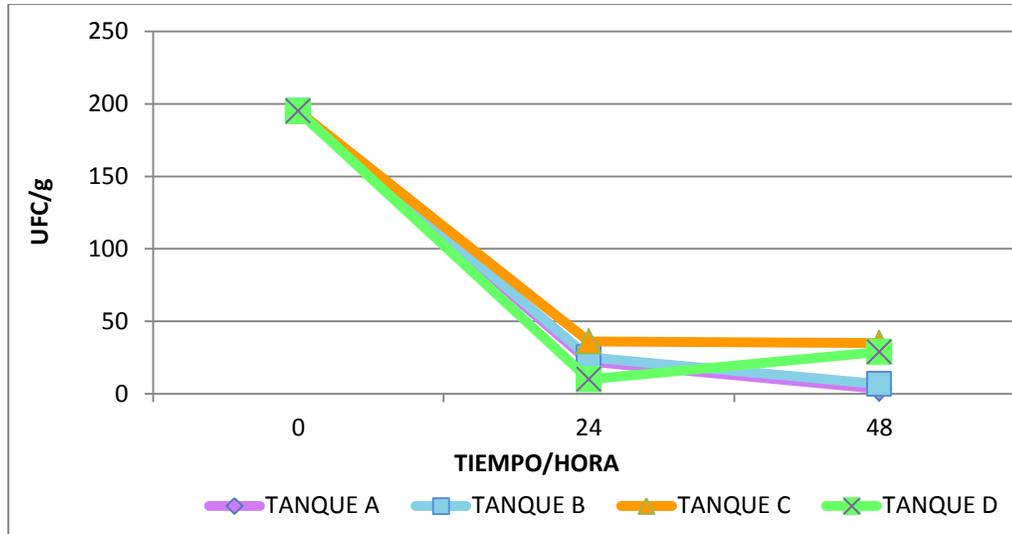


Gráfico 7: Niveles de Coliformes totales (UFC/g) en tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tanques del sistema de depuración, de noviembre 2011 a febrero 2012.

Para los niveles de NMP/g de *E. coli*, en tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*), en la determinación de capacidad máxima registrados en los cuatro tanques, en la tabla 5 y gráfico 8 se observa una disminución en el registro inicial de la carga bacteriana de *E. coli* al transcurrir el tiempo de las 24 y 48 horas.

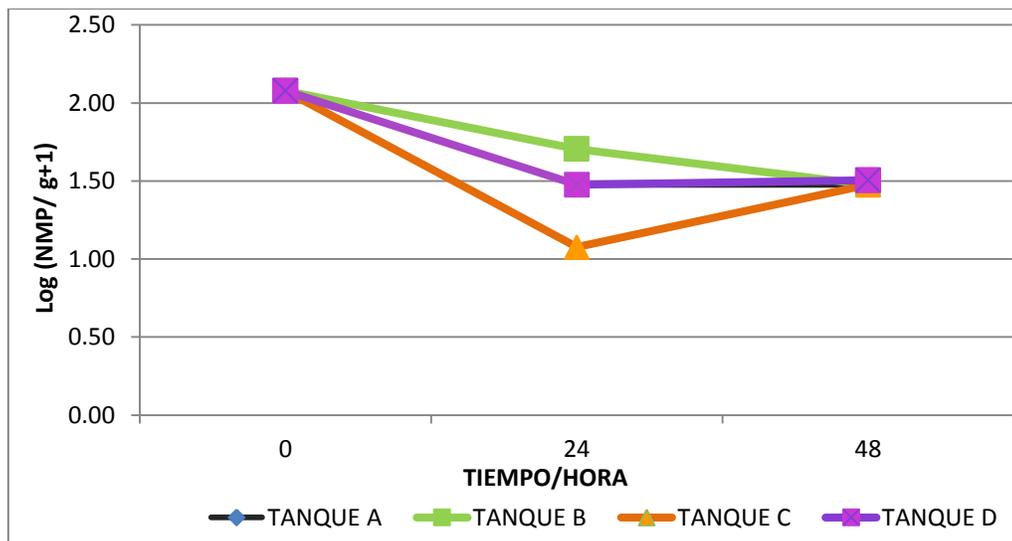


Gráfico 8: Niveles de *E. coli* Log (NMP/g+1) en tejido blando de “curil” (*A. tuberculosa*), registrados en los tanques del sistema de depuración, de noviembre 2011 a febrero 2012.

#### 6.4 COMPARACIÓN DEL NIVEL DE CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICO ENTRE LOS SITIOS DE MUESTREO LAS FLORES Y EL JOBAL.

Los datos presentes en el gráfico 9 muestran que el sitio con mayor contaminación de Coliformes totales fue El Jobal con un promedio de 586 UFC/g y Las Flores con 284 UFC/g.

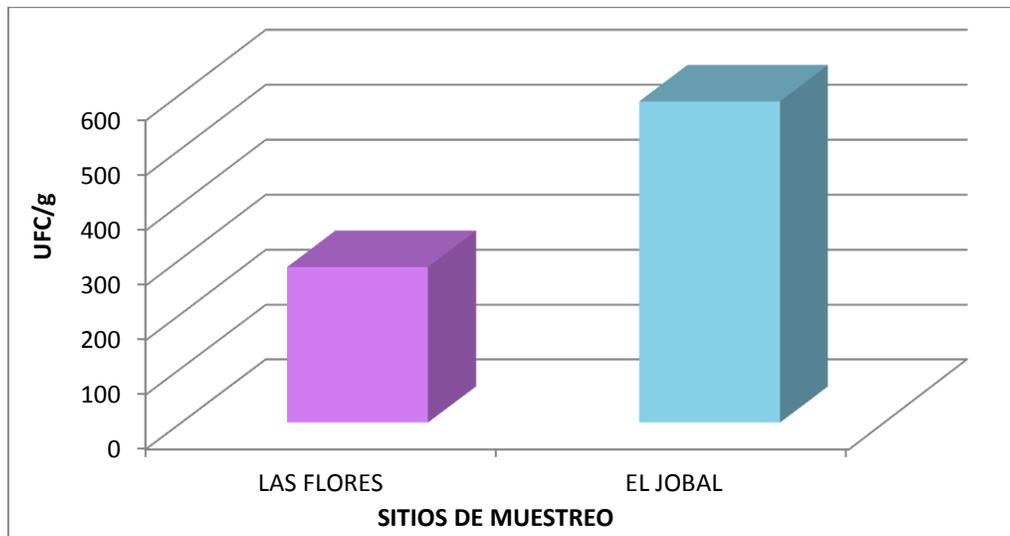


Gráfico 9: Comparación de niveles de Coliformes totales (UFC/g) registrados en los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal para tejido blando de "curil" (*A. tuberculosa*), de noviembre 2011 a febrero 2012.

El gráfico 10 muestra que el sitio que presentó mayor nivel de contaminación por *E. coli* fue Las Flores con un promedio de 2.89 NMP/g (Log (77.3 +1)) y El Jobal con 2.46 NMP/g (Log (28.6 +1)).

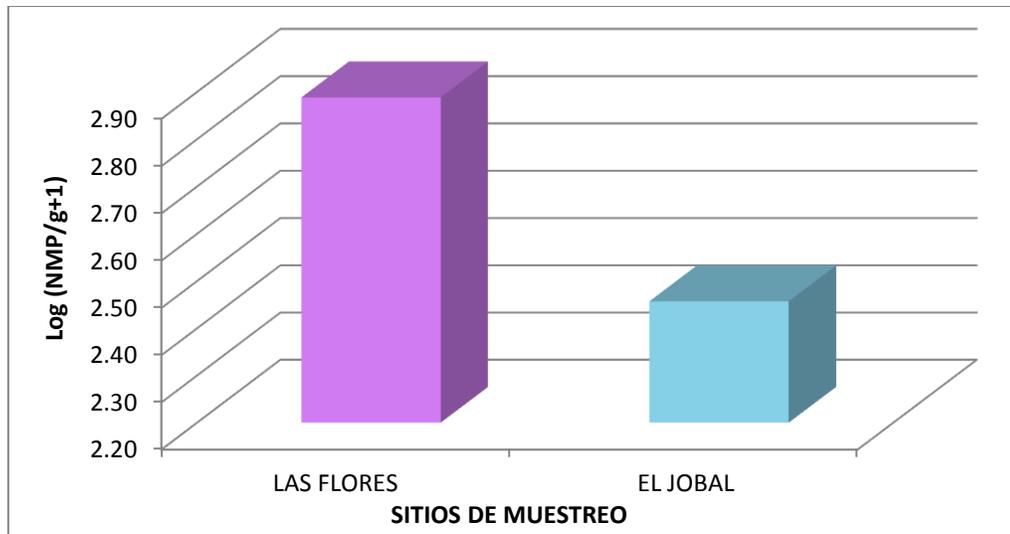


Gráfico 10: Comparación de niveles de *E. coli* Log (NMP/g+1), registrados en los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal, para tejido blando de "curil" (*A. tuberculosa*), de noviembre 2011 a febrero 2012.

En el Gráfico 11 se observa El Jobal como el sitio de muestreo que presentó mas contaminación de Coliformes totales, fecales y confirmación de Coliformes totales.

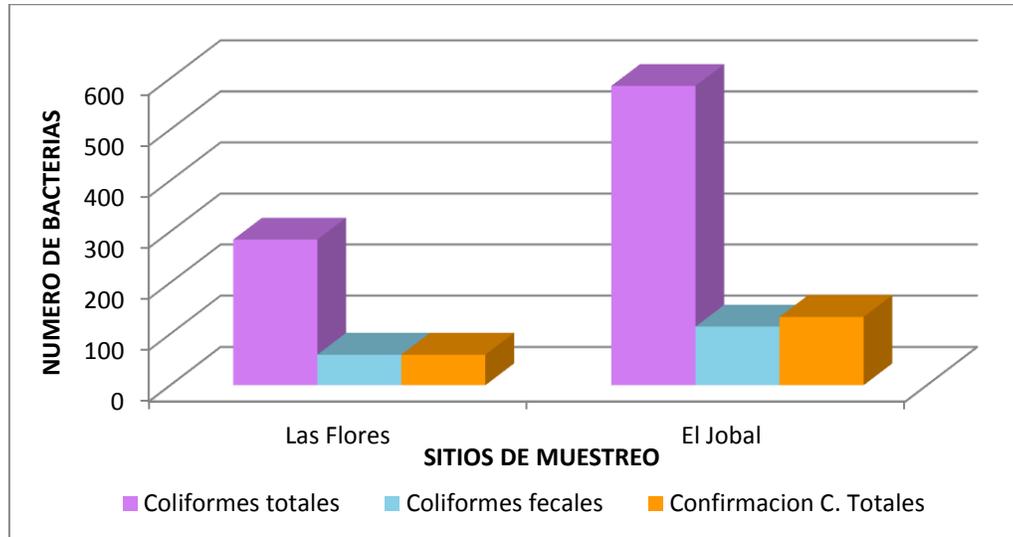


Gráfico 11: Comparación de niveles de Coliformes totales (UFC/g) fecales y confirmación de Coliformes totales registrado en los sitio de muestreo Las Flores y El Jobal, para el tejido blando de "curil" (*A. tuberculosa*), de noviembre 2011 a febrero 2012.

## **6.5 EFECTIVIDAD DE LÁMPARAS GERMICIDAS DE LUZ ULTRAVIOLETA UV EN AGUA MARINA DEL SISTEMA DE DEPURACIÓN.**

El agua marina, después de recibir el tratamiento por radiación UV presentaba 1,79 NMP/g en los 6 muestreos, no obstante se encontró que en el segundo muestreo, a las 48 horas hubo un aumento a 6.8 NMP/100ml, igualmente para el quinto muestreo, a 0 horas se registró 4.5 NMP/100 ml de *E. coli* (Tabla 9 y gráfico 12).

Tabla 9: Niveles de *E. coli* Log (NMP/ 100ml+1) registrados en las muestras de agua radiada con luz ultravioleta, de noviembre 2011 a febrero 2012.

