

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



“CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES FECALES EN *Anadara similis* y *A. tuberculosa*
EN LOS ESTUARIOS BARRA DE SANTIAGO, JALTEPEQUE Y EL TAMARINDO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

VERÓNICA ESPERANZA MELARA PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA OCTUBRE, 2006

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



“CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES FECALES EN *Anadara similis* y *A. tuberculosa*
EN LOS ESTUARIOS BARRA DE SANTIAGO, JALTEPEQUE Y EL TAMARINDO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

VERÓNICA ESPERANZA MELARA PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Asesor: _____

M. Sc. Oscar Wilfredo Paz Quevedo

Asesor: _____

Dr. José Enrique Barraza

CIUDAD UNIVERSITARIA OCTUBRE, 2006

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



“CONTAMINACIÓN POR COLIFORMES FECALES EN *Anadara similis* y *A. tuberculosa*
EN LOS ESTUARIOS BARRA DE SANTIAGO, JALTEPEQUE Y EL TAMARINDO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

VERÓNICA ESPERANZA MELARA PÉREZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Jurado: _____

M. Sc. Oscar Armando Molina

Jurado: _____

Dr. Rigoberto Ayala

CIUDAD UNIVERSITARIA OCTUBRE, 2006

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTORA

Dr. MARIA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIA GENERAL

Licda. ALICIA MARGARITA RIVAS

FISCAL:

Lic. PEDRO ROSALIO ESCOBAR

DECANO:

Lic. JOSE HECTOR ELIAS DÍAZ

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE BIOLOGÍA

M. Sc. ANA MARTHA ZETINO

CIUDAD UNIVERSITARIA OCTUBRE, 2006

ASESORES Y JURADOS

ASESOR:

M. Sc. Oscar Wilfredo Paz Quevedo

ASESOR:

Dr. José Enrique Barraza

JURADO EVALUADOR:

M. Sc. Oscar Armando Molina

JURADO EVALUADOR:

Dr. Rigoberto Ayala

CIUDAD UNIVERSITARIA OCTUBRE, 2006

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	8
HIPÓTESIS	9
REVISIÓN DE LITERATURA	10
Contaminación del agua.....	10
Organismos patógenos asociados a alimentos.....	12
Bacterias Coliformes Fecales.....	14
Biomonitorización de contaminantes mediante bivalvos.....	15
Coliformes Fecales en estuarios.....	16
Coliformes Fecales en Bivalvos.....	18
<i>Anadara similis</i> y <i>Anadara tuberculosa</i> como biomonitores.....	19
METODOLOGÍA	22
Descripción de las Áreas de Estudio.....	22
Barra de Santiago.....	22
Estero de Jaltepeque.....	22
Estero El Tamarindo.....	23

Recolecta de muestras.....	23
Procesamiento de la muestras.....	27
Metodología de laboratorio.....	27
Análisis estadístico.....	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES.....	51
BIBLIOGRAFÍA.....	54
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Ubicación de las estaciones de muestreo en Barra de Santiago. E1: El Espino 1, E2: El Espino 2, EC: El Cajetillo, EZ: El Zapatero..... 24
2. Ubicación de las estaciones de muestreo en Estero de Jaltepeque. EC: El Conchal, EL: El Limón, LT: La Trojona, SC: San Cruz.....25
3. Ubicación de las estaciones de muestreo en Estero El Tamarindo. C1: El Coco 1, C2: El Coco 2, EP: El Pargo, LV: Los Valientes.....26
4. Representación gráfica de los promedios de salinidad en las diferentes zonas de estudio entre abril y mayo 2006. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero Jaltepeque, y ET: Estero El Tamarindo..... 32
5. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo Barra de Santiago. Abril-Mayo-2006 EC: El Cajetillo, EZ: El Zapatero, E1: El Espino 1, E2: El Espino 2.....34
6. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo de Estero Jaltepeque. Abril-Mayo-2006 LT: La Trojona, EL: El Limón, EC: El Conchal, SC: Santa Cruz.....36
7. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo de Estero El Tamarindo. Abril-Mayo-2006. LV: Los Valientes, EP: El Pargo, C1: El Coco1, C2: El Coco 2..... 37
8. Figura 8. Media geométrica de NMP/g por estuario durante las cinco campañas de muestreo (abril-mayo 2006).....39
9. Media geométrica registrada para cada área de muestreo (Abril-Mayo 2006). Número de muestras analizadas por lugar: 20. Nivel máximo permisible según FDA..... 41

ÍNDICE DE CUADROS

1. Cuadro 1. Fechas y lugares de recolecta registrados durante las cinco campañas de muestreo en los Esteros Barra de Santiago, Esteros de Jaltepeque y El Tamarindo. Abril-Mayo2006.....	30
2. Cuadro 2. Coordenadas geográficas de las estaciones de muestreo. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero de Jaltepeque, ET: Estero El Tamarindo.....	31
3. Cuadro 3. Temperaturas registradas en las diferentes zonas de estudio entre abril y mayo 2006. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero de Jaltepeque, ET: Estero El Tamarindo, M: Fase de Muestreo.....	32
4. Cuadro 4. Niveles de NMP/g en <i>Anadara</i> spp. en Barra de Santiago.....	33
5. Cuadro 5. Niveles de NMP/g en <i>Anadara</i> spp. en Estero de Jaltepeque.....	35
6. Cuadro 6. Niveles de NMP/g en <i>Anadara</i> spp. en El Tamarindo.....	37
7. Cuadro 7. Estadísticos de tendencia central determinados para los niveles de NMP/g.....	38
8. Cuadro 8. Prueba de homogeneidad de Levene y Bartlett. F: valor calculado mediante ANAVA, P: Probabilidad del error, NS: No existe diferencia significativa en la comparación estadística ($p > 0.05$).	39
Cuadro 9. Análisis de varianza de un solo factor. SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de libertad, PC: Promedio de los cuadrados, F: Valor calculado, P: Probabilidad de error, FV: Mínimo valor para considerar que no hay diferencia significativas.....	40

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por apoyarme en todo momento, a los asesores M.Sc. Oscar Wilfredo Paz Quevedo y Dr. José Enrique Barraza por el apoyo profesional y científico brindado en el desarrollo de este trabajo; así como, a los miembros del jurado evaluador, M. Sc. Oscar Armando Molina Lara y Dr. Rigoberto Ayala.

También quiero agradecer a las personas que me ayudaron en el desarrollo de los muestreos: Rosita Aguilar de Villeda, José Antonio Villeda, Juan León; así como, a los demás miembros del equipo de guarda recursos y colaboradores del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN), destacados en Barra de Santiago. De igual forma, a la licenciada Elsy Hernández y personal de CENDEPESCA/San Luis La Herradura; y a Luis Ventura, apoyo técnico del ICMARES/UES destacado en el Estero El Tamarindo.

Además, manifiesto mi agradecimiento a la Dirección de Patrimonio Natural del MARN por su fina y valiosa colaboración prestada en el financiamiento del análisis de laboratorio. De igual manera expreso mi gratitud a: José Paredes, Delmy Melara y Flor Mendoza del Laboratorio de Calidad Integral de FUSADES y demás personas que laboran en él por su amable y fino trato, al permitir que pudiera participar en el desarrollo del proceso y análisis de muestras de tejido blando de los bivalvos.

RESUMEN

En este estudio se midieron los niveles de coliformes fecales en ejemplares de *Anadara similis* y *A. tuberculosa* recolectados en los estuarios Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo con la finalidad de verificar la utilidad de estos bivalvos para ser utilizados como biomonitores de contaminación por material fecal en esos ecosistemas. Los resultados de 60 muestras de los bivalvos en estudio indicaron que El Tamarindo reflejó los más altos niveles de esas bacterias (2-1100 NMP/g), lo contrario ocurrió en Barra de Santiago, donde se detectaron los niveles más bajos (2-93 NMP/g). Estas variaciones pueden estar asociadas al factor dilución según la extensión de estos ecosistemas; así como, actividades agropecuarias anexas, entre otros. La utilidad de estas especies como biomonitor de contaminación fecal en estuarios es relativa; ya que, su recolecta presentó dificultades de transporte y abundancia. También, se determinó que el 73.3% de las muestras superó los niveles permisibles recomendados por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos de América (230 NMP/100 g), lo cual indica el alto riesgo epidemiológico derivado del consumo de estos moluscos crudos.

ABSTRACT

Through out this study, coliform fecal in samples of *Anadara similis* and *A. tuberculosa* collected at Barra de Santiago, Jaltepeque and El Tamarindo estuaries in order to verify the usefulness of this of these bivalves for being used as fecal material biomonitor in those ecosystems. Results from 60 samples pointed out that El Tamarindo reflected the highest levels for those bacteria within the mentioned bivalves (2-1100 NMP/g), on the contrary, Barra de Santiago presented the lowest values (2-93 NMP/g). These variations might be associated to dilution factor according to this ecosystems surface, as well as livestock activities, amongst others. These species usefulness as fecal biomonitor within this estuaries is relative, since collecting presented abundance and logistical difficulties. Also, we determined that 73.3% of samples exceeded allowable levels recommended by the U.S. Food and Drug Administration (230 NMP/100 g), which indicates the epidemiological high risk derived from consumption of these raw bivalves.

INTRODUCCIÓN

Las zonas costeras presentan una gran variedad de usos; ya que, sirven para diversas actividades humanas relacionadas con la alimentación, energía, transporte, recreación y desarrollo urbano. Además, estas zonas son altamente productivas y complejas ecológicamente estables pero frágiles (Clark, 2001; Sindermann, 2006).