<b>Muestreo</b>	<b>Fecha</b>	<b>Tratamiento (horas)</b>	<b>NMP/ml de <i>E. coli</i></b>	<b>Log(NMP/ ml+1) de <i>E. coli</i></b>
1°	28/11/11	0	1.79	1.25
	29/11/11	24	1.79	1.25
	30/11/11	48	1.79	1.25
	01/11/11	72	1.79	1.25
2°	23/01/12	0	1.79	1.25
	24/01/12	24	1.79	1.25
	25/01/12	48	6.8	1.83
	26/01/12	72	1.79	1.25
3°	30/01/12	0	1.79	1.25
	31/01/12	24	1.79	1.25
	01/02/12	48	1.79	1.25
	02/02/12	72	1.79	1.25
<b>Pruebas</b>				
1°	08/02/12	0	1.79	1.25
	09/02/12	24	1.79	1.25
	10/02/12	48	1.79	1.25
2°	14/02/12	0	4.5	1.65
	15/02/12	24	1.79	1.25
	16/02/12	48	1.79	1.25
3°	23/02/12	0	1.79	1.25
	24/02/12	24	1.79	1.25
	27/02/12	48	1.79	1.25

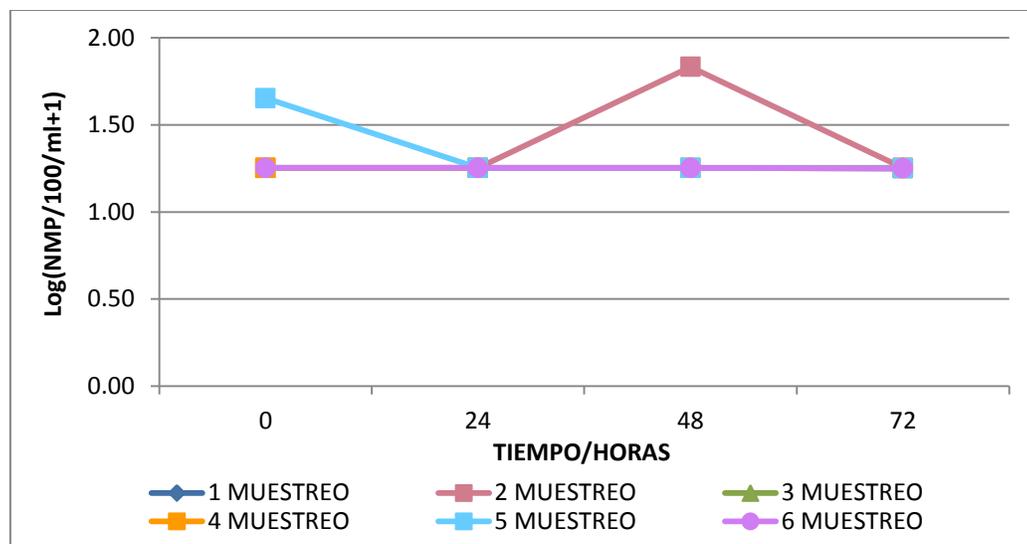


Gráfico 12: Niveles de *E. coli* Log (NMP/ 100ml+1) registrados en las muestras de agua radiada con luz ultravioleta, de noviembre 2011 a febrero 2012.

## 6.6 COMPARACIÓN ESTADÍSTICA.

### Prueba de Hipótesis

Los valores obtenidos en la prueba t de Student para muestras independientes, muestran que el  $P = 0.029$ , este es menor comparado al nivel de significancia de 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se comprueba que existe diferencia significativa entre las medias de contaminación de *E. coli* entre las 0 y 48 horas (Tablas 10 y 11) (Balzarini *et al.*, 2008).

Así mismo, se confirma con el estadístico t calculado que es de 2.541 con 10 grados de libertad y con un nivel de significancia de 0.05, comparado con el valor crítico de la tabla de 2.228, siendo el t calculado mayor al t de tabla, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se establece que **Si** existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de la carga microbiana *E. coli* de las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*) sometidas al tratamiento de depuración de radiación de luz ultravioleta con las muestras no sometidas, y por lo tanto se **acepta la Hipótesis Alternativa (H<sub>a</sub>)** (Tablas 10 y 11) (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 10: Comparación de medias para establecer diferencia significativa entre la carga bacteriana *E. coli* presente en las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*) sometidas al tratamiento de depuración (48 horas) con las muestras no sometidas (0 horas) (SPSS, 2010).

		<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación típica</b>
Contaminación	Sin tratamiento	6	58,6333	51,97190
	Con tratamiento	6	4,6867	1,84124

N: Tamaño de la población.

Tabla 11: Prueba t de Student en muestras independientes, para establecer diferencia significativa entre la carga bacteriana *E. coli* presente en las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*) sometidas al tratamiento de depuración (48 horas) con las muestras no sometidas (0 horas) (SPSS, 2010).

	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig. (bilateral)</b>	<b>Diferencia de medias</b>
Contaminación	2,541	10	0.029	53,94667

t: valor del estadístico, gl: grados de libertad, Sig. (bilateral): significación muestral de la hipótesis nula.

### **Análisis de Varianza Anova en bloques completamente aleatorio para comparación de la disminución de la carga bacteriana *E. coli* a diferentes horas de tratamientos (0, 24, 48 y 72 horas) de radiación de luz ultravioleta.**

La tabla 12 indica que el análisis  $p = 0.0001$  es menor al nivel de significación nominal de la prueba ( $p 0.05$ ), lo cual prueba que existe una diferencia significativa en el nivel de contaminación de *E. coli* presentes en las muestras del “curil” (*A. tuberculosa*) bajo los distintos tratamientos de depuración 0, 24, 48 y 72 horas. (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 12: Análisis de varianza Anova en bloques completamente aleatorio para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz UV 0 (control), 24, 48 y 72 horas (InfoStat, 2008).

<b>Comparación</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	21352.33	3	7117.44	151.70	<0.0001
Error	375.33	8	46.92		
Total	21727.67	11			

SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de libertad, CM: Cuadrado medio del error, F: Valor calculado, P-valor: Valor probabilidad .

Al aplicar la prueba significativa de medias de Tukey a los diferentes tratamientos de radiación de luz UV 0, 24, 48 y 72 horas, comprueba que estadísticamente hay una diferencia significativa entre las medias de 0 (hora control) con las de 24, 48 y 72 horas (medias de la carga bacteriana) ya que estas son distintas, así mismo, los tres tratamientos 24, 48, y 72 horas no presentan diferencia significativa entre ellas mismas (Tabla 13) (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 13: Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz ultravioleta 0 (control), 24, 48 y 72 horas (InfoStat, 2008).

<i>Error: 46.9167 gl: 8</i>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
72.00	6.00	3	3.95	A
48.00	6.33	3	3.95	A
24.00	14.33	3	3.95	A
0.00	106.00	3	3.95	B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )*

n: número de observaciones. E.E.: error estándar.

**Análisis de Varianza Anova en bloques completamente aleatorio para comparación de la disminución de la carga bacteriana *E. coli* a diferente cargamento de bandejas con muestras de “curil” (*A. tuberculosa*).**

En la tabla 14 se muestra mediante el análisis de varianza de anova que,  $p < 0.0001$  es menor al  $p 0.05$  demostrando que si existe diferencia significativa al comparar la disminución de la carga bacteriana *E. coli* presente en el tejido blando del “curil” (*A. tuberculosa*) a diferente cargamento de bandejas con muestras de “curil” (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 14: Análisis de varianza Anova en bloques completamente aleatorio para establecer diferencias significativas en las distintas cargas de “curiles” (*A. tuberculosa*) introducidas al sistema de depuración a diferente tratamiento de radiación UV 0 (control), 24 y 48 horas (InfoStat, 2008).

<b>Comparación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Conchas	7.33	3	2.44	0.81	0.5342
Tratamiento	1807.17	2	903.58	298.43	0.0001
Error	18.17	6	3.03		
Total	1832.67	11			

SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de libertad, CM: Cuadrado medio del error, F: Valor calculado. P-valor: Valor probabilidad.

De acuerdo a la cantidad de conchas que se introduce al sistema de depuración, los valores obtenidos en la prueba de medias de Tukey, demuestran que no hay diferencia significativa entre las distintas cantidades de “curiles” (*A. tuberculosa*) que se meten a las 24 y 48 horas comparado con el nivel de contaminación *E. coli*, este sigue siendo igual si se introdujeran 400, 600, 900 ó 1,200 conchas aproximadamente (Tabla 15) (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 15: Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en las distintas cargas de conchas introducidas al sistema de depuración a diferente tratamiento de radiación UV 0 (control), 24 y 48 horas (InfoStat, 2008).

<i>Error: 3.0278 gl: 6</i>				
<b>Número de “curiles”</b> <i>(A. tuberculosa)</i>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
400	18.00	3	1.00	A
600	18.33	3	1.00	A
900	18.33	3	1.00	A
1,200	20.00	3	1.00	A
<i>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p&lt;= 0.05)</i>				

n: número de observaciones. E.E.: error estándar.

Con respecto al tratamiento, se realizó la misma prueba de Tukey siempre para los tratamientos pero específicamente para las 0 (control), 24 y 48 horas esto para establecer diferencia significativa en los tratamientos y en el resultado de ellos, en la prueba de medias de Tukey los valores obtenidos presentan que a las 0 horas (control) si hay una diferencia significativa comparación con 24 y 48 horas en la disminución de contaminación de *E. coli*, sin embargo entre las 24 y 48 horas no demuestran diferencia significativa en el tratamiento aplicado (Tabla 16) (Balzarini *et al.*, 2008).

Tabla 16: Prueba de medias de Tukey para establecer diferencia significativa en los tratamientos de radiación de luz UV 0 (control), 24 y 48 horas (InfoStat, 2008).

<i>Error: 3.0278 gl: 6</i>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
48	9.25	4	0.87	A
24	10.75	4	0.87	A
0	36.00	4	0.87	B
<i>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p&lt;= 0.05)</i>				

n: número de observaciones. E.E.: error estándar.

## **Análisis de comparación del nivel de contaminación de *E. coli* entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.**

Los resultados obtenidos en la prueba t Student para muestras independientes, la comparación de p valor es de 0.012, este es menor al valor de significancia establecido de 0.05, entre Las Flores y El Jobal (Tablas 17 y 18).

El valor estadístico de t calculado es de 4.378 mayor al valor crítico de la tabla 2.276 con 4 grados de libertad y un grado de significancia de 0.05, este dato confirma que si existe diferencia significativa de contaminación por *E. coli* en ambos sitios (Tablas 17 y 18).

Tabla 17: Comparación de medias para establecer diferencia significativa de la carga bacteriana *E. coli* en las muestras de "curil" (*A. tuberculosa*) entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal (SPSS, 2010).

<b>Lugar</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviacion tipica</b>
Las Flores	3	77,3333	14,64013
El Jobal	3	28,6667	12,50333

N: Tamaño de la población.

Tabla 18: Prueba t de Student en muestras independientes, para establecer diferencia significativa en la carga bacteriana *E. coli* presente en el "curil" (*A. tuberculosa*) entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal (SPSS, 2010).

	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig. (bilateral)</b>	<b>Diferencia de medias</b>
Contaminación	4,378	4	0.012	48,66667

t: valor del estadístico, gl: grados de libertad, Sig. (bilateral): significación muestral de la hipótesis nula.

## VII. DISCUSIÓN

De las 42 muestras sometidas al proceso de depuración durante noviembre del 2011 a febrero del 2012 de los sitios de muestreos Las Flores y El Jobal, así como también las muestras proporcionadas por el comerciante del área de estudio de la Bahía de Jiquilisco, se consiguió purificar el 93% de las muestras, comparándose con el estudio de Proyecto Desarrollo Pesquero en el Golfo de Fonseca en el 2009, a 32 pruebas realizadas a “curiles” depurados con cloro, mostraron que el 81.25 % lograron purificarse.

### **Determinación de tiempo idóneo para la reducción de contaminación bacteriana por Coliformes.**

Después de haber sometido las muestras del “curil” (*A. tuberculosa*) al tratamiento de purificación, la contaminación disminuyó considerablemente luego transcurridas las 24 horas de depuración con agua radiada por UV, siendo más marcada a las 48 horas, donde en la mayoría de los análisis ya presentaban el límite máximo permisible de < 10 UFC/g de Coliformes autorizado por la Norma Cubana (NC) 38-02-14. 1992 para consumo de bivalvos crudos. No se consideró el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50:08) 2009 que es específico para países centroamericanos incluido El Salvador, debido a que en este reglamento no se consideran los Coliformes totales ni fecales.

Al llegar a las 72 horas el nivel de contaminación de Coliformes totales y fecales se mantenían casi igual que a las 48 horas de depuración, esto concuerda con los resultados obtenidos por Montiel et al., en el 2009, con la almeja *P. solida* con tratamiento de luz UV, donde los promedios de los valores de los microorganismos de Coliformes totales estudiados presentaron una disminución marcada de los microorganismos a partir de las 3 horas de depuración logrando una disminución de al menos el 70% a las 48 horas.