Los ecosistemas comprendidos en esas zonas son extremadamente valiosos desde los aspectos ecológicos, biológicos, económicos y sociopolíticos. Dentro de esos ecosistemas, se encuentran los estuarios que constituyen áreas idóneas para la reproducción, crianza y alimentación de moluscos, crustáceos, así como algunos peces. Además, en estas áreas se han establecido importantes puertos utilizados para la navegación debido a su conexión con zonas industriales, lo cual ha generado asentamientos humanos asociados (Yáñez-Arancibia, 1986; Day *et al.*, 1989).

A pesar de los beneficios antes mencionados, los estuarios constantemente reciben aguas residuales domésticas e industriales, las cuales adicionan diversos contaminantes, incluyendo patógenos entéricos, alterando la calidad de vida humana y silvestre; así como, a las interacciones ecológicas en estos humedales (Lipp *et al.* 2001).

Así mismo, Yáñez-Arancibia (1986), consideró que los estuarios presentan cuatro categorías generales de impactos por descargas de residuos líquidos, los cuales son: enriquecimiento con niveles excesivos de sustancias orgánicas, aguas con temperaturas superiores a las del cuerpo receptor (climas templados), alteraciones físicas e introducción de materiales tóxicos como metales, pesticidas, hidrocarburos, entre otros.

En relación a la contaminación orgánica, los estuarios cercanos a asentamientos humanos importantes, reciben descargas de aguas residuales con altos niveles de material fecal, jabones, residuos alimenticios, grasas, hormonas, antibióticos, hidrocarburos, entre otros (Salazar-Vallejo, 1991).

Por ello, se considera importante realizar estudios relacionados con la calidad ambiental de los estuarios mediante costos bajos, utilizando especies indicadoras como un método para inferir la calidad ambiental del ecosistema involucrado. Con frecuencia, se utilizan macro invertebrados (insectos, moluscos y crustáceos), debido a su fácil captura, manejo e identificación; además de que existe mayor información ecológica sobre ellos. Por el contrario, se ha determinado que los peces no son buenos indicadores debido a su movilidad, por lo tanto, los macroinvertebrados bentónicos constituyen un grupo de organismos apropiados para la evaluación de la contaminación en cuerpos de agua (De la Lanza-Espino *et al.*, 2000).

En ese sentido, la condición sésil de los bivalvos filtradores, permite que se utilicen como biomonitores confiables de contaminantes en estuarios, incluyendo los que reciben descargas de aguas residuales sin tratamiento alguno (Serrano-Dias & Nunes, 1994; Leyva-Castillo *et al.*, 1996; Solic *et al.*, 1999; Herrero *et al.*, 1999; Selegan *et al.*, 2001; Gagne *et al.*, 2002; Lara *et al.*, 2002).

Por ejemplo, Selegan *et al.* (2001), utilizaron al bivalvo dulceacuícola *Dreissena polymorpha* para monitorear niveles de *Escherichia coli* en aguas fluviales contaminadas con materia orgánica, en la ciudad de Detroit, USA. Además, el uso de biomonitores en ecosistemas acuáticos, permite la identificación, modelación y predicción del comportamiento de contaminantes biológicos en el ambiente. De igual forma, permite inferir la calidad ambiental de los mismos.

En relación a la biomonitorización de contaminantes en cuerpos de agua de El Salvador, se puede mencionar la utilización del bivalvo *Ostrea iridescens* como indicador de metales pesados, pesticidas e hidrocarburos de la zona de Acajutla (Michel y Zengel, 1998; Cotsapas *et al.*, 2000). También, *Mytella guyanensis* reflejó los niveles de metales pesados en la bahía de La Unión (Barraza y Carballeira, 1998). De igual forma, Barraza (2004) determinó diferentes elementos en el primer bivalvo mencionado anteriormente; así como, en *Anadara similis* y *A. tuberculosa*, recolectados a lo largo del litoral salvadoreño. Un estudio más detallado sobre niveles de As, Hg y Pb en *Anadara* spp. en el estero de Jaltepeque fue realizado por Azucena y López (2006). Así mismo, De la Lanza-Espino *et al.* (2000), consideraron a *A. tuberculosa* como un indicador de ausencia de contaminación orgánica en ecosistemas de manglar en la costa del Pacífico de México.

Para la elaboración del presente estudio, se contó con el apoyo del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) para la recolecta de las muestras de tejido blando y jugos de bivalvos *A. similis* y *A. tuberculosa*. También, el Laboratorio de Calidad Ambiental de la Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), colaboró en el análisis de las muestras.

Considerando la problemática ambiental y sanitaria existente en los estuarios de El Salvador, así como el elevado consumo mixto de ejemplares crudos de *Anadara tuberculosa* y *A. similis* en el país, se estimó necesario generar mayor información acerca de los niveles de bacterias coliformes fecales en los estuarios en estudio con lo que se pretende proponer herramientas prácticas de monitoreo ambiental de bajo costo. De esta manera, se utilizaron a los bivalvos mencionados en forma mixta, como biomonitores que permitieron indicar la calidad ambiental de los estuarios Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo; así como, la condición sanitaria de estos moluscos de consumo humano.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Medir los niveles de bacterias coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* recolectados en los estuarios Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar el grado de contaminación por material fecal en las diferentes zonas de muestreo con base a los niveles de coliformes fecales (NMP/g tejido) a ser determinados en los bivalvos *A. similis* y *A. tuberculosa*.

Comparar los niveles de coliformes fecales en las especies *Anadara. similis* y *A. tuberculosa* con los estándares internacionales para el consumo humano de bivalvos crudos.

Verificar la utilidad de *A. similis* y *A. tuberculosa* como biomonitores de contaminación fecal en ecosistemas estuarinos.

HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación

Los bivalvos *A. similis* y *A. tuberculosa* de los estuarios Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo son indicadores de la contaminación por bacterias coliformes fecales de dichos lugares.

Hipótesis nula

El grado de contaminación por bacterias coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* es similar en todas las áreas de muestreo.

Hipótesis alternativa

El grado de contaminación por bacterias coliformes fecales en *Anadara similis* y *A. tuberculosa* es diferente en todas las áreas de muestreo.

REVISIÓN DE LITERATURA

CONTAMINACIÓN DEL AGUA

El agua puede contener diferentes variedades de sustancias en solución en mayor o menor concentración. En tanto que éstas no alcancen niveles de concentración dañinos para la salud de los seres vivos, la ocurrencia de esas sustancias se considera normal. Sin embargo, a veces en el agua hay sustancias tóxicas, presentes en concentraciones que alteran desfavorablemente la calidad del agua (Walker *et al.*, 2001).

Se considera que el agua se contamina cuando se incorporan materias extrañas, como microorganismos, productos químicos, residuos industriales y de otros tipos; así como, aguas residuales domésticas e industriales. Estas materias deterioran la calidad del agua y limitan su uso para consumo humano y vida silvestre (Clark, 2001; Sinnderman, 2006).

La contaminación por materia orgánica en el medio marino causa desoxigenación, eutrofización, baja salinidad, propagación de enfermedades y alteración del metabolismo humano y la vida silvestre. Al aumentar la materia orgánica pueden ocurrir efectos negativos debido a la proliferación de epidemias asociadas a ella (Salazar-Vallejo, 1991). Así mismo, este autor, considera la contaminación marina como "la introducción antropogénica de sustancias indeseables que dañan a los recursos vivos, perjudican la salud humana, impiden el desarrollo de las actividades marítimas incluyendo la pesca, deterioran la calidad del agua para su uso y reduce las posibilidades para utilizarla", aunque se debe considerar que el término "indeseable" es subjetivo para esta temática.

En relación a los recursos hídricos del país, el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador (2002), mencionó que el territorio nacional

presenta aproximadamente 360 ríos principales. De éstos, el 90% de los ríos se encuentran contaminados por bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales, lo que permite calificarlos como cuerpos de agua de baja calidad sanitaria, lo cual se asocia a factores sociales, económicos y culturales (Flores, 1995). Muchos de estos ríos en mención, confluyen con los principales estuarios del país: Barra de Santiago, Estero de Jaltepeque, Bahía de Jiquilisco, Estero El Tamarindo y Bahía de La Unión. En todos los ecosistemas mencionados existen asentamientos humanos y cultivos agrícolas asociados, lo cual genera presión y alteración ambiental sobre los mismos.

Dentro de los contaminantes del agua generados por núcleos humanos se encuentran sustancias biodegradables y no biodegradables. Las primeras representan el mayor porcentaje de desechos producidos por actividades antropogénicas y se vierten en ecosistemas acuáticos principalmente. Dichos vertidos están compuestos por material orgánico susceptibles a la degradación bacteriana mediante un proceso oxidativo básico que transforma los compuestos orgánicos a inorgánicos solubles. Los segundos, no pueden ser descompuestos por bacterias o mediante otro tipo de ruptura por lo que su degradación es más lenta, dentro de estas sustancias podemos mencionar a los metales pesados, hidrocarburos halogenados, bifenilos y sustancias radiactivas (Carballeira *et al.*, 1997; Walker *et al.*, 2001).

Los bivalvos son reconocidos como portadores potenciales de bacterias, virus, protozoos, platihelminths, 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 (Leiva-Castillo *et al.*, 1996; Wong *et al.*, 1997; Webgeberg *et al.*, 1999; Doré *et al.*, 2000; Gómez-Couso *et al.*, 2002, 2003, 2004, 2005 a,b, 2006; Shieh *et al.*, 2003; Cremonte *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2005a,b; Normanno *et al.*, 2006; Peribáñez *et al.*, 2006).