Los resultados de este estudio también concuerdan con los obtenidos en Honduras por el Proyecto Desarrollo Pesquero en el Golfo de Fonseca en el 2009, utilizaron la depuración con cloro en “curil” (*A. tuberculosa*) para disminuir la carga microbiana de Coliformes totales y fecales entre otras bacterias, en el cual se aplicó un periodo de tiempo de 48 horas, probándose que para un total de 32 pruebas hechas a la carne de curil depurado, únicamente seis muestras presentaron todavía presencia de bacterias, lo que indica que la carga microbiana por Coliformes totales y fecales disminuye notablemente al termino de las 48 horas de depuración.

Ya que en los resultados de los tres primeros muestreos, se obtuvo que a las 48 horas de depuración el nivel de contaminación de Coliformes totales y fecales llega al límite permisible que establece la Norma Cubana (NC) 38-02-14. 1992, por lo que ya no fue necesario llegar a las 72 horas de depuración en las tres pruebas, Así como también, se evita un gasto innecesario de recursos y un desgaste del sistema de depuración, lo cual solo se realizó con 24 y 48 horas. Estos resultados se comparan con el tiempo de depuración establecido por autoridades en Nueva Zelanda de acuerdo a Lee *et al.*, en el 2010, el período mínimo estipulado es de 48 horas, y dependiendo si las autoridades soliciten un período más corto en este caso se especifica un mínimo de 36 horas. Según la NSSP (2009), se utilizan períodos más cortos en algunos países donde la autoridad competente no especifica un período mínimo y donde la industria enfoca este período principalmente hacia la eliminación de bacterias fecales indicadoras, por ejemplo, en Italia se utilizan frecuentemente períodos de depuración de 18–24 horas.

En las tres pruebas, los resultados fueron parecidos a los tres primeros muestreos, a las 24 horas de depuración la disminución de la carga bacteriana de Coliformes totales y fecales es muy notable, obteniendo un mejor resultado de disminución de los microorganismos en la mayoría de los análisis realizados a las 48 horas de depuración.

Estos resultados coinciden con los obtenidos en Costa Rica por Wong *et al.*, en 1997, estos investigadores utilizaron el método de depuración en “curil” (*A. tuberculosa*) con ácido acético (Tratamiento artesanal) obteniendo en las primeras 24 horas una carga final de coliformes de 700 UFC/g, y de 110 UFC/g a las 48 horas de su carga inicial de 80500 UFC/g.

No obstante, en algunos muestreos se obtuvo un aumento después de las 24 horas de depuración que anteriormente ya había disminuido su carga bacteriana inicial, lo cual, probablemente pudo haber ocurrido por el proceso de “contaminación cruzada”, que pudiese haber sucedido en el procesamiento de las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*) o en el transporte de muestras hacia el laboratorio microbiológico, así como también, por el material fecal expulsado por los “curiles” en los tanques de depuración donde ellos mismos lo vuelven a filtrar contaminándose nuevamente. Otra razón por la cual pudo haber ocurrido aumento de contaminación, es que por una ocasión el sistema de depuración sufrió un daño, lo cual ya no logró trabajar al 100%.

En Hong Kong Bella & Tam en el 2000, obtuvieron en su estudio un ligero incremento en las concentraciones de *E. coli* en los mejillones (*Perna viridis*) de 25 a 30 h, y de nuevo en 45 a 55 h, lo cual mencionan que podría estar relacionado con el ciclo natural de alimentación de los mejillones.

### **Determinación de tiempo idóneo para la reducción de contaminación bacteriana por *E. coli*.**

El análisis de varianza realizado a los diferentes rangos de tiempo de tratamiento demostró que si existen diferencias singficativas entre ellas con respecto a la reducción del nivel de contaminación de *E. coli*, comprobándose en la prueba de medias de Tukey, donde se demuestra que las 0 (control) horas tiene una gran diferencia estadísticamente significativas con 24, 48 y 72 horas de tratamiento.

La carga bacteriana por *E. coli* logró una disminución pasada las 24 horas de depuración, obteniendo un mejor resultado a las 48 y 72 horas, lo que coincide con el estudio realizado en El Salvador por Cornejo en el 2010 con ejemplares de “curiles” (*A. tuberculosa*) y con tratamiento de luz UV, los resultados obtenidos fueron similares a los de este estudio, al término de las 24 horas la carga por *E. coli* ya había logrado una reducción y a partir de las 48 y 72 horas fue más notable el descenso.

Concordando con otro estudio realizado en Estados Unidos por Mark y Gesa en 1992 con *Vibrio vulnificus* presentes en los tejidos de la ostra *Crassostrea virginica*, donde se desinfectó con luz UV el agua de mar a utilizar, a los 3 días (72 horas) los niveles de *V. vulnificus* sometidos al tratamiento de luz UV fueron aproximadamente 10 veces menor a los del agua de mar control.

Como se mencionó anteriormente, en las tres pruebas solo se trabajó con los lapsos de tiempo de 0 (control), 24 y 48 horas de exposición, debido a que pasadas las 48 horas de depuración en los tres muestreos iniciales la carga bacteriana por *E. coli* obtuvo similar reducción a la carga de Coliformes, llegando al nivel admisible de < 3 NMP/g que dicta el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50:08) 2009. Conforme a Lee *et al.*, en el 2010, sugiere que generalmente se aplica períodos de 48 horas si el sistema está bien diseñado y funciona correctamente, este tiempo asegura la eliminación de la mayoría de los patógenos bacterianos derivados de aguas fecales. De igual manera el mismo autor Lee *et al.*, en el 2010, menciona que ampliar el tiempo de depuración, por ejemplo a 5 días, favorece la eliminación de los patógenos víricos, si la temperatura y otras condiciones son satisfactorias. Lo cual para la eliminación de bacterias como *E. coli* es suficiente las 48 horas de tratamiento. Así mismo, desde el punto de vista reglamentario según la ordenanza modelo estadounidense NSSP (2009), en el Reino Unido se especifica un mínimo de 42 horas y 44 horas.

Para las tres pruebas no se obtuvo mayor contaminación por *E. coli* comparado con los tres muestreos, la carga bacteriana no era mayor a los 23 NMP/g, esta logra llegar a las 24 horas de depuración en la mayoría de los análisis a los < 3 NMP/g nivel admisible por RTCA 67.04.50:08, 2009, manteniéndose en el mismo nivel a las 48 horas, esto indica que a menor contaminación por *E. coli* la depuración es más efectiva, esto debido a que no hay demasiada carga bacteriana y por consiguiente la depuración es más rápida, según Aguirre *et al.*, (2003) la eficacia de la desinfección con luz UV es función de su concentración inicial de microorganismos.

Coincidiendo con los resultados en Hong Kong de Bella & Tam en el 2000, la concentración de *E. coli* acumulados en los mejillones (*P. viridis*) se redujo drásticamente en las primeras horas de depuración con UV, y en un ritmo más lento durante las 15 y 20 horas de tratamiento. De igual forma en España, para López *et al.*, en el 2005, en un estudio de depuración pero con cloro, para la almeja *P. sólida*, se observó un rápido descenso de 1300 a 100 NMP/g del contenido de *E. coli* a las 16 horas y a 90 NMP/g a las 21 horas de tratamiento, consiguiendo llegar a los niveles admisibles por la legislación.

### **Capacidad máxima de los tanques del sistema de depuración.**

En las tres pruebas el nivel de contaminación de Coliformes y *E. coli* obtuvo la misma reacción de los tres muestreos de reducir la carga bacteriana de las muestras al transcurrir el tiempo del proceso depurativo, y a pesar de la diferencia de introducir más bandejas con 400, 600, 900 y 1,200 “curiles” (*A. tuberculosa*) para cada tanque del sistema de depuración la disminución fue notable siempre. Lo que se demuestra con el análisis de varianza Anova determinando que si existe diferencia estadísticamente significativa entre la carga de los “curiles” introducidas al sistema de depuración con el nivel de contaminación de *E. coli* presentes en el tejido blando del “curil”.

A las 24 horas de depuración, los valores de contaminación por Coliformes y *E. coli*, habían llegado al límite permisible que establece el RTCA 67.04.50:08 (2009), en la

mayoría de los tanques durante el tratamiento, lo cual indica que para depurar cantidades grandes de “curiles” ya mencionadas, no influye el sistema este trabaja normal y no afecta al proceso de depuración, obteniendo resultados satisfactorios, lo que muestra que el sistema de depuración está capacitado y logra trabajar con un número de conchas (*A. tuberculosa*), de 1,200 unidades aproximadamente por tanque. Comprobado con el análisis de medias de Tukey, en el que se observa, que no hay diferencia estadísticamente significativa en la reducción del nivel de contaminación microbiológica de *E. coli* con respecto a las cantidades de “curiles” (*A. tuberculosa*) que se puedan introducir a las 24 y 48 horas de tratamiento, la contaminación se reduce siempre.

En un estudio, en Honduras el Proyecto Desarrollo Pesquero en el Golfo de Fonseca en el 2009, realizaron 3 ensayos para determinar la capacidad del sistema de depuración con 1,920, 2,800 y 3,000 unidades de “curiles” (*A. tuberculosa*), utilizó 48 horas de depuración con cloro obteniendo resultados positivos en la disminución de la carga bacteriana de *E. coli* y Coliformes Fecales lo cual se compara con el obtenido en este estudio que no afecta a la efectividad de disminución de contaminación bacteriana presentes en moluscos bivalvos.

Sin embargo, el nivel de *E. coli* para el tanque B que contenía aproximadamente 600 “curiles” (*A. tuberculosa*) no logro disminuir tanto como los demás tanques a las 24 horas, sin embargo este logra llegar al nivel admisible del RTCA 67.04.50:08 (2009) a las 48 horas de depuración, lo que muestra que el nivel de contaminación sin disminuir, no es debido a la cantidad de “curiles” introducidas al tanque, ya que este contenía menor cantidad de “curiles” que los demás tanques que lograron disminuir su carga bacteriana a las 24 horas, lo cual probablemente pudo haber ocurrido, como se menciono anteriormente, por contaminación cruzada o por la filtración del material fecal expulsado de los mismos bivalvos.

## **Relación de parámetros físicos-químicos del agua tratada con radiación ultravioleta con la efectividad del proceso de depuración.**

### Temperatura

La disminución de contaminación por Coliformes y *E. coli* no fue interrumpida ni afectada por las temperaturas que oscilaron entre 26.0 y 29.9 °C, siempre se reflejó de una forma descendente, esto pudo deberse según Love *et al.*, (2010), a que las temperaturas de depuración de las aguas más cálidas aumentan las tasas de depuración de *E. coli*, así mismo para Wood en 1978, menciona que la tasa de filtración aumenta con la temperatura del agua y disminuye a medida que la temperatura cae por debajo de un valor crítico, lo cual para las temperaturas ya mencionadas se consideran como temperaturas de aguas cálidas (El salvadorimpressive, 2011), lo que concuerda con hallazgos de otro estudio en Estados Unidos por Love *et al.*, en el 2010, donde las tasas de depuración de *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, MS2 colifagos y la hepatitis A presentes en las ostras (*C. virginica*) y almejas de caparazón (*Mercinaria mercinaria*) aumentó cuando se mantuvieron a 25 ° C, contrario a las que se mantuvieron a 12 y 18 C ° la depuración de los microorganismos fue mas lenta. La base biológica de este hallazgo de acuerdo a Lee *et al.*, en el 2010, es que el agua caliente, dentro de cada especie, los límites fisiológicos, promueve una mayor tasa de digestión de los mariscos bivalvos, velocidad de bombeo (Loosanoff, 1958) y la actividad enzimática (Brock *et al.*, 1986), lo cual contribuye a la reducción microbiana.

Según Lee *et al.*, en el 2010, señalan que existen límites absolutos de temperaturas, superiores e inferiores, fuera de los cuales los moluscos no realizan sus funciones adecuadamente, para el Reino Unido y otros países establecen valores de temperaturas para la depuración de moluscos bivalvos por ejemplo para la Almeja japonesa (*Tapes philippinarum*) es de 20 °C, en Estados Unidos para la Chirla mercenaria (*M. mercenaria*) es de 20 °C (Love *et al.*, 2010). El NSSP (2009), recomienda depuración con rangos de temperatura de 10 ° C a 25 ° C para ostras. En este trabajo las temperaturas reportadas oscilaron entre 26 a 29 °C.

Es importante destacar que los moluscos bivalvos para poder ser purificados estos deben de ser manejados sin dañarlos, esto incluye no tenerlos en demasiado tiempo a una temperatura extremadamente altas, de otro modo ellos pueden morir, y no podrían realizar sus funciones normales y también limpiarse durante su purificación (SEAFISH 1999). Al aumentar la temperatura del agua puede inducir al desove lo cual les causa debilidad y por lo tanto no realizan bien su función de filtración (SEAFISH 1999), según Lee *et al.*, en el 2010, los moluscos después del desove se encuentran muy debilitados, por lo que aquellos que acaban de desovar no deberían depurarse.

### Salinidad

Según SEAFISH en el 2009, los límites de salinidad varían según sea la especie y el origen del molusco, en este estudio la salinidad del agua marina radiada con UV oscilaron entre 25 a 40 ups y la salinidad de donde fueron extraídas oscilaron entre 26 a 29 ups, El Reino Unido recomienda una salinidad mínima de 20,5 ppm para la depuración de la ostión japonés (*C. gigas*), en Filipinas y Japón recomiendan entre 17,5 y 25 ppm de salinidad mínima para la depuración de ostras, dependiendo de la especie (Lee *et al.*, 2010).

En un estudio de Estados Unidos Love *et al.*, en el 2010, compararon la salinidad del agua marina de 28 ppm, 8 ppm y 18 ppm, consiguiendo resultados donde la tasa de depuración incrementó con el aumento de salinidad de 28 ppm para las bacterias (*E. coli* y *Enterococcus fecalis*). En otro estudio Nappier *et al.*, en el 2008, encontraron que a 12 ppm de salinidad fue preferible para la depuración del virus VHA causada por el norovirus en dos especies de ostras. Esto indica que la salinidad del agua puede variar dependiendo de la especie y el origen de donde son extraídas, para obtener una depuración efectiva en moluscos bivalvos, es por ello que en este estudio se baso en asimilar la salinidad del área de extracción con el agua del sistema de depuración, de acuerdo a NSSP en el 2009, Así mismo Lee *et al.*, en el 2010 y SEAFISH en el 2009, hacen mención que dentro de los límites mínimos de

salinidad recomendados por la FAO, se aconseja emplear una salinidad que no varié más del 20 % respecto a la de la zona de recolección.

El pH del agua marina del sistema de depuración se mantuvo siempre a 7 durante todo el estudio, lo cual no pudo haber provocado efecto negativo a la efectividad de purificación, ya que siempre hubo reducción de Coliformes y *E. coli* a este nivel de pH, conforme a Love *et al.*, en el 2010, en su investigación concluyeron que el pH no es parámetro significativo para la optimización de depuración de las ostras (*C. virginica*) y almejas de caparazón (*M. mercinaria*).

### **Efectividad de lámparas germicidas de luz ultravioleta en agua marina del sistema de depuración.**

Se demostró que las lámparas germicidas de luz ultravioleta utilizadas para este estudio son efectivas en un 90%, debido a que el análisis realizado al agua fluye en el sistema de depuración obteniendo <1.8 NMP/ml (2.79 NMP/ml) valor mínimo de contaminación por *E. coli* que muestra la tabla del número más probable del Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) (Feng *et al.*, 2002), sin embargo en dos ocasiones los análisis presentaron contaminación por *E. coli* de 6.8 y 4.5 NMP/ml, lo cual pudo deberse como se menciona anteriormente, a que el sistema de depuración sufrió un daño inesperado trabajando parcialmente, por lo que el agua se tomó directamente del los tanques de depuración, así mismo, por contaminación cruzada en el procesamiento de las muestras.

El resultado del 90% de efectividad se compara con un estudio realizado en España por Aguirre *et al.*, en el 2003, donde se desinfecto el agua con luz ultravioleta y cloro, obteniendo que la actividad microbiana se reducía a medida que se aplicaba el tratamiento. También coincide con Kelly en 1960, en el cual en 257 muestras de aguas examinadas tratadas con luz UV demostró que el 95% presentaba la ausencia de organismos Coliformes.

### **Comparación del nivel de contaminación bacteriana entre los dos sitios de muestreo Las Flores y El Jobal.**

El sitio de muestreo con mayor contaminación con Coliformes totales fue El Jobal con un promedio de 586 UFC/g y Las Flores con 284 UFC/g y el sitio con mayor contaminación por *E. coli* fue Las Flores con promedio de 77.3 NMP/g y El Jobal con 28.6 NMP/g, la prueba de t student muestra que existe diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la contaminación por *E. coli* entre los dos sitios, esto pudo deberse posiblemente a la ubicación geográfica de Las Flores que pertenece al pueblo de Puerto Parada, según MARN en el 2012, recibe aguas residuales domésticas a través de diferentes ríos, entre estos destacan el Grande de San Miguel, para el MARN en el 2004, es uno de los mayores afluentes con contaminación fecal ya que todas las aguas negras y grises que salen de la ciudad van a parar al río, que circula desde el norte de San Miguel y concluye por Puerto Parada zona sur de Usulután, según Portillo en el 2003, este río ha obtenido hasta un promedio de 5,722.2 UFC/100ml de *E. coli* que sobrepasan los límites permisibles por las normas de calidad de aguas salvadoreñas.

A diferencia de El Jobal que se encuentra aislado de este y otros ríos, según, Alegría-Coto en 1978, en un estudio concluye que una de las principales fuentes de contaminación de El Jobal proviene de las descargas directas de aguas residuales domésticas de la misma zona. También, Cornejo en el 2010, en los valores obtenidos en un estudio realizado en El Jobal oscilaron desde 93 a 1,100 NMP/g de Coliformes totales y para *E. coli* el mayor fue de 43 NMP/g, lo que indica que siempre habido contaminación por Coliformes totales y en menor valor por *E. coli*.

### **Calidad Sanitaria de las muestras de “curil” (*A. tuberculosa*).**

Los niveles más altos de *E. coli* para los ejemplares de bivalvos sin depurar recolectados en Las Flores y El Jobal, así como también para los ejemplares sin depurar proporcionados por el comerciante fueron: 6.3, 19.9 y 102.5 NMP/g respectivamente, estos valores superan el límite máximo permisible de <3 NMP/g (equivalente a 2.99 NMP/g) que dicta el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA

67.04.50:08 que es específico para los países centroamericanos, en el cual interpreta los valores obtenidos como: Alimento de riesgo tipo “A”, que comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud.

De igual forma, para la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) de los Estados Unidos de América el límite máximo admisible de *E. coli* es de 2.3 NMP/g, así mismo, en Cuba el límite máximo para consumo de bivalvos crudos es de < 0.3 NMP/g (Norma Cubana NC 38-02-14. 1992), y en la Unión Europea es de < 3.00 NMP/g (Lee y Younger 2003).

La presente investigación demostró que el rango de tiempo de 48 horas al que fueron sometidas las muestras, bajo el método de depuración con luz ultravioleta, dio como resultado, valores de <10 UFC/g de Coliformes totales y fecales, estos valores se encuentran dentro del límite admisible aceptables de <10 UFC/g de la Norma Cubana (NC) 38-02-14. 1992 y < 3 NMP/g de *E. coli* valor admisible para el RTCA 67.04.50:08 2009.

Estos resultados permiten identificar a el “curil” *A. tuberculosa* como un alimento crudo con disminución de microorganismos, logrando tener niveles aceptables, lo que indica que estos moluscos después de pasar por el método de la depuración con luz ultravioleta, se consideran según el RTCA 67.04.50:08 2009 como alimentos con baja probabilidad de causar daño a la salud humana.

#### **Mortalidad de muestras de “curil” (*A. tuberculosa*).**

Es importante mencionar que hubo mortalidad de “curiles” (*A. tuberculosa*) de 18 a 11 unidades, en dos muestreos, la mayoría al transcurrir las 48 horas de depuración, esto pudo deberse probablemente al manejo que se le dio desde su extracción de su área natural hasta el proceso de depuración, según SEAFISH en 1999, el proceso de purificación, es adecuado sólo para moluscos robustos capaces de ser manejado sin morir.

En España López en el 2005, en un estudio de depuración con cloro en las condiciones utilizadas se consiguió el 100 % de supervivencia de la navaja (*E. arcuatus*) y en longueirón (*E. siliqua*).

## VIII. CONCLUSIONES

Los resultados, en general, muestran una reducción sustancial microbiológica de Coliformes y *E. coli*, en el tejido del “curil” (*A. tuberculosa*), en las condiciones de depuración estudiadas, asegurando la inocuidad del bivalvo en más de un 92% de las 51 muestras analizadas, haciendo que éste pueda ser consumido con una disminución considerable de Coliformes y *E. coli*.

Las 48 horas fueron suficientes para depurar la carga bacteriana de *E. coli* y Coliformes en la mayoría de las muestras del “curil” (*A. tuberculosa*).

El sistema de depuración con 2 lámparas de luz ultravioleta de 40 watts y con 4 tanques de 2696.4 L de volumen, tiene capacidad y puede llegar a purificar un total aproximadamente de 4,800 (168 kg) unidades de “curil” (*A. tuberculosa*) con la talla comercial de 4.5 cm por los 4 tanques que lo constituye, aprox. 100 unidades por bandeja y de 12 bandejas por tanque.

Las condiciones de temperatura y salinidad del agua obtenidas en este estudio no afectaron a la depuración de *E. coli* y Coliformes presentes en el “curil” (*A. tuberculosa*), sin embargo, las condiciones de pH, no es una variable que este relacionado a la efectividad de depuración.

Se debe de realizar con precaución el manejo de colecta del bivalvo desde su área natural de extracción hasta ser sometido al proceso de depuración, ya que pueden sufrir un daño y es probable que se deteriore o muera en el sistema de depuración dentro de uno o más días.

Los estadísticos de la prueba t student reflejaron que el estuario que presentó mayor contaminación de Coliformes fue El Jobal, y el que mostró mas contaminación por *E. coli* fue Las Flores.

El determinante definitivo del éxito del proceso de depuración está relacionado con la capacidad que tiene éste de disminuir los contaminantes microbianos a la vez que asegura que los moluscos bivalvos estén vivos y que sean de buena calidad.

El control microbiológico constituye por lo tanto la base para verificar la efectividad del sistema de depuración. Sin embargo, este control está normalmente fundamentado en bacterias fecales indicadoras que se eliminan con mayor facilidad que muchos otros patógenos, lo cual la purificación específico para Coliformes y *E. coli* proporciona una medida definitiva de la seguridad del producto depurado.

El presente estudio, pretende aportar información valiosa para sentar las bases para una futura reglamentación sobre; los requisitos para el consumo de moluscos bivalvos, el uso de procesos de depuración, las condiciones adecuadas para su consumo y de su posible uso en acuicultura.

## IX. RECOMENDACIONES

Realizar otros estudios referido a la depuración de otros microorganismos patógenos presente en moluscos bivalvos, con importancia epidemiológica para El Salvador, por ejemplo bacteria *Salmonella*, así como también a microalgas planctónicas tóxicas (Marea Roja).

Desarrollar más estudios sobre depuración con tratamiento de luz ultravioleta referido a otras especies de moluscos bivalvos con importancia comercial para El Salvador.

Hacer estudios con otros periodos de tiempo menores a los que se realizaron en este trabajo para la depuración de bivalvos.

Es necesario hacer análisis del agua de mar y de tejido de los moluscos bivalvos en ambas épocas del año, con el propósito de tener análisis comparativos de las estaciones del año y poder ver, de esta forma, si existe alguna diferencia entre ellas, y así conocer que lapso de tiempo aplicar a las conchas que estén con mucha o poca contaminación bacteriana a causa de los diferentes factores que resultan en diferentes épocas del año.

Debe llevar un control microbiológico donde se efectuó análisis de muestras de agua desinfectada y tejido de los bivalvos depurados al menos una vez a la semana, o debe realizarse con una frecuencia estipulada por las agencias locales de control, para que posteriormente se envíen a un laboratorio acreditado para la detección de microorganismos patógenos, y así controlar la inocuidad de los bivalvos y el agua de mar que entra en los tanques de depuración, de este modo garantizar que se encuentre por debajo de los niveles admisibles.

Al momento del proceso de depuración, se debe de realizar el sifoneo de las pseudoheces expulsadas por los bivalvos con el fin que no vuelvan a filtrar todo

material suspendido dentro de los tanques del sistema de depuración, y así evitar que se contaminen nuevamente.

Realizar otros estudios referente a la comparación del nivel de contaminación (*E. coli*) entre los sitios de muestreo Las Flores y El Jobal que incluya el análisis microbiológico del agua superficial de los sitios para completar y obtener mejores resultados.