En El Salvador, se han registrado algunos estudios sobre coliformes fecales en cuerpos de agua, como es el caso de la bahía de Jiquilisco, donde Alegría (1978), determinó bacterias de origen entérico en *A. tuberculosa* y también Sagastizado (1995), determinó que en muestras de agua de la zona Puerto El Triunfo y La desembocadura del río Chaguantique registraron los niveles superiores a 1100 NMP/100ml en coliformes totales; así como, un nivel superior a 1100 NMP/100ml de coliformes totales en el primer lugar antes mencionado.

FUSADES (2000), encontró niveles de coliformes fecales que oscilaron entre 42.4 NMP/ 100 a 1100 NMP/ 100 en la desembocadura del río Lempa lo cual contrasta con los datos obtenidos por Portillo (2003), quien detectó valores que oscilaron entre 800 y 36000 UFC/100ml, en la cuenca media del Río Grande de San Miguel.

ORGANISMOS PATÓGENOS ASOCIADOS A ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por ingestión de alimentos pueden ser divididas en dos: envenenamiento por consumo de alimentos contaminados por microorganismos, como el coco gran positivo, *Staphylococcus aureus*, que liberan toxinas que causan náuseas, con vómito y diarrea. El otro grupo de enfermedades son las infecciones por alimentos causadas por la proliferación de microorganismos en el cuerpo humano después de haber ingerido el alimento contaminado. También, Romero-Rojas (1999), mencionó algunas enfermedades y agentes causantes asociados al contacto o consumo de agua contaminada por materia fecal, por ejemplo infecciones en el oído (*Pseudomonas aeruginosa*), gastroenteritis (*Salmonella* spp.), disentería (*Shigella* spp.).

En ese sentido, alimentos como bivalvos contaminados con materia fecal pueden contener una gran variedad de agentes patógenos dentro de los cuales se encuentran virus, bacterias, protozoarios, y otros (Gómez-Cousso *et al.*, 2003,

2006; Miller *et al.*, 2005 a,b). Esto representa un serio riesgo epidemiológico a la salud humana y vida silvestre que ingiera estos moluscos crudos o mal cocidos. Además, diversos estudios indican que las bacterias asociadas a contaminación fecal ocurren en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo. Por ello, la presencia de coliformes fecales en bivalvos indica que aguas residuales han contaminado los ecosistemas acuáticos donde éstos habitan (Fernández & Brunker, 1977; Bonadona *et al.*, 1990; Lio-Po, 1990; Serrano-Dias & Nunes, 1994; Herrero *et al.*, 1999; Solic *et al.*, 1999; Clark, 2001; Gagne *et al.*, 2002; Salas, 2000; Sindermann, 2006).

En cuanto al riesgo epidemiológico que representa el consumo de bivalvos crudos, muchas agencias de control de calidad de alimentos han establecido parámetros que regulan los niveles de bacterias coliformes fecales y otras en bivalvos, requiriendo incluso, procesos de depuración de agua de mar libre de contaminantes. Sin embargo, varios estudios en diferentes partes del mundo, indican la capacidad de ciertos microorganismos y parásitos de permanecer en los tejidos de estos moluscos, a pesar de los tratamientos de depuración, lo cual representa un riesgo a la salud humana (Wong *et al.*, 1997; Dore *et al.*, 2000; Ho y Tam, 2000; Gómez-Couso, 2003, 2004, 2005 a, b, 2006; Normano *et al.*, 2006).

También, se debe tomar en cuenta que la mayoría de bivalvos son vectores de bacterias enteropatógenas, incluyendo *Salmonella typhi* y *Vibrio parahaemolyticus*, asociadas a gastroenteritis y diarreas, algunas de ellas severas (Burkhardt III y Calci, 2000; Miller, 2002). Aparte de las bacterias, los bivalvos pueden transmitir otro tipo de parásitos (Platyhelminthes) al ser consumidos crudos o cocidos levemente. Por ejemplo, *Cerastoderma edule* contiene al menos tres especies del tremátodo *Himasthala* spp., (Wegeberg *et at.*, 1999). También, Cremonte *et al.* (2005), detectaron céstodos en bivalvos de importancia comercial en Argentina.

BACTERIAS COLIFORMES FECALES

Dibase *et al.* (2006), mencionan que el intestino humano puede contener entre 400 a 500 especies de bacterias. Además, señala ventajas o beneficios, de la flora intestinal; ya que, estas bacterias están relacionadas con la inmunidad gastrointestinal y la digestión normal de los nutrientes. Sin embargo, pueden ocurrir efectos adversos; ya que, estos microorganismos también pueden causar infecciones e inflamación cuando se altera el equilibrio de poblaciones de dicha flora intestinal. Así mismo, parte de esa flora está constituida por las bacterias coliformes totales que se incluyen dentro de la familia Enterobacteriaceae (Giannella, 1982).

Las bacterias coliformes totales presentan metabolismo anaeróbico facultativo, capaces de fermentar azúcares para sobrevivir en ausencia de oxígeno y son gram-negativas (Stanier, 1981). También, Harley *et al.* (1995), detallaron que fermentan lactosa con formación de gas cuando se incuban por 24-48 horas a una temperatura de 35 °C. Su hábitat natural es el intestino de humanos y otros mamíferos, así como suelo y agua. Algunos géneros de este grupo son: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia* y *Citrobacter*, que podrían reflejar contaminación por material fecal al ser detectados en ecosistemas acuáticos y alimentos.

Sin embargo, las bacterias coliformes fecales son un subgrupo de las descritas anteriormente, difieren de las anteriores en el hecho que toleran y crecen a un ámbito de temperatura mayor al descrito previamente (44 - 44.5 °C). Incluyen a los géneros *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Éstos organismos proceden exclusivamente de materia fecal de intestinos humanos y animales de sangre caliente, por lo que su presencia en agua de consumo humano representa un alto riesgo epidemiológico (Portillo, 2003).

Al respecto, León-Suematsu (1995), mencionó que las bacterias coliformes fecales representan un indicador fiable de bacterias entéricas patógenas, aunque su utilidad para reflejar virus, protozoarios y helmintos entéricos es limitada, ya que, para ellos no existen indicadores seguros.

BIOMONITARIZACIÓN DE CONTAMINANTES MEDIANTE BIVALVOS

Los procedimientos de biomonitorización en ecosistemas acuáticos se basan en la recolección de organismos vivos con la finalidad de determinar las concentraciones de contaminantes que presentan sus tejidos. Estos organismos pueden ser algas marinas, musgos o invertebrados sésiles en la mayoría de los casos. Sin embargo, cuando el ecosistema carece de ellos, pueden “transplantarse” de otros lugares y posteriormente recolectarlos (Bryan *et al.*, 1985; Vásquez-Castro, 1997).

Además, los biomonitores deben cumplir ciertas características como: relevancia, por lo cual deben utilizarse especies que ocupen un eslabón importante en el ecosistema; de amplia distribución; supervivencia ante dosis leves de contaminantes; las respuestas ante sustancias xenobióticas deben medirse fácilmente y deben ser similares en condiciones equivalentes (Carballeira *et al.*, 1997; Walker *et al.*, 2001).

Al respecto, debido a la gran cantidad de superficie de tejido en contacto con el agua; así como, por la carencia de raíces, las algas marinas y musgos acuáticos se han utilizado mucho en técnicas de biomonitorización de contaminantes (Ho, 1990; Karez *et al.*, 1994; Haritonidis y Malea, 1995; Vásquez-Castro, 1997).

Así mismo, un grupo de organismos bentónicos comúnmente utilizados para la monitorización de contaminantes en cuerpos de agua a nivel mundial son los bivalvos, debido a su carácter sésil y filtrador (Bryan *et al.*, 1985; Carral, 1992;

Bonadonna *et al.*, 1990; Gagne *et al.* 2002). El empleo de bivalvos como *Cerastoderma edule*, *Scrobicularia plana*, *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, en estudios de indicación metálica en ecosistemas acuáticos está bien documentado en diferentes partes del planeta (Carral, 1992; Carral *et al.*, 1995; Puente *et al.*, 1996; Carballeira *et al.*, 1997; Frías-Espiricueta *et al.*, 1999; Acosta y Lodeiros, 2003). También se utilizan como indicadores de hidrocarburos a nivel mundial (Carro *et al.*, 2006; Negri *et al.*, 2006).

También en El Salvador, se han realizado algunos estudios destinados al monitoreo de metales en zonas costeras a nivel nacional, en los cuales se han utilizado las especies *A. similis*, *A. tuberculosa*, *Crassostrea iridescens*, *Mytella guyanensis* (Barraza y Carballeira, 1998; Barraza, 2003; Azucena y López, 2006). Sobresalen los elevados niveles de Cu y Zn en el tercer bivalvo mencionado (Mitchel y Zengel, 1998).

COLIFORMES FECALES EN ESTUARIOS

Bonadonna *et al.* (1990), utilizaron los bivalvos *Mytilus galloprovincialis*, *Donax trunculus*, *Ensis Siliqua minor*, *Chamela gallina*, para determinar niveles de coliformes fecales y otras enterobacterias en el litoral marino de Italia. El estudio reflejó que la cantidad de coliformes fecales presentes en los bivalvos depende de la densidad microbiana del agua donde estos se alimentan así como de la anatomía y fisiología de la especie.