Es importante señalar la necesidad de una normativa para la evaluación de la calidad de bivalvos e incluir y hacer obligación la depuración de ellos, lo cual reduciría el riesgo de salud pública que tiene el consumo de los mismos.

También, es esencial que las instituciones como CENDEPESCA y el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales deban de impartir talleres de Buenas Practicas de Manufactura de Productos Pesqueros que incluya el tema sobre la depuración en moluscos bivalvos, dirigida a los pescadores y curileros artesanales encargados de la extracción y comercialización de bivalvos, ya que a ellos les beneficia para mejorar la calidad del bivalvo y con ello obtener mejores ganancias.

Las autoridades correspondientes realicen un análisis económico para saber el valor de inversión del proceso para que los bivalvos ya depurados puedan entrar al mercado nacional.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

**Academic 1999.** Diccionario Mosby - Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud, Ediciones Hancourt, S.A. Disponible desde la Web: [http://www.esacademic.com/dic.nsf/es\\_mediclopedia/12465/klebsiella](http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/12465/klebsiella)

**Aguirre P., García J. y Mujeriego R. 2003.** Desinfección con cloro y luz uv en un proceso convencional de regeneración de agua. Sección de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental. Universidad Politécnica de Cataluña. 1-3. Módulo D-1. 08034. España. Pp 15.

**Alegría Coto, J. R. 1978.** Análisis Bacteriológicos de Muestras de “Conchas” o “Curiles” *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1983) Colectados en la Bahía de Jiquilisco. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de El Salvador. Tesis para optar el grado de Licenciatura en Biología. 91 pp.

**Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo J.A., Robledo C.W. (2008).** Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.

**Barnes R. D. 1989.** Zoología de los Invertebrados. 4<sup>o</sup> edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. McGraw-Hill, Inc. México D.F. 957 pp.

**Barraza J. E. 2006.** Identificación de moluscos marinos comestibles en El Salvador. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 17 pp.

**Bella S. W. & Tam T.-Y. 2000.** Natural depuration of shellfish for human consumption: a note of caution. SAR Waste Policy and Services Group, BeachWater Quality and Laboratory Management Section. Environmental Protection Department. Wat. Res. Vol. 34, No. 4, pp. 1401±1406. Hong Kong. Pp. 6.

- Bolaños I. M. 2006.** Análisis de Competitividad Acuicultura Salvadoreña. Ministerio de Economía El Salvador. El Salvador. 59 pp.
- Calderon G. 2009.** Estudio de caso Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO). Pp 67.
- Camacho A., Giles M., Ortegón A., Palao M., Serrano B. y Velázquez O. 2009.** Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
- Campos S. 2007.** Determinación de bacterias coliformes fecales en ejemplares de protothaca asperrima en cuatro ecosistemas estuarinos de la zona oriental de El Salvador", Tesis de licenciatura. El Salvador. Universidad de El Salvador. 73p.
- Cantelmo F., y Carter T. 1992.** A physiological indicator of hard clam commercial depuration. MTS 23: 9-13.
- Carginn E. y Sarasquete C. 2008.** Histofisiología de Moluscos Bivalvos Marinos. Consejo superior de investigaciones científicas (CSIC). España. 93 Pp.
- CICE (Centro de información de la conserva enlatada). 2005.** ¿Qué sabes de las conservas en latas de los moluscos? [www.informacionconsumidor.com](http://www.informacionconsumidor.com). Fundación de la industria de alimentación y bebidas. 4pp.
- Cifuentes J. L., Torres P. y Frías M. 1997.** El océano y sus recursos x. pesquerías. La Ciencia para Todos. Segunda edición. México.
- Cliver D. O. 1998.** Transmisión de Virus a través de los Alimentos. The world of Food Science. Food Technology. 42:241-248..Department of Population Health and

Reproduction School of Veterinary Medicine University of California, Davis  
Davis, California, USA.

**Cornejo N. E. 2010.** Investigación científica en el desarrollo de la acuicultura de moluscos, referente a la depuración de *Anadara tuberculosa* (curil) por medio de luz UV (luz ultravioleta) en la Estación Acuícola de Puerto El Triunfo, Bahía de Jiquilisco, departamento de Usulután. Centro de desarrollo de la pesca y la acuicultura CENDEPESCA/MAG. El Salvador. 21 pp.

**Darner A. 2011.** *E. coli*: agua, alimentos y diarreas. La nación. Disponible desde la web: <http://www.nacion.com/2011-06-09/Opinion/Foro/Opinion2805213.aspx>, consultado: (Junio/2011).

**Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., y Robledo C. W. (2008).** InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

**Dufour A. P. y Ballentine P. 1986.** Ambient Water Quality Criteria for Bacteria (Bacteriological ambient water quality criteria for marine and fresh recreational waters). Washington, D.C. USEPA. 18 p. EPA A440/5-84-002.

**El Salvador impressive 2011.** Disponible desde la web: <http://mitm.elsalvador.travel/es/el-salvador/>, consultado: (Junio/2012).

**FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (Organización Mundial de la Salud). 2006.** Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. Pp. 91

**Félez M. 2003.** Situación actual del estado de la depuración biológica, Explicación de los métodos y sus fundamentos. Researchgate. Pp.187.

- Feng P., Weagant S. y Grant M. 2002.** Manual de Análisis Bacteriológico. Enumeración de *Escherichia coli* y bacterias coliformes. Food and Drug Administration (FDA). Capítulo 4. Octava Edición. Pp 23.
- Fernández B. y Bruncker T. 1997.** Estudio bacteriológico de Bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica (I Parte) Rev. Biol. Trop. 25: 101-107.
- Ford T. E. 1993.** The microbial ecology of water distribution and outfall systems. In: Ford, TE (ed.) Aquatic Microbiology: An Ecological Approach, pp. 455-482. Blackwell, Boston.
- Frazier W. C. y Westhoff D.C. 1993.** Microbiología de los alimentos, editorial Acribia, s.a., 4º Edición, España. Pp. 681.
- Galdámez A. M., Pacheco S. P., Pérez I. M. y Kino S. 2007.** Producción Artificial de semillas, cultivo intermedio y cultivo de *Anadara tuberculosa* y *A. grandis*. Guía para la producción de *Anadara* spp. 2006-2007. Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA), Printing Service. Puerto El Triunfo, Departamento de Usulután, El Salvador. 79pp.
- Greenberg A. E. y Hunt D. A. 1989.** Laboratory Procedures for the Examination, of Seawater and Shellfish. Fifth Edition. American Public Health Association. México. 130pp.
- Havelaar A., Blumenthal U. J., Strauss M., Kay D. & Bartram J. 2001.** Guidelines: the current position. In: Water Quality: guidelines, Standards and Health. Assessment of risk and risk management for water-related infectious diseases. Fewtrell L, Bartram J (eds.) IWA-Publishing, London UK, pp. 440.
- Hayes P. R., 1993.** Microbiología e higiene de los alimentos", Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España.

**Hernandez R., Fernandez C. y Baptista P. 1997.** Metodología de la Investigación. Primera edición. McGRAW - HILL INTERAMERICANA. Mexico. Pp. 407.

**ISO (International Organization for Standardization) 1999.** Calidad del agua. Detección y recuento de Escherichia coli y bacterias coliformes. Parte 3: Método miniaturizado (Número Más Probable) para la detección y recuento de E. coli en aguas superficiales y aguas residuales. (ISO 9308-3:1998). Pp 28.

**James J. 2000.** Microbiología moderna de los alimentos, 3° Edición. España. pp.804.

**Kely C. B. 1961.** Disinfection of sea water by ultraviolet radiation. Disinfection of sea water. Vol. 51. No. 11. E.E.U.U. Pp1671-1680.

**Kelly 1960.** Desinfección del agua marina por medio de radiación ultravioleta. Laboratorio de Sanidad de Mariscos, leche y alimentos. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria. Servicio de Salud Pública. VOL. 51, NO. 11. A.J.P.H. California. Pp 11.

**Kopper G., Calderón G., Schneider S., Domínguez W. y Gutiérrez G. 2009.** Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Cadmo Rosell. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. 187pp.

**Kopta F., 1999.** Contaminación Hídrica. Educación Ambiente, Cultura y Desarrollo (ACUDE). Edición auspiciada por UNESCO y financiada por la Embajada Real de los Países Bajos. Argentina. 203 Pp.

**Lee R., Lovatelli A. y Ababouch L. 2010.** Depuración de Bivalvos Aspectos Fundamentales y Prácticos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Documento técnico de pesca 511. Roma. Pp. 174.

**Lee R. J. & Younger A. D. 2003.** Determination of the relationship between faecal indicator concentrations and the presence of human pathogenic microorganisms in shellfish. 247-263 pp.

**Leyva V., Valdés E., Cisneros D. y Pérez B. 1996.** Aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba. Revista Cubana Aliment. Nutr. 10(2) 14.

**López C., Darriba S., Miranda M. y Alvares C. 2005.** Depuración de la navaja *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) y el longueirón *Ensis siliqua* (L., 1758) (Solenacea). Boletín. Instituto Español de Oceanografía. Vol. 21 (1-4). Pp. 311-315.

**Love D. C., Lovelace G. L. & Sobsey M. D. 2010.** Removal of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, coliphage MS2, poliovirus, and hepatitis A virus from oysters (*Crassostrea virginica*) and hard shell clams (*Mercinaria mercinaria*) by depuration. International Journal of Food Microbiology. Revista Elsevier 143 (2010) 211–217. Pp 7.

**Maeda A. N. 2002.** Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura. Editorial LIMUSA, S.A. de C.V. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Grupo Noriega. 1ra. Edición México. 501 Pp.

**Marcano J. E., 2012.** Eutrofización. Educación Ambiental en la Republica Dominicana. GreenFacts, Facts on Health and the Environment. Disponible desde la web: <http://www.greenfacts.org/es/glosario/def/eutrofizacion.htm>

**Mark L. y Gesa M. 1992.** Persistence of *Vibrio vulnificus* in Tissues of Gulf Coast Oysters, *Crassostrea virginica*, Exposed to Seawater Disinfected with UV Light. Applied and Environmental Microbiology. Home Economics Program. Institute of

Food and Agricultural Science. University of Florida. EE.UU. Vol. 58, No. 5. Pp 5.

**Melara V. 2006.** Contaminación por Coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* en los Estuarios Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo. Tesis de licenciatura. El Salvador. Universidad de El Salvador. p 67.

**Menéndez J. L., Fernández R. R., Carlón L. y Rubio E. 2012.** Los bivalvos. Revista Asturnatura.com. Disponible desde la web: <http://www.asturnatura.com/moluscos/bivalvos.html#alimentacion>, consultado: (Marzo/2012).

**Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN). 2004.** Servicio Nacional de Estudios Territoriales Servicio Hidrológico Nacional. Evaluación de la Calidad de Agua del Río Grande de San Miguel año 2003. El Salvador. 7 pp.

\_\_\_\_\_, **2011.** Informe de la calidad del agua de los ríos de El Salvador. Servicio Hidrológico Nacional. El Salvador. pp 74.

\_\_\_\_\_, **2012.** Catálogo de Zonas Críticas Prioritarias en Humedales Ramsar El Salvador. Plan Nacional de Mejoramiento de Humedales en El Salvador. Herramienta para la Estrategia y Plan de Restauración de Humedales. Sistema de Información Geográfica. El Salvador. 40 pp.

**Montiel M., García Y., Severeyn H. y Morales F. 2009.** Depuración bacteriana y física de la almeja (*Polymesoda* sólida) a pequeña escala. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIX, Nº 5. Venezuela. Pp 533 – 538.

**Muñoz M., Ledesma J. A., Chávez A., Perez F., Mendoza E., Castañeda J., Calvo C., Castro I., Sánchez C. y Avila A. 2002.** Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos. Mcgraw-interamericana. 1ra edición. México. 203 pp.

**Nappier S.P., Graczyk T.K. y Schwab K.J., 2008.** Bioaccumulation, retention, and depuration of enteric viruses by *Crassostrea virginica* and *Crassostrea ariakensis* oysters. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 6825–6831.

**NSSP (National Shellfish Sanitation Program) 2009.** National shellfish sanitation program. Guide for the control of molluscan shellfish. Food and Drug Administration. Interstate shellfish sanitation conference (ISSC). 07-I-@.02-100. 501-547 pp.

**Norma Cubana (NC) 38-02-14. 1992.** Determinación cuantitativa de coliformes fecales. Métodos de ensayos microbiológicos.