De igual forma, en Israel se determinó que de 652 muestras de agua de la zona costera los niveles de coliformes fecales (NMP/100 ml), variaron de la siguiente forma: < 2 (17.8 %); 2-10 (33.4 %); 11-10 (36 %); > 100 (12.7 %). El estudio indicó una relación entre niveles altos de coliformes fecales con otras bacterias patógenas y enfermedades en nadadores (Yoshepe-Purer y Golderman, 1991).

En la misma temática, Mallin *et al.* (2000) describieron la riqueza de recursos bióticos costeros en Carolina del Norte y Sur de Estados Unidos, aunque también manifestaron que el rápido crecimiento urbano en estas costas ha generado contaminación en el agua debido a la introducción de material fecal y material orgánico. Esto coincide con un estudio realizado en la bahía de Sarasota, Florida del mismo país, en el cual se determinó que los riesgos epidemiológicos son altos para quienes nadan en las zonas próximas a descargas de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (Lipp *et al.*, 2001).

Además, en Turquía, se determinó en el estuario Golden Horn, en el cual se descargan altas cantidades de aguas domésticas e industriales, determinándose que los niveles de coliformes fecales se incrementaban durante periodos de alta salinidad, pH, oxígeno disuelto y altas concentraciones de orto-fosfato. El manejo apropiado de aguas residuales por cinco años, permitió que esta zona estuarina se pudiese destinar para actividades turísticas (Aslan-Yilmaz *et al.*, 2004).

De igual forma, se determinaron altos niveles de coliformes en zonas estuarinas cercanas a núcleos urbanos en el estuario del río Senegal y también, se comprobó que la cepa local de *E. Coli* presentó mayor supervivencia que la de referencia, al exponerlas a diferentes gradientes de salinidad (Troussellier *et al.*, 2004).

Así mismo, dentro de las técnicas de vigilancia se puede contar con herramientas como un modelo computacional propuesto por Cázares y Prado-Pano (1998), en el que considerando los parámetros del agua: pH, temperatura, coliformes fecales, oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno, se podrá predecir el comportamiento de esas bacterias en la bahía de Acapulco; haciendo así, más eficiente el uso de recursos.

A pesar del impacto generado por la contaminación orgánica en los estuarios, recientemente se ha investigado la capacidad natural de diluir y degradar ese tipo

de residuos; ya que, Acevedo-Merino *et al.*, (2005) comprobaron este proceso natural en el estuario del río Iro (Sureste de España), al determinar que las poblaciones de coliformes fecales en el agua, se reducían con rapidez en comparación con los estreptococos fecales.

En relación a El Salvador, se han registrado algunos estudios sobre coliformes fecales en cuerpos de agua, como en el caso de la bahía de Jiquilisco, donde Alegría (1978), determinó bacterias de origen entérico en *A. tuberculosa*. También Sagastizado (1995), registró los niveles de coliformes totales superiores a 1100 NMP/100 ml en la zona de Puerto El Triunfo y desembocadura del río Chaguantique, así mismo determinó > 11000 NMP/100 ml en sedimentos del primer lugar, indicando alta contaminación por materia orgánica en esa área. Así mismo, FUSADES (2000), encontró niveles que oscilaron entre 42.4 a 1100 NMP/100 ml en la desembocadura del río Lempa (La Pita). De igual forma, Portillo (2003), comprobó que en la cuenca media del Río Grande de San Miguel, los niveles de coliformes fecales variaron entre 800 y 36000 UFC/100ml.

COLIFORMES FECALES EN BIVALVOS

A nivel mundial la detección de coliformes fecales en bivalvos es una herramienta que permite detectar la calidad sanitaria de alimentos de consumo humano; así como, inferir la calidad ambiental de su habitat (Bonadona *et al.*, 1990; Solic *et al.*, 1999; Burkhardt III y Calci, 2000; Doré *et al.*, 2000; Mallin *et al.*, 2000; Selegan *et al.*, 2001; Lee y Younger, 2003).

Algunos de los ejemplos específicos sobre la temática incluyen a un estudio realizado en Portugal, donde se midieron los niveles de esas bacterias en *Mytilus edulis*, *Crassostrea angulata* y *Callista chione*. Los resultados fueron muy elevados; ya que, presentaron valores entre < 20 y 5400 NMP/ g (Serrano-Dias & Nunes, 1994). También, en Cuba se realizó un estudio de aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en

el cual se aislaron 234 cepas de vibrios patógenos con predominio de *Vibrio alginolyticus*; así como, otras especies de este género (Leyva-Castillo *et al.*, 1996). De igual forma, en Croacia se evaluó la tasa de concentración de bivalvos en moluscos bivalvos bajo diferentes condiciones ambientales los datos de coliformes fecales, los resultados obtenidos en ese estudio oscilaron entre 0 hasta 26915 NMP/g (Solic *et al.*, 1999).

Otros estudio reciente abarca a la almeja *Polymesoda solida* del litoral de Zulia, Venezuela, en el cual se detectaron diferentes tipos de patógenos entéricos como coliformes fecales (1.8×10^2 - 2.4×10^4 NMP/100 g), enterococos, estreptococos y los géneros *Shigella*, *Salmonella*, y *Vibrio* (Sarcos y Botero, 2005). Similares patógenos presentaron ejemplares comercializados del mejillón *Mytilus galloprovincialis* en diferentes zonas de Italia (Normanno *et al.*, 2006).

Estos casos de presencia de coliformes fecales y otros patógenos en bivalvos han requerido que numerosos países establezcan procedimientos para depurar los bivalvos a comercializar, para ello son objeto de un tratamiento de autodepuración en agua de mar filtrada. Sin embargo, Ho y Tam (2000), comprobaron que la depuración tradicional de bivalvos en Hong Kong, presenta riesgos epidemiológicos, ya que algunos enteropatógenos persisten después de ese proceso.

***ANADARA SIMILIS* Y *A. TUBERCULOSA* COMO BIOMONITORES**

Después de los artrópodos, los moluscos constituyen uno de los grupos más diversos; ya que, actualmente se han descrito alrededor de 100000 especies vivientes descritas. Las formas, tamaños y colores que poseen las conchas de estos individuos son muy variadas y dependen en gran medida del habitat donde se encuentran. Muchos organismos de este filo presentan importancia económica debido a la comercialización de su carne u otros derivados (Barnes, 1985).

Las especies propuestas para este estudio presentan una alta importancia económica debido a su comercialización como alimento. *A. similis* y *A. tuberculosa* pertenecen a la familia Arcidae, caracterizada por la concha robusta con costillas prominentes y presencia de periostraco color oscuro. Estas especies habitan en el lodo y se asocian a las raíces de los manglares en casi todo el Pacífico tropical de América (Chávez-Aparicio, 1996; MacKenzie, 2001; Borda y Cruz, 2004).

Según Keen (1971) y MacKenzie (2001), *A. similis* se distribuye desde Nicaragua hasta Perú, lo cual no coincide con lo observado; ya que, esta especie fue recolectada en los estuarios objeto de estudio y otros anteriores (Alegría, 1978; Chávez-Aparicio, 1996; Azucena y López, 2006). La otra especie se distribuye desde el golfo de California, México, hasta el Sur de Tumbes, Perú (Keen, 1971; Wong, *et al.*, 1997; De la Lanza-Espino *et al.*, 2000; MacKenzie, 2001).

Recientemente se han realizado estudios sobre la extracción comercial de estos bivalvos, por ejemplo se estudiaron las estadísticas de extracción de las dos especies anteriormente mencionadas en El Salvador, Honduras y México, determinando que la recolecta es más intensa en los dos primeros países (MacKenzie, 2001). De igual forma en Colombia se evaluó la tasa de crecimiento y mortalidad de estos bivalvos concluyendo que la mortalidad de estas especies era mayor a causa de la extracción comercial, en comparación con la mortalidad natural (Borda y Cruz, 2004).

En cuanto a la detección de coliformes fecales en estas especies en el Pacífico de Centroamérica, se puede mencionar que se han realizado estudios en el Golfo de Nicoya, Costa Rica, donde se comprobó que los recuentos de coliformes fecales en *A. tuberculosa* fueron altos cuando se les recolectaba en aguas contaminadas con material fecal; ya que, las aguas residuales de la ciudad de Puntarenas confluyen con ese golfo (Fernández y Brunker, 1977).

Además, Herrero *et al.* (1999), plantearon que *Anadara tuberculosa* constituye uno de los principales moluscos de consumo humano en Centroamérica; sin embargo, el agua donde habitan podrían estar contaminados con materiales dañinos, lo cual representa un riesgo para la salud pública, tanto para quienes se bañan, como para quienes los consumen. También, informaron que cuando los virus de aguas residuales, quedan atrapados en estos bivalvos, se alojan en la mucosa de las branquias y otros órganos. De esta manera los bivalvos pueden actuar como concentradores tanto de bacterias como de virus, aumentando así las posibilidades de infección al consumirlos crudos o cocidos deficientemente.

METODOLOGÍA

DESCRIPCIÓN DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO

Para describir las tres áreas estuarinas objeto de estudio, se considero información reciente (Jiménez *et al.*, 2004; MARN 2004; Ibarra-Portillo *et al.*, 2005), detallando a continuación cada uno los estuarios que fueron incluidos en este estudio.