**Olivares M., Anoyo E., Conea A. y Pinto A. 2004.** Terminales Portuarios, Guía Ambiental. Dirección de Desarrollo Sostenible. Ministerio de Medio Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. Impresiones SIGMA. Colombia. Pp. 441

**Organización Mundial de la Salud (OMS). 2012.** Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Centro de Prensa. Nota descriptiva N°125. Disponible desde la web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/index.html>, consultado: (Junio/2012).

**OPS/OMS. 1997.** Vigilancia y prevención de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Subcomité de Planificación y Programación del Comité Ejecutivo. 29ª sesión, 1 y 2 de diciembre, 1997.

**Ott L. 1988.** An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis. 3rd Ed. PWS-KENT Publishing Company, Boston, 819 pp.

**Portillo A. G. 2003.** Analisis Cualitativo y Cuantitativo de Coliformes en la Cuenca Media del Rio Grande de San Miguel, Departamento de San Miguel, El

Salvador. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.  
Universidad de El Salvador. (Tesis de Licenciatura). 102 pp

**Prescott L. M., Harley J. P. y Klein D. A. 1996.** Microbiology, 3era edición, Wm C.  
Brown Publisher, E.E.U.U.

**Programa Regional para el Biomonitorio de Contaminantes en Moluscos y Peces RLA/5/054 (ARCAL). 2009.** El Salvador. Recomendaciones para la toma y preparación de muestras de bivalvos y peces. Eds. Sericano, J.L.y Besada. San Salvador, El Salvador. V. 12pp.

**Proyecto Desarrollo Pesquero en el Golfo de Fonseca 2009.** Informe sobre el sistema de depuración de curiles en Coyolito Amapala. Honduras Pp 23.

**Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50:08). 2009.** Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos. Ministerio de Economía, MINECO Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC Secretaría de Industria y Comercio, SIC Ministerio de Economía Industria y Comercio, MEIC. El Salvador. 36pp.

**Riesco M. B. 1996.** Ostras y Almejas Crudas Pormenores de Consumo, Datos marinos de Sea Grant. #63. Universidad de Puerto Rico .Programa de Colegio Sea Grant, comunicaciones/Publicaciones UPR-RUM, PO Box 9011, Mayaguez, Puerto Rico. 3pp.

**SEAFISH 1999.** Guidance on Procedures to Minimise Risks to Food Safety in Bivalve Mollusc Purification. Primer edition, Seafish house, st. Andrews dock, hull. hu3 4QE.USA. 39pp.

**Seoáñez M., Varela D. R., Ladaria S. P., Bellas V. E., Fernández C. M., Pérez B. A., Parafita J. M., Berrocal M., Urquijo Z. S., García S. F. y Oliet P. 2000.** Manual de Contaminación Marina y Restauración del litoral contaminación, accidentes y catástrofes, agresiones a las costas y soluciones, la pesca, la ordenación y la gestión del litoral. España. Ediciones mundi-prensa, pp. 559.

**Sexto Simposio Brasileiro de Captacao e Manejo de Agua de Chuva. 2007.** Inactivación de coliformes totales en agua para consumo humano vía luz ultravioleta y calor mediante hornos solares, en zonas urbanas y/o rurales de Querétaro. Robles Dávila, L. Ortiz Arredondo, F. Martínez. García L. Universidad Autonoma de Queretaro, C.U. Cerro de las campanas 76010, Queretaro. Qro. Mexico. 8pp.

**Stuart T. W. 2000.** Microbiología. Mc Graw-Hill Interamericana. Philadelphia, Pennsylvania. USA. pp 532.

**Talleres/Simposio sobre Ecosistemas Costeros del Golfo de Mexico y Mar Caribe: hacia la integración de grupos de investigación. 2006.** Tecnología de la Depuración de Moluscos bivalvos de los sistemas lagunares de Veracruz: Ozono y rayos ultravioleta. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas. Villahermosa Tabasco México. 2 pp.

**Thatcher F. S. y Clark D. S. 1972.** Análisis microbiológicos de los alimentos, Editorial acriba, España.

**Urrutia J. 2008.** La bahía de Jiquilisco, sus recursos naturales y su estado. AKADEMOS. Revista Universidad Matías Delgado Vol. 2 N°3(2) El Salvador Pp 102-109.

**FDA (U.S. Food and Drug Administration). 2002.** Center for Food Safety and Applied Nutrition Foodborne Pathogenic Microorganisms and natural Toxins Manual. Feb.

**Vásquez H. E., Pacheco S. P., Pérez I. M., Cornejo N. E., Córdova M. F. y Kan K. 2009.** Producción artificial de semilla y cultivo de engorde de moluscos bivalvos. Informe Técnico. Centro de desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA). Puerto El Triunfo, Departamento de Usulután, El Salvador. 75pp.

**Wong E., Antillon F., Glenn E., y Gonzales M. I. 1997.** Depuración microbiológica artesanal de la piangua, *Anadara tuberculosa* (Mollusca: Arcidae). Revista Biología Tropical, Vol. 45(4). Costa Rica. Pp 1445-1451.

**Wood P. C. 1978.** Public Health aspects of shellfish from polluted waters. Int. Syrup. on biological indicators of water quality, Newcastle upon Tyne, 12-15 September, 1978.

**WordReference com. 2013.** Definición sifón. Disponible desde la web: <http://www.wordreference.com/definicion/sif%C3%B3n>

**World Health Organization, Pan American Health Organization. 1988.** Guías para la calidad del agua potable. Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Washington, D.C. Número 481, Volumen 3.

**Wikipedia 2012.** *Escherichia coli* enterohemorrágica. Disponible desde la web: [http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli\\_enterohemorr%C3%A1gica](http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli_enterohemorr%C3%A1gica)

\_\_\_\_\_, **2013.** Citrobacter. Disponible desde la web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Citrobacter>, consultado: (Febrero/2013).

## XI. ANEXOS

**Anexo 1:** Extracción de “curiles” (*A. tuberculosa*) en sitio de muestreo Las Flores.



**Anexo 2:** Medición de parámetros físicos químicos del agua superficial del estero.



**Anexo 3:** Hoja de datos del proceso de colecta.

**Proceso de Colecta de muestras.**

---

Región (punto de muestreo): \_\_\_\_\_

Fecha de recolección: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

---

---

**COORDENADAS DEL LUGAR DE RECOLECCIÓN**

Latitud

Longitud

Altitud

**NUMERO DE MUESTRA (curíl) COLECTADA.**

sitio 1

sitio 2

**PARAMETROS FISICO QUIMICOS DEL AGUA SUPERFICIAL.**

salinidad

temperatura

**OBSERVACIONES**

---

**Anexo 4:** Procesamiento previo a la depuración.

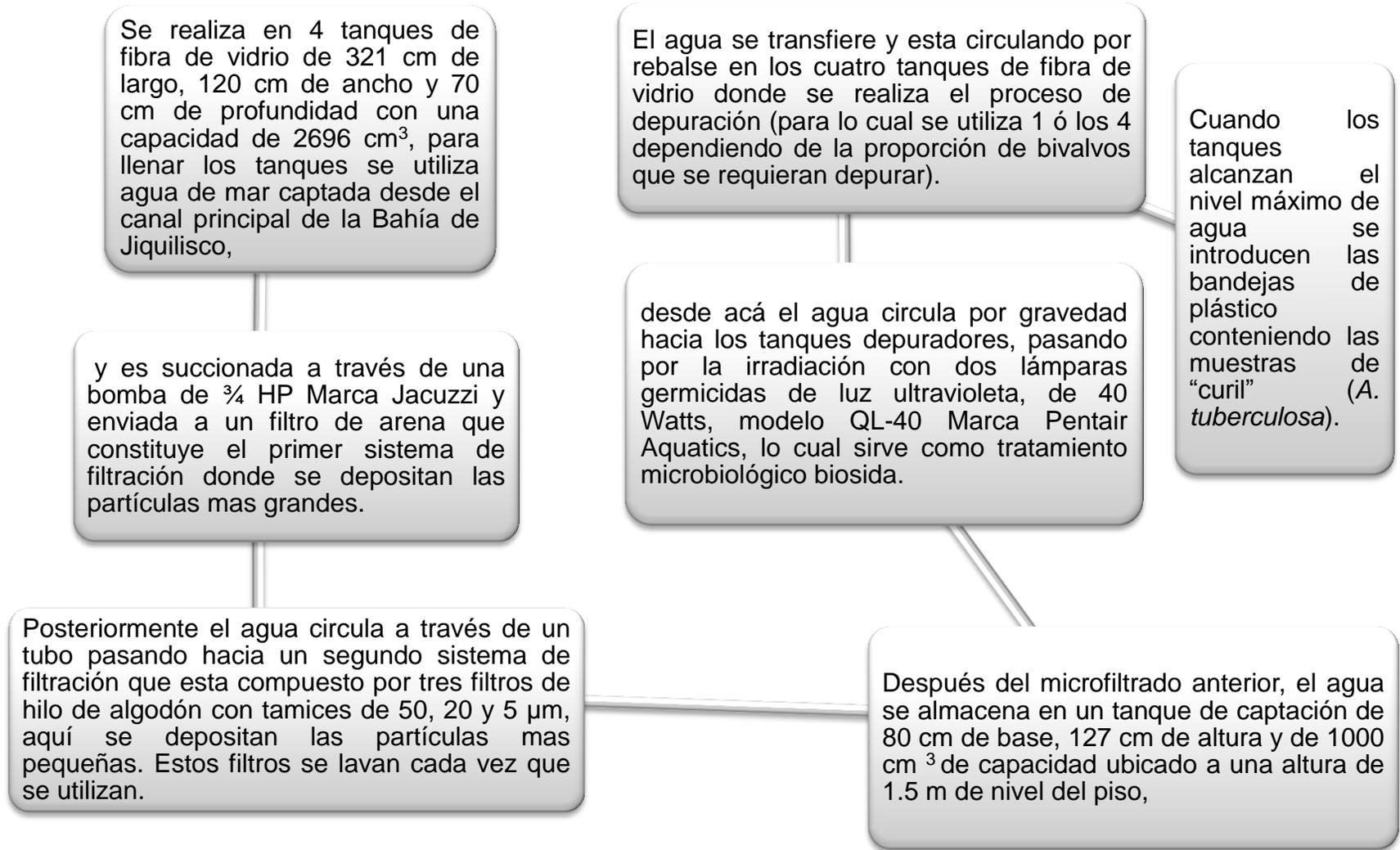
a) Limpieza de muestras (conchas) previo a la depuración.



b) Colocación de canasta de plástico con muestras dentro del sistema depurador.

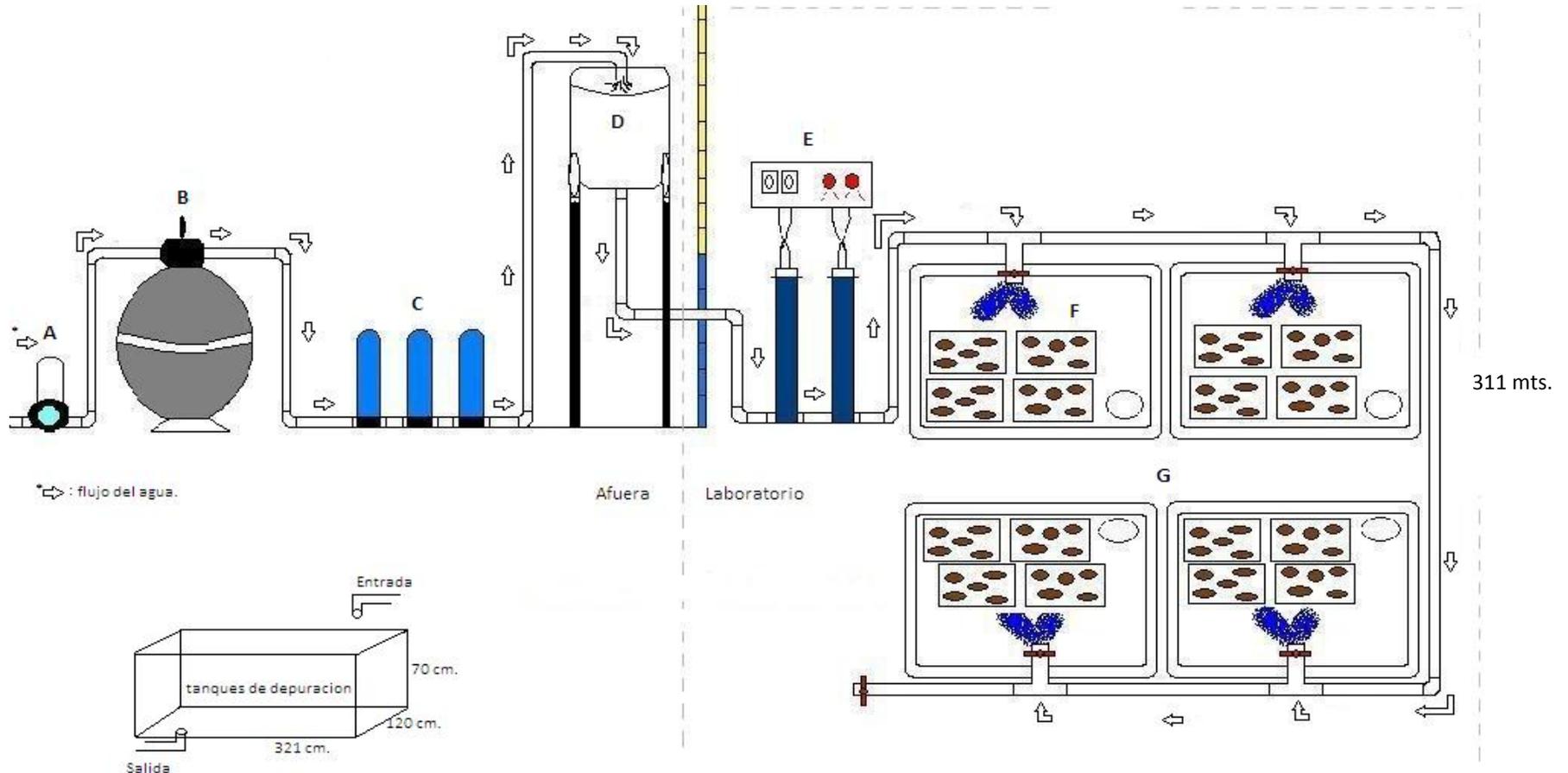


**Anexo 5:** Procedimiento del funcionamiento del sistema de depuración.



**Anexo 6:** Sistema de depuración actual de la Estación Acuícola de Moluscos del Puerto El Triunfo (Elaborado por Franco K. 2012).

**A):** Bomba  $\frac{3}{4}$  HP, **B):** Filtro de arena (Primer sistema de filtración), **C):** Tres filtros de cartuchos hechos con hilo de algodón con las escalas  $50\mu$ ,  $20\mu$  y  $5\mu$  para la retención de partículas con diferentes medidas (Segundo sistema de filtración), **D):** Tanque de captación elevado utilizado para que el agua baje por gravedad y facilitar el llenado de los 4 tanques restantes. **E):** Lámparas de luz ultravioleta de 40Watts modelo QL-40, para la esterilización del agua, **F):** Canastas de plástico con muestras (conchas), **G):** Tanques de  $2.696 \text{ m}^3$  de capacidad.



**Anexo 7:** Hoja de datos del proceso de inicio del sistema de depuración.

**Depuración.**

Región (punto de depuración) \_\_\_\_\_

Fecha de Depuración: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

**COORDENADAS DEL LUGAR DE DEPURACIÓN**

Latitud

Longitud

Altitud

hora de inicio del  
proceso:

hora de finalización del  
proceso:

**NÚMERO DE MUESTRAS INTRODUCIDAS AL PROCESO.**

Sitio 1

Sitio 2

Tiempo de radiación con UV:

Tiempo de radiación con UV:

**PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DEL AGUA RADIADA CON LUZ UV.**

salinidad

temperatura

pH

**OBSERVACIONES**

**Anexo 8:** Extracción y procesamiento de muestras de "curil" (*A. tuberculosa*).

**1)** Lavado y cepillado de muestras con detergente.



**2)** Apertura del bivalvo con un cuchillo esteril.



**5)** Se colocaron en doble bolsas plásticas esterilizadas tipo "Ziploc" debidamente etiquetadas.



**4)** Envolvimiento de tejido en doble papel aluminio.



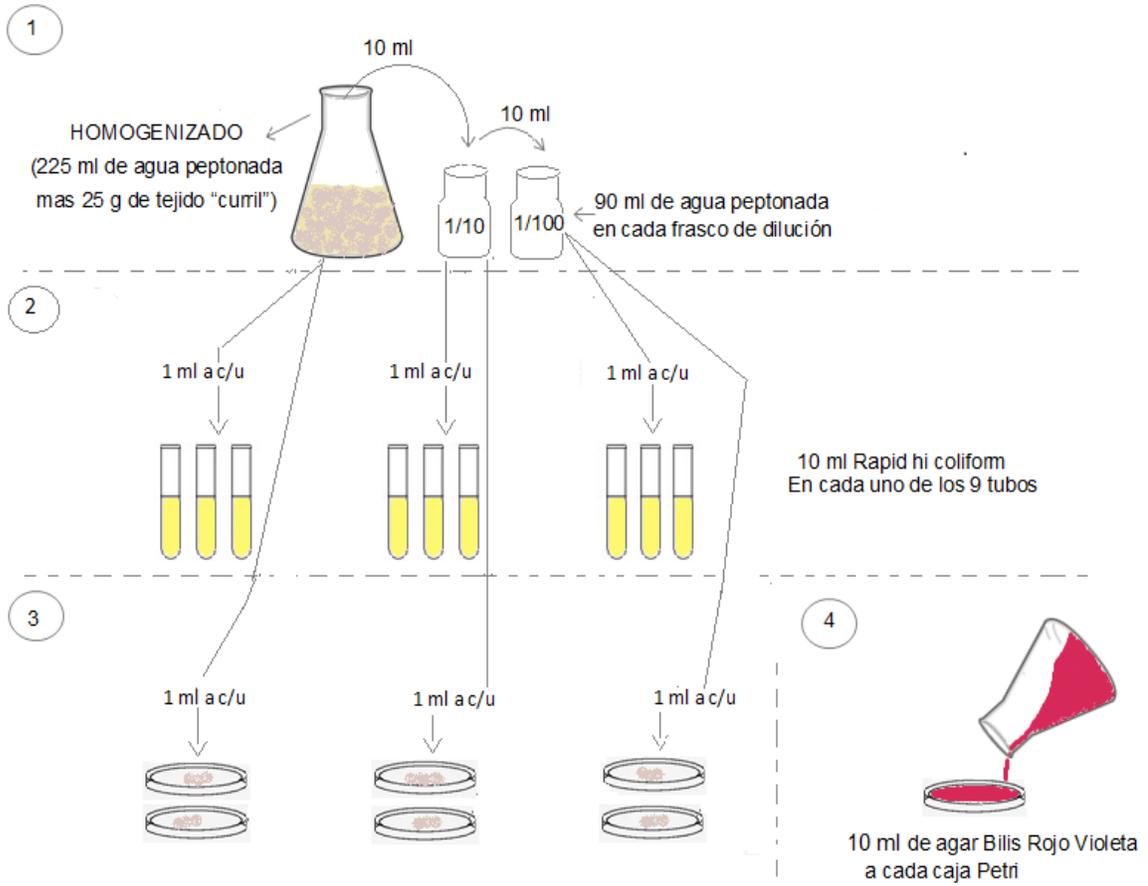
**3)** Extracción del tejido blando.



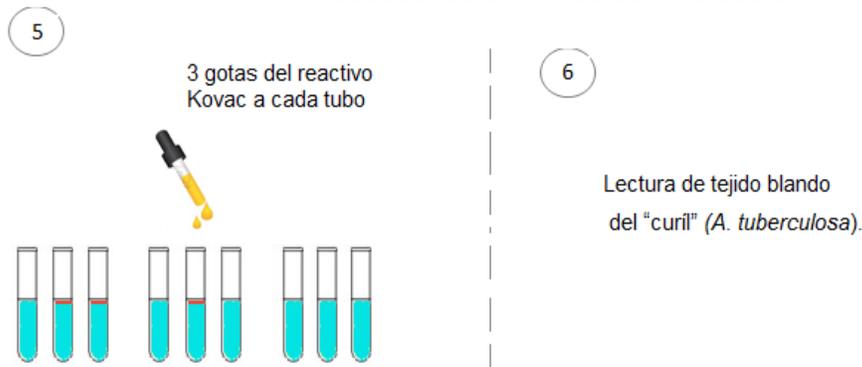
**6)** Trasportacion a una temperatura de 4° C al Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico.



**Anexo 9: Análisis bacteriológico de tejido blando del "curil" (*A. tuberculosis*) (Elaborado por Franco K. 2012).**



**Pasadas las 24 horas de incubación.**



**Anexo 10:** Procedimiento del análisis bacteriológico de tejido blando del “curil” (*A. tuberculosis*).



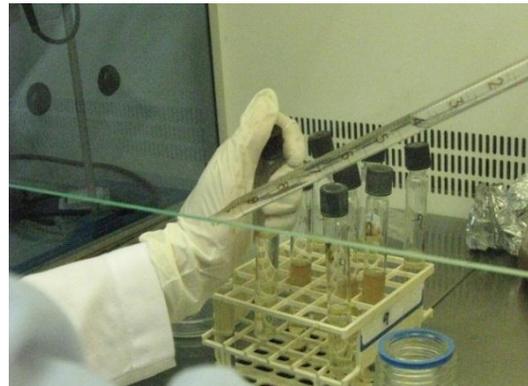
a. Homogenización de tejido de “curil” (*A. tuberculosis*) en aparato stomacher.



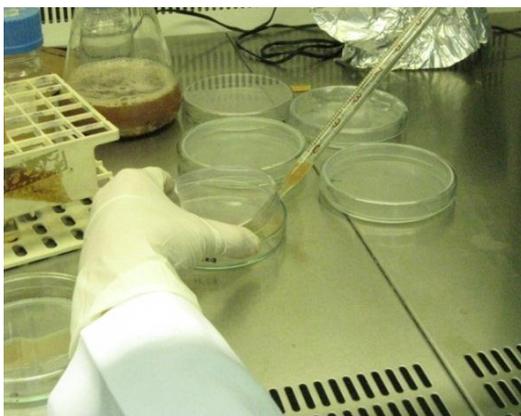
b. Vertido de homogenizado para realizar diluciones.



c. Diluciones del homogenizado con agua peptonada.



d) Vertido de diluciones a tubos de ensayo conteniendo medio Rapid Hi Coliform.



e. Vertido de diluciones a cajas Petri.

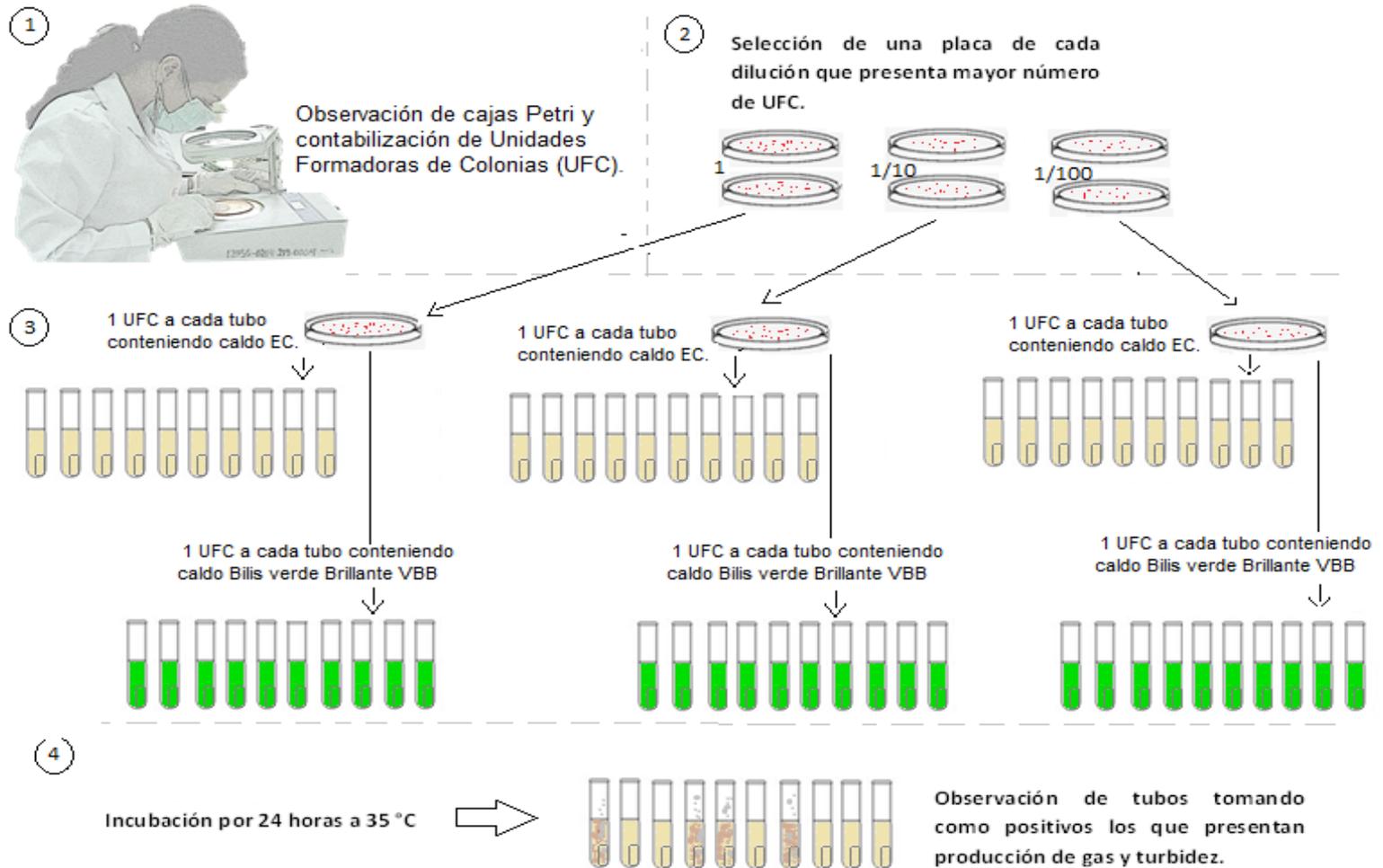


f. Vertido de Bilis Rojo Violeta (VRBA) a caías Petri.