BARRA DE SANTIAGO

El humedal de Barra de Santiago incluye la mayor extensión de manglar (2868 ha) y la menos alterada de la zona occidente de El Salvador. Este humedal se caracteriza por la variedad de especies de árboles de mangle presentes, algunos de ellos con alturas superiores a los 25 m. Dentro de estos relictos pantanosos destaca el mejor ejemplo encontrado en el país de sabana inundada dominada por *Brahea salvadorensis* (palma de sombrero). En este lugar se encuentran dos especies de mangle rojo, istaten, madresal, botoncillo y mangle blanco. En este manglar confluyen ríos procedentes de la zona montañosa Apaneca-Lamatepeq, muchos de ellos contaminados por agroquímicos y residuos domésticos. La barra costera arenosa asociada a esta zona está altamente poblada alrededor de la bocana El Zapote, donde residen aproximadamente 6000 habitantes quienes carecen de un sistema de drenaje de aguas residuales (fig. 1).

ESTERO DE JALTEPEQUE

Este ecosistema presenta aproximadamente 17568 ha de superficie, siendo uno de los de mayor proporciones del país. En el estero de Jaltepeque se puede observar los diferentes hábitats de humedales propios de la planicie costera de la región del Pacífico de Mesoamérica: estuarios, bajos intermareales de lodo y arena, playas de arena, manglares y pantanos dulces, bosques estacionalmente inundados. La

vegetación presente en dicho lugar es la siguiente: mangle rojo, sincahuite, istatén, botoncillo.

Muchos locales dependen de los recursos de la zona, tales como pesca, combustible a partir de leña y otros. La mayoría de los pobladores de esa zona carecen de un sistema de drenaje de aguas residuales domésticas. En este estero confluyen muchos ríos cuyo origen se asocia principalmente a la cadena volcánica ubicada al norte. Éstos atraviesan asentamientos humanos y campos agrícolas, por lo que depositan en el estero contaminantes asociados. La población urbana asociada al estuario alcanza 21287 habitantes y la rural, 12778 (fig. 2).

ESTERO EL TAMARINDO

Este ecosistema estuarino está constituido por manglares situado en la desembocadura del río Managuara, con árboles de porte medio y bajo en general (10 m), aunque en algunos sectores cobra una altura importante (15 m). Su extensión abarca 1029 ha. El río en mención atraviesa ciertos campos agrícolas y pequeños asentamientos humanos. Existen zonas aledañas dedicadas a la explotación de la sal. Los locales se benefician de la pesca, marisqueo en esa área, así como turismo. Al igual que en las áreas anteriores, no existe un sistema de drenaje sanitario para los 3000 habitantes asociados (fig. 3).

RECOLECTA DE MUESTRAS

La fase de campo incluyó seis campañas de muestreo, el primero de reconocimiento de las áreas y los otros cinco para la recolecta de muestras. En cada estuario se establecieron cuatro estaciones las cuales se detallan a continuación: Barra de Santiago los sitios (EC: El Cajetillo, EZ: El Zapatero, E1: El Espino 1, E2: El Espino 2); Estero de Jaltepeque (LT: La Trojona, EC: El Conchal, EL: El Limón, SC: Santa Cruz); en El Tamarindo (LV: Los Valientes, EP: El Pargo, C1: El Coco 1, C2: El Coco 2). Estos lugares fueron seleccionados debido a que en esas ocurre extracción comercial. La ubicación de éstas se detalla en las figuras 1,

2 y 3. De cada estación de muestreo se extrajeron 10-12 ejemplares de *Anadara* spp., completando así un total de 40-48 ejemplares por cada estuario en estudio durante cada campaña de muestreo. Al final de las 5 campañas de recolecta, se analizaron 60 muestras de ejemplares de *Anadara* spp.

Se debe señalar que la estación denominada El Espino 1 en Barra de Santiago, corresponde a un área con cerco, destinada a almacenar conchas con fines de comercialización. Se verificó que las muestras permanecieron 14 días como mínimo antes de ser recolectadas.

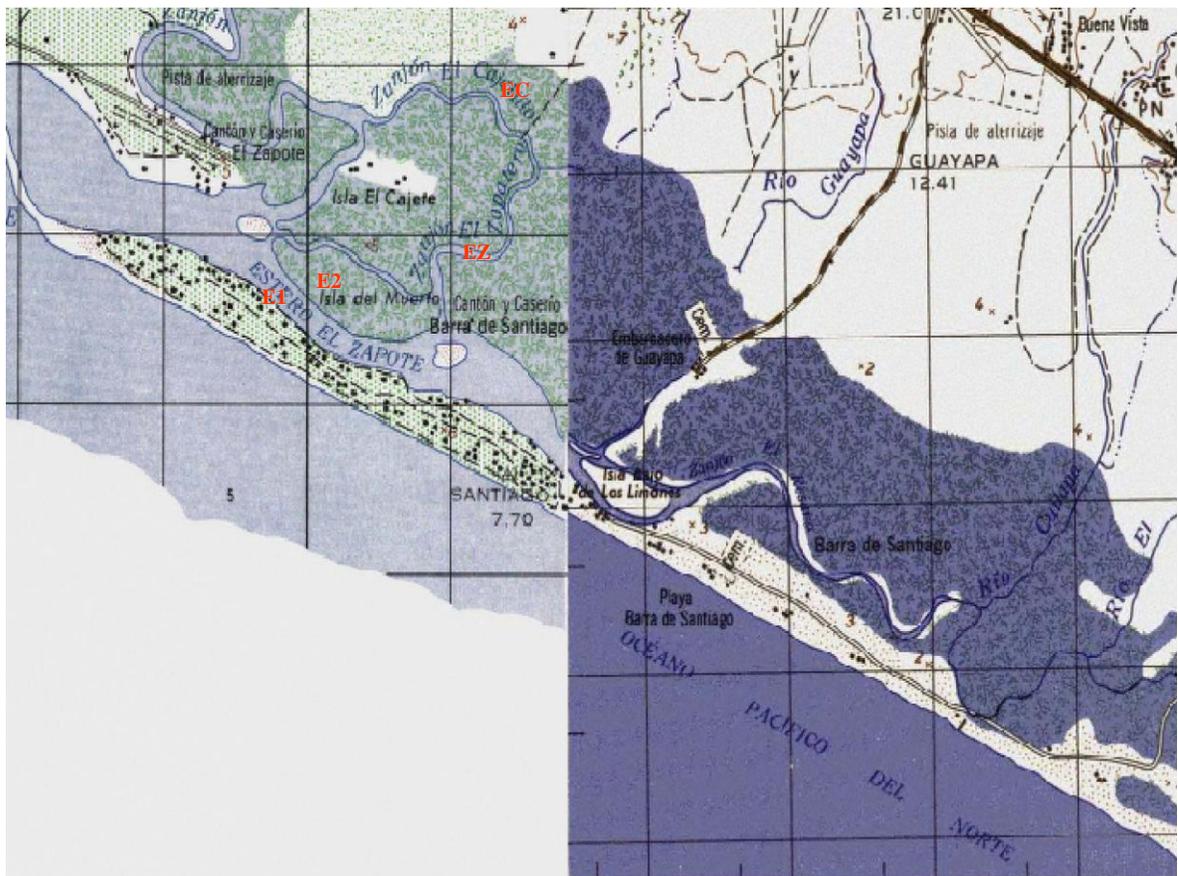


Figura. 1. Ubicación de las estaciones de muestreo en Barra de Santiago. E1: El Espino 1, E2: El Espino 2, EC: El Cajetillo, EZ: El Zapatero.

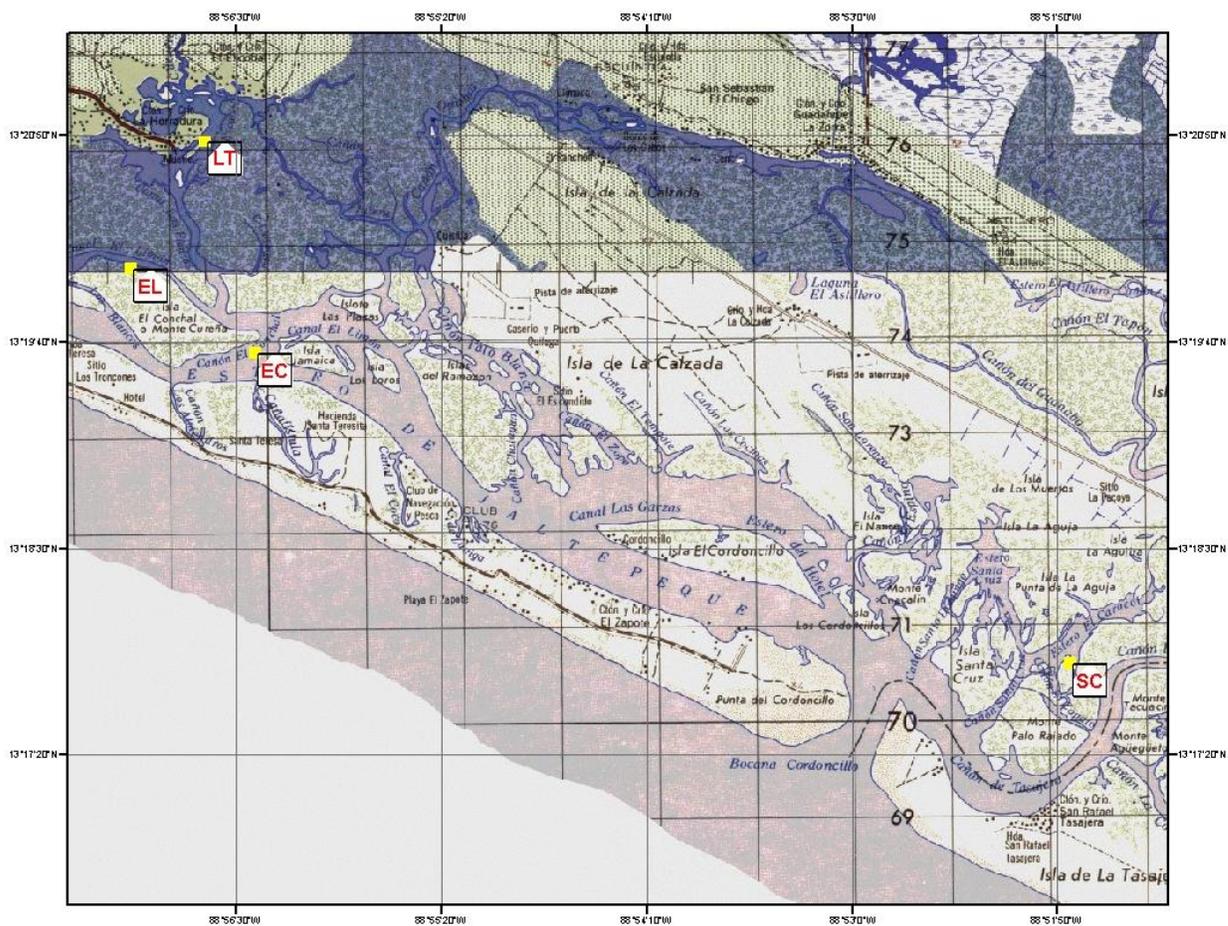


Figura 2. Ubicación de las estaciones de muestreo en Estero de Jaltepeque. EC: El Conchal, EL: El Limón, LT: La Trojona, SC: San Cruz.

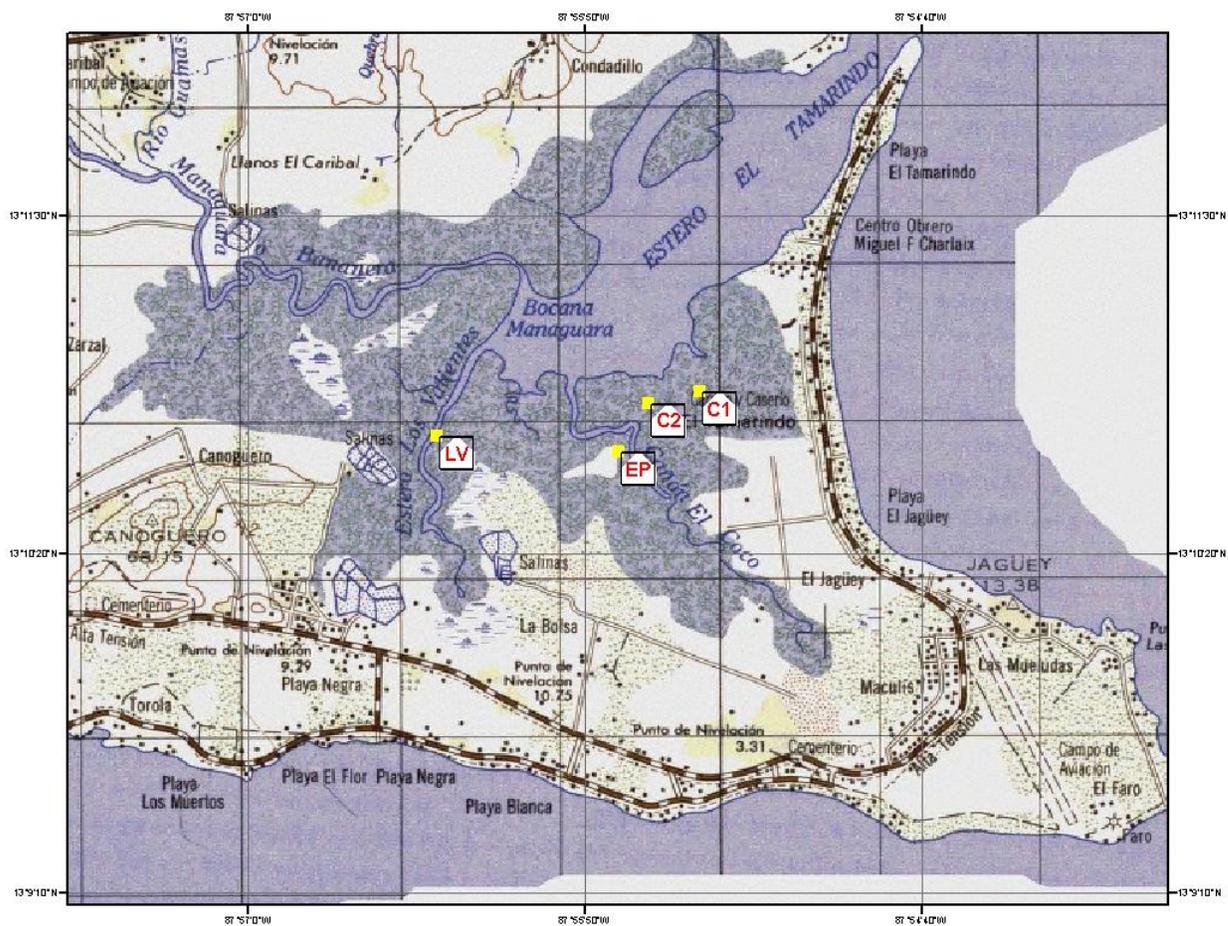


Figura 3. Ubicación de las estaciones de muestreo en Estero El Tamarindo. C1: El Coco 1, C2: Coco 2, EP: El Pargo, LV: Los Valientes.

Los sitios de muestreo establecidos fueron georreferenciados por medio del sistema de posicionamiento global (GPS). Además, se tomaron datos de temperatura (termómetro PREMIER CHINA) y salinidad (refractómetro ATAGO S/Mill-E) del agua en las estaciones de muestreo.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El primer paso consistió en frotar la superficie exterior de los bivalvos con un trozo de fibra dura conteniendo detergente biodegradable (Alconox), posteriormente se les agregó 5 ml de hipoclorito de sodio (10%), e inmediatamente se enjuagaron con agua potable, después fueron abiertas con un "abre conchas". El tejido blando se extrajo con bisturí y tijeras de disección esterilizadas con hipoclorito de sodio (10%), depositando 100 g de tejido blando y jugos de *Anadara tuberculosa* o *A. similis* en bolsas plásticas esterilizadas de 100 ml (Whirlpak, Nasco). Se debe aclarar que el equipo de disección se enjuagaba con la solución mencionada antes y posteriormente con agua esterilizada para prevenir contacto de la misma con tejidos blandos de los bivalvos. Las muestras se etiquetaron y se colocaron en una hielera (4 °C) para transportarlas al laboratorio de Calidad Integral de la Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES) el mismo día de recolecta.

La extracción de tejido blando de bivalvos en Barra de Santiago y El Estero de Jaltepeque, se realizó en las instalaciones del MARN/San Salvador. En el caso de las muestras recolectadas en el estero El Tamarindo, la extracción se realizó en la oficina del MARN en el Departamento de La Unión.

METODOLOGÍA DE LABORATORIO

Para el análisis bacteriológico, se utilizó tejido blando de los bivalvos en estudio, según la metodología propuesta por Feng *et al.* (1998), sugerida por la Administración de Alimentos y Medicina de los Estados Unidos de América (FDA). Para cuantificar los coliformes fecales se utilizó el método convencional del número

más probable (NMP/g), mediante la fermentación de caldo Lauril Sulfato (LST) en 3 series de 3 tubos.

Como primer paso se obtuvieron 25 g de líquido y carne de los bivalvos, a lo cual se le agregó 225 ml de agua peptonada (0.1%). Esta mezcla se homogenizó durante 2 minutos, aparato Stomacher que presiona rápidamente el tejido blando contenido en bolsa plástica, para obtener una muestra uniforme. Con este homogenizado se prepararon tres diluciones: la primera dilución o solución matriz fue colocada en un matraz, al cual se le agregó 90 ml de agua peptonada, la segunda dilución se preparó utilizando 10 ml de la dilución matriz y 90 ml del agua peptonada en mención, para la tercera dilución se tomarán 10 ml de la segunda dilución y se agregó 90 ml de la misma agua peptonada. Posteriormente se prepararon tres series de tres tubos, cada una los cuales contenía 9 ml de caldo Lauril Sulfato (LST). Con una pipeta volumétrica se midió 1 ml de la dilución matriz, lo cual se agregó a la primera serie de tubos, de la segunda dilución se tomó 1 ml y se colocó en la segunda serie de tubos, de la misma manera midió el mismo volumen de la tercera dilución y se depositaron en la tercera serie.

Estos tubos fueron colocados en incubación a 35⁰ C por 48 horas, la formación de gas y turbidez en el líquido indicó la prueba positiva (Barraza & Vásquez, 1988). Para tomar las muestras de los tubos que resultaron positivos se utilizó una asa que fue previamente flameada en un mechero, este proceso fue realizado para esterilizar ese instrumento y después haciendo uso del mismo se inocularon la segunda serie de tres tubos que contenían 9 ml de caldo EC y estos tubos fueron incubados a una temperatura de 44.5 ⁰C por 24-48 horas. Se calculó el NMP según el número de tubos que resultaron positivos (producción de gas y turbidez) con respecto a la Tabla de determinación del NMP (Blodgett, 1998).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se agruparon y se presentaron mediante medidas de estadística descriptiva (Reyes-Castañeda, 1980). Para facilitar el análisis estadístico se consideró el valor <3 NMP/g como 2.0 NMP/g. De igual forma, se dió énfasis a la media geométrica, como medida de tendencia central para datos que no presentan distribución normal (Bortman, 1999). Por ello, es uno de los parámetros estadísticos más utilizados para analizar coliformes fecales (Salas, 2000; Glasner y McKee, 2002; Sutherland, 2004).