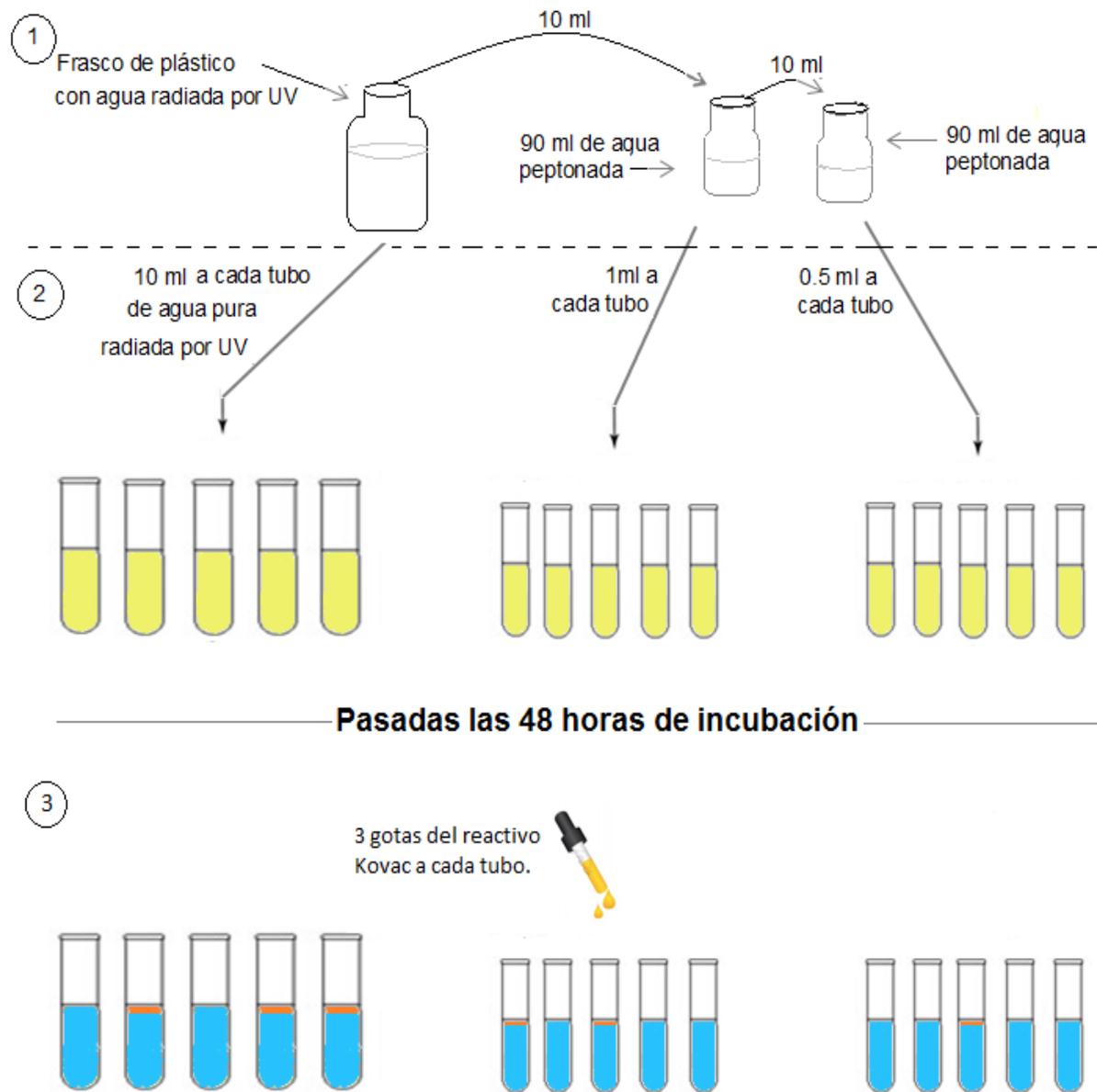
**Anexo 11:** Tabla del número más probable para tres serie de tres tubos de 0,1, 0,01 y 0,001 g de inóculo, y un 95 por ciento de intervalos de confianza (NMP/100ml) (Feng *et al.* 2002).

Pos. tubos			NMP / g	Conf.. Lim.		Pos. tubos			NMP / g	Conf.. Lim.	
0,10	0,01	0,001		Bajo	Alto	0,10	0,01	0,001		Bajo	Alto
0	0	0	<3,0	-	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0,15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0,15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0,17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	> 1100	420	-

**Anexo 12:** Recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) (Elaborado por Franco K. 2012).



**Anexo 13:** Análisis bacteriológico del agua radiada con luz ultravioleta del sistema de depuración  
(Elaborado por Franco K. 2012).



Identificación de *E. coli* por medio de lámparas UV, dando como positivo una fluorescencia azul lechosa intensa,

**Anexo 14:** Tabla del número más probable para tres series de cinco tubos de 0,1, 0,01 y 0,001 g, inóculos, y un 95 por ciento de intervalos de confianza (NMP/100ml) (Feng *et al.* 2002).

Pos. Tubos			NMP / g	Conf. Lim.		Pos. tubos			NMP / g	Conf. lim.	
0.1	0,01	0,001		Bajo	Alto	0.1	0,01	0,001		Bajo	Alto
0	0	0	<1,8	-	6.8	4	0	2	21	6.8	40
0	0	1	1.8	0,09	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	1	0	1.8	0,09	6.9	4	1	0	17	6	40
0	1	1	3.6	0.7	10	4	1	1	21	6.8	42
0	2	0	3.7	0.7	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	1	3	31	10	70
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
1	0	0	2	0.1	10	4	2	1	26	9.8	70
1	0	1	4	0.7	10	4	2	2	32	10	70
1	0	2	6	1.8	15	4	2	3	38	14	100
1	1	0	4	0.7	12	4	3	0	27	9.9	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	1	33	10	70
1	1	2	8.1	3.4	22	4	3	2	39	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	0	34	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	1	40	14	100
1	3	0	8.3	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	1	10	3.5	22	4	5	0	41	14	100
1	4	0	11	3.5	22	4	5	1	48	15	120
2	0	0	4.5	0,79	15	5	0	0	23	6.8	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	1	31	10	70
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	2	43	14	100
2	1	0	6.8	1.8	17	5	0	3	58	22	150
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	0	33	10	100
2	1	2	12	4.1	26	5	1	1	46	14	120
2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	2	63	22	150
2	2	1	12	4.1	26	5	1	3	84	34	220
2	2	2	14	5.9	36	5	2	0	49	15	150
2	3	0	12	4.1	26	5	2	1	70	22	170
2	3	1	14	5.9	36	5	2	2	94	34	230
2	4	0	15	5.9	36	5	2	3	120	36	250
3	0	0	7.8	2.1	22	5	2	4	150	58	400
3	0	1	11	3.5	23	5	3	0	79	22	220
3	0	2	13	5.6	35	5	3	1	110	34	250
3	1	0	11	3.5	26	5	3	2	140	52	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	3	180	70	400
3	1	2	17	6	36	5	3	4	210	70	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	0	130	36	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	1	170	58	400
3	2	2	20	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	3	0	17	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	4	350	100	710

3	3	2	24	9.8	70	5	4	5	430	150	1100
3	4	0	21	6.8	40	5	5	0	240	70	710
3	4	1	24	9.8	70	5	5	1	350	100	1100
3	5	0	25	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
4	0	0	13	4.1	35	5	5	3	920	220	2600 2600
4	0	1	17	5.9	36	5	5	4	1600	400	4600
						5	5	5	> 1600	700	-

## XII. GLOSARIO

***Citrobacter***: causa frecuente infecciones importantes, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos, es uno de los patógenos más importantes en unidades de cuidados neonatales hospitalarios, en los seres humanos producen, infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales (Wikipedia, 2013).

**Enterohemorrágica *Escherichia coli* (EHEC)**: son determinados filos de la bacteria intestinal *Escherichia coli* causantes de enfermedades, el sufijo enterohemorrágica (entero del griego antiguo έντερον enteron – intestino y hemorrágica de hemorragia) indica que el EHEC puede dar lugar a enfermedades diarreicas con sangre (colitis enterohemorrágica) (Wikipedia, 2012).

**Enterotoxigénas, *Escherichia coli* (ECET)**: Se parece mucho a *Vibrio cholerae*, se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade, y elabora toxinas que producen diarrea, no hay cambios histológicos en las células de la mucosa y muy poca inflamación, produce diarrea no sanguinolenta en niños y adultos, sobre todo en países en vías de desarrollo (Wikipedia, 2012).

**Enteroinvasoras, *Escherichia coli* (ECEI)**: Es inmóvil, invade el epitelio intestinal causando diarrea sanguinolenta en niños y adultos, libera el calcio en grandes cantidades impidiendo la solidificación ósea, produciendo artritis y en algunos casos arterioesclerosis, es una de las *E. coli* que causa más daño debido a la invasión que produce en el epitelio intestinal (Wikipedia, 2012).

**Enteropatógenas, *Escherichia coli* (ECEP)**: Esta cepa causa diarrea en humanos, conejos, perros y caballos, estas bacterias son moderadamente invasivas: penetran en las células hospedadoras provocando una respuesta inflamatoria (Wikipedia, 2012).

**Enteroagregativas, *Escherichia coli* (ECEA):** Sólo se encuentra en humanos, tienen fimbrias con las que aglutinan células en los cultivos de tejidos, se unen a la mucosa intestinal causando diarrea acuosa sin fiebre, no son invasivas (Wikipedia, 2012).

***Escherichia coli* de adherencia difusa (ECAD):** Se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o malnutridos, no se ha demostrado que pueda causar diarrea en niños mayores de un año de edad, ni en adultos y ancianos (Wikipedia, 2012).

**Eutrofización:** Proceso natural en ecosistemas acuáticos, especialmente en lagos, caracterizado por un aumento en la concentración de nutrientes como nitratos y fosfatos, con los consiguientes cambios en la composición de la comunidad de seres vivos (Olivares *et al.*, 2004).

***Klebsiella:*** género de diplococos en forma de pequeños bastones, con extremos redondeados y sin flagelos. Existen varias enfermedades respiratorias, como bronquitis, sinusitis y algunas formas de neumonía, que están producidas por la infección por distintas especies de *Klebsiella* (Academic, 1999).

**Pasteurización:** es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objeto de reducir los agentes patógenos que puedan contener: bacterias, protozoos, mohos y levaduras (Hayes, 1993).

**p valor:** es la probabilidad, calculada al asumir que  $H_0$  es cierta, y de que la estadística de prueba tome valor tan extremos o más extremos que los calculados con la muestra actual (Balzarini *et al.*, 2008).

**Sifón (sifoneo):** Tubo encorvado que sirve para sacar líquidos del vaso que los contiene, haciéndolos pasar por un punto superior a su nivel, el sifoneo, se refiere a limpiar el fondo de acuarios, tanques etc., por medio de un aparato eléctrico o manual (WordReference, 2013).