También, debido a que los datos de coliformes presentaron tendencias diferentes a la distribución normal, se aplicó la transformación logarítmica ($\text{Log}(\text{NMP}+1)$) a esos datos para normalizarlos (Ott, 1988; Solic *et al.*, 1999; Ho y Tam, 2000; Salas, 2000; Lee y Young, 2003). Posteriormente, mediante el programa estadístico Stats Direct (2006) se determinó la homogeneidad de las varianzas de los datos mediante la prueba de Levene y Bartlett (web 1). Una vez comprobada dicha homogeneidad, se procedió a comparar los diferentes lugares en estudio mediante análisis de la varianza (ANAVA) de un solo factor (Ott, 1988).

RESULTADOS

En esta sección se incluyen los parámetros físicos que se registraron en los diferentes sitios de muestreo, así como, los niveles de bacterias coliformes (NMP/g tejido) presentes en los bivalvos objeto de estudio. El cuadro 1 detalla las fechas y zonas de recolecta de esos moluscos. Las coordenadas geográficas correspondientes a las 12 estaciones, determinadas mediante el sistema de posicionamiento global, se ubica en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Fechas y lugares de recolecta registrados durante las cinco campañas de muestreo en los Esteros Barra de Santiago, Esteros de Jaltepeque y El Tamarindo. Abril-Mayo 2006.

Nº de muestreo	Fechas	Lugar
1	24/04/06	Barra de Santiago
	25/04/06	Estero de Jaltepeque
	28/04/06	Estero El Tamarindo
2	1/05/06	Estero El Tamarindo
	2/05/06	Estero de Jaltepeque
	5/05/06	Barra de Santiago
3	10/05/06	Estero El Tamarindo
	11/05/06	Barra de Santiago
	12/05/06	Estero de Jaltepeque
4	15/05/06	Estero El Tamarindo
	17/05/06	Barra de Santiago
	18/05/06	Estero de Jaltepeque
5	24/05/06	Estero de Jaltepeque
	25/05/06	Estero El Tamarindo
	26/05/06	Barra de Santiago

Cuadro 2. Coordenadas geográficas de las estaciones de muestreo. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero de Jaltepeque, ET: Estero El Tamarindo.

Sitios de Muestreo	Coordenadas geográficas LN	Coordenadas geográficas LW	Características ambientales (tipo de sedimento, especies de manglar presentes, distancia de asentamientos humanos importantes, ancho de canal principal cercano a la estación)
BS/El Zapatero	13° 42' 1.7"	90° 0' 19.2"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> Barra de Santiago, 1000 m al sur 20 m
BS/El Cajetillo	13° 42' 34.8"	90° 0' 33.5"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> Barra de Santiago, 1800 m al sur 20 m
BS/El Espino 1	13° 41' 35.5"	90° 00' 22.8"	Fango arcilloso Barra de Santiago, 10 m al sur 300-400 m
BS/El Espino 2	13° 41' 42.7"	90° 0' 22.2"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> Barra de Santiago, 10 m al sur 300-400 m
EJ/La Trojona	13° 20' 48.2"	88° 56' 40.2"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> San Luis La Herradura, 111 m al oeste 100 m
EJ/El Conchal	13° 19' 36.2"	88° 56' 23.3"	Fango arcilloso en zona de manglar y banco de fango <i>Rhizophora mangle</i> Los Blancos, 2700 m al suroeste San Luis La Herradura, 2300 al noroeste 20 m
EJ/El Limón	13° 20' 04.7"	88° 57' 05.7"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> Los Blancos, 1500 m al suroeste San Luis La Herradura, 1400 m al norte 25 m
EJ/Santa Cruz	13° 17' 51"	88° 51' 45.2"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> , <i>Avicennia nitida</i> Los Blancos, 1500 m al suroeste San Luis La Herradura, 1400 m al norte 6 m
ET/Los Valientes	13° 10' 44.4"	87° 56' 20.5"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> 1000 metros al suroeste 10 m
ET/El Pargo	13° 10'41.2"	87° 55' 42.7"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> 1000 metros al este 10 m
ET/El Coco 1	13° 10' 55.6"	87° 55' 25.8"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> 500 metros al este 8 m
ET/El Coco 2	13° 10' 51.2"	87° 55' 36.4"	Fango arcilloso <i>Rhizophora mangle</i> 800 metros al este 6 m

SALINIDAD

La salinidad varió poco entre los tres estuarios en estudio: desde 25 hasta 31 unidades ponderadas de salinidad (ups), ocurriendo las máximas en abril de 2006 muestreos y las mínimas, en la última semana de mayo de 2006 (fig. 4).

TEMPERATURA

La temperatura diurna del agua superficial de los estuarios fue similar entre los diferentes lugares de estudio y varió muy poco, registrando un mínimo de 29.5 °C y máximo de 30.0 °C (Cuadro 3).

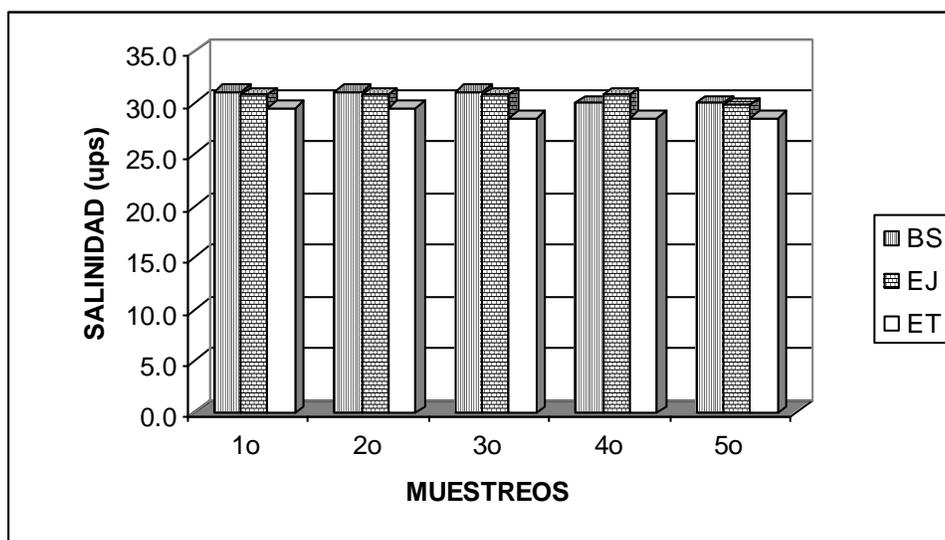


Figura 4. Representación gráfica de los promedios de salinidad en las diferentes zonas de estudio entre abril y mayo 2006. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero Jaltepeque, y ET: Estero El Tamarindo.

Cuadro 3. Temperaturas (°C) registradas en las diferentes zonas de estudio entre abril y mayo 2006. BS: Barra de Santiago, EJ: Estero de Jaltepeque, ET: Estero El Tamarindo, M: Fase de Muestreo.

M	BS	EJ	ET
1º	29.5	29.5	29.5
2º	29.5	29.5	29.5
3º	29.5	30.0	30.0
4º	30.0	30.0	30.0
5º	30.0	30.0	30.0

COLIFORMES FECALES EN *Anadara* spp.

Durante el período de estudio, se analizaron 20 muestras por estuario, completando un total de 60 muestras. Los niveles de coliformes fecales (CF) obtenidos en tejido blando y jugos de *A. similis* y *A. tuberculosa* en Barra de Santiago oscilaron entre 2 y 93 NMP/g, el primer valor se registró nueve veces en las diferentes estaciones; el segundo, en El Espino 1 y 2 (Cuadro 4, fig. 5).

Cuadro 4. Niveles de NMP/g en *Anadara* spp. en Barra de Santiago.

	ESTACIONES	FECHA MUESTREO	NMP/g	LOG (CF +1)
1RONDA	EC	24/04/06	23	1.3802
	EZ	24/04/06	43	1.6435
	E1	24/04/06	93	1.9731
	E2	24/04/06	93	1.9731
2RONDA	EC	5/5/2006	9	1.0000
	EZ	5/5/2006	23	1.3802
	E1	5/5/2006	2	0.4771
	E2	5/5/2006	2	0.4771
3RONDA	EC	11/5/2006	2	0.4771
	EZ	11/5/2006	2	0.4771
	E1	11/5/2006	2	0.4771
	E2	11/5/2006	7	0.9031
4RONDA	EC	17/05/06	2	0.4771
	EZ	17/05/06	2	0.4771
	E1	17/05/06	2	0.4771
	E2	17/05/06	4	0.6990
5RONDA	EC	26/05/06	9	1.0000
	EZ	26/05/06	23	1.3802
	E1	26/05/06	2	0.4771
	E2	26/05/06	2	0.4771

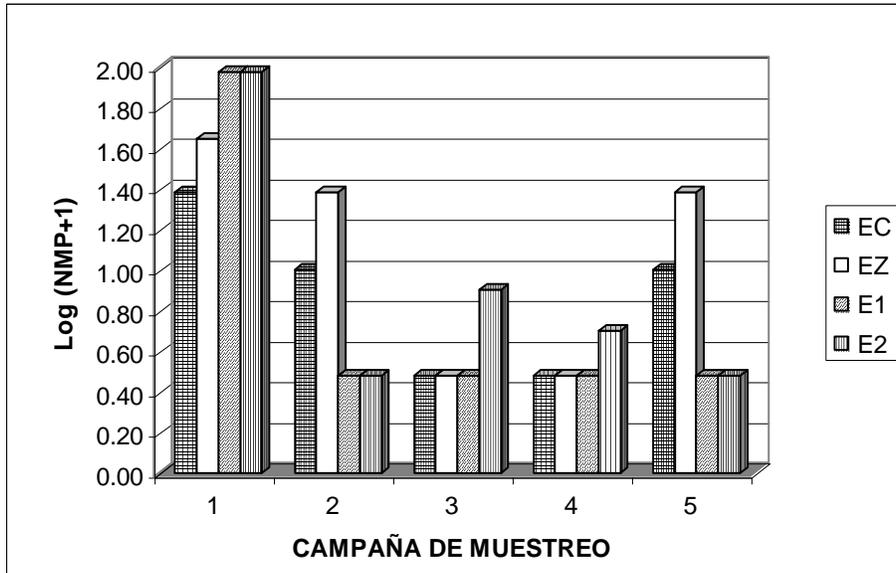


Figura 5. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo Barra de Santiago, abril-mayo 2006. EC: El Cajetillo, EZ: El Zapatero, E1: El Espino 1, E2: El Espino 2.

En el Estero de Jaltepeque, los menores valores de coliformes fecales ocurrieron en El Conchal y Santa Cruz (2 NMP/g). En cambio, la estación La Trojona, ubicada muy cerca de la ciudad de San Luis La Herradura, presentó los niveles más elevados (1100 NMP/g), de este estuario (Cuadro 5, fig. 6).

Cuadro 5. Niveles de NMP/g en *Anadara* spp. en Estero de Jaltepeque.

	ESTACIONES	FECHA MUESTREO	NMP/g	LOG (CF +1)
1RONDA	LT	26/04/06	23	1.3802
	EL	26/04/06	15	1.2041
	EC	26/04/06	23	1.3802
	SC	26/04/05	15	1.2041
2RONDA	LT	2/5/2006	93	1.9731
	EL	2/5/2006	15	1.2041
	EC	2/5/2006	9	1.0000
	SC	2/5/2006	23	1.3802
3RONDA	LT	12/5/2006	93	1.9731
	EL	12/5/2006	23	1.3802
	EC	12/5/2006	2	0.4771
	SC	12/5/2006	23	1.3802
4RONDA	LT	18/5/2006	1100	3.0418
	EL	18/05/06	2	0.4771
	EC	18/05/06	21	1.3424
	SC	18/05/06	2	0.4771
5RONDA	LT	24/05/06	93	1.9731
	EL	24/05/06	15	1.2041
	EC	24/05/06	9	1.0000
	SC	24/05/06	23	1.3802

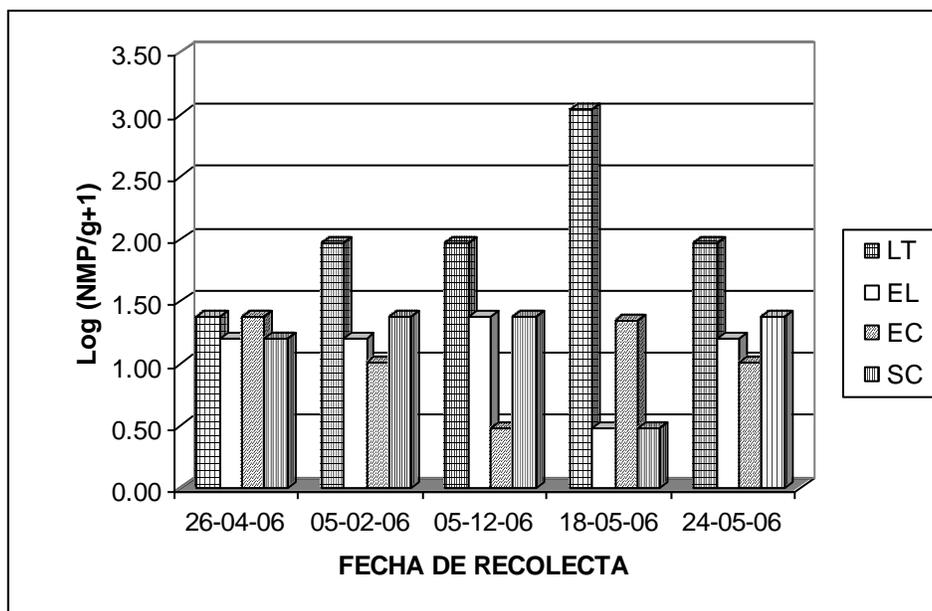


Figura 6. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo de Estero Jaltepeque, abril-mayo 2006. LT: La Trojona, EL: El Limón, EC: El Conchal, SC: Santa Cruz.

Para El Tamarindo, el ámbito fue similar al estuario anterior, registrándose una variación entre 2 y 1100 NMP/g, correspondientes a las estaciones El Coco 2 y 1, respectivamente dichos valores presentaron un mayor incremento en cuanto a niveles de coliformes fecales estos datos fueron registrados para abril y mayo (Cuadro 6, fig. 7).

Cuadro 6. Niveles de NMP/g en *Anadara* spp. en El Tamarindo.

	ESTACIONES	FECHA MUESTREO	NMP/g	LOG (CF +1)
1RONDA	LV	28/04/06	460	2.6637
	EP	28/04/06	93	1.9731
	C1	28/04/06	21	1.3424
	C2	28/04/06	2	0.4771
2RONDA	LV	1/5/2006	240	2.3820
	EP	1/5/2006	460	2.6637
	C1	1/5/2006	15	1.2041
	C2	1/5/2006	4	0.6990
3RONDA	LV	10/5/2006	240	2.3820
	EP	10/5/2006	20	1.3222
	C1	10/5/2006	150	2.1790
	C2	10/5/2006	240	2.3820
4RONDA	LV	15/05/06	460	2.6637
	EP	15/05/06	93	1.9731
	C1	15/05/06	93	1.9731
	C2	15/05/06	93	1.9731
5RONDA	LV	25/05/06	93	1.9731
	EP	25/05/06	460	2.6637
	EC1	25/05/06	1100	3.0418
	C2	25/05/06	460	2.6637

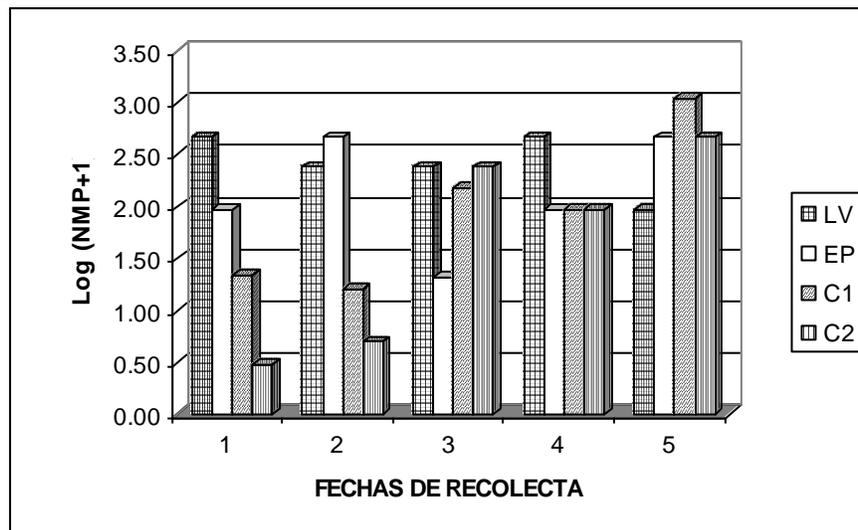


Figura 7. Niveles de coliformes fecales (Log (NMP+1)) registrados en los sitios de muestreo de Estero El Tamarindo Abril - Mayo 2006. LV: Los Valientes, EP: El Pargo, C1: El Coco 1, C2: El Coco 2.

Los estadísticos de tendencia central (Cuadro 7) indican que el promedio mas alto de coliformes fecales se registró en El Tamarindo (239 NMP/g), en tanto que el menor valor se presentó en las muestras procedentes de Barra de Santiago (17.3 NMP/g). La mediana y La moda también confirman lo anteriormente expresado. La media geométrica determinada también coincide con los resultados anteriores que ubican a las muestras de bivalvos recolectados en El Tamarindo con los mayores niveles de contaminación fecal.

Cuadro 7. Estadísticos de tendencia central determinados para los niveles de NMP/g.

LUGARES	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MEDIANA	MODA	MEDIA GEOMÉTRICA
B. Santiago	17.3	28.1	3.0	2.0	6.3
Jaltepeque	81.1	241.6	22.0	23.0	19.9
El Tamarindo	239.9	267.3	121.5	460.0	102.5

En ese sentido, al comparar las medias geométricas de los datos de coliformes fecales determinadas para cada estuario durante las cinco campañas de muestreo (abril-mayo 2006), se reconfirma la tendencia general en la que los valores mínimos ocurrieron en Barra de Santiago y lo contrario en Estero El Tamarindo (Fig. 8). Además, la tendencia en éste ecosistema fue ascendente durante el período de estudio, en cambio, en Barra de Santiago y Estero de Jaltepeque, las mismas fueron relativamente estables.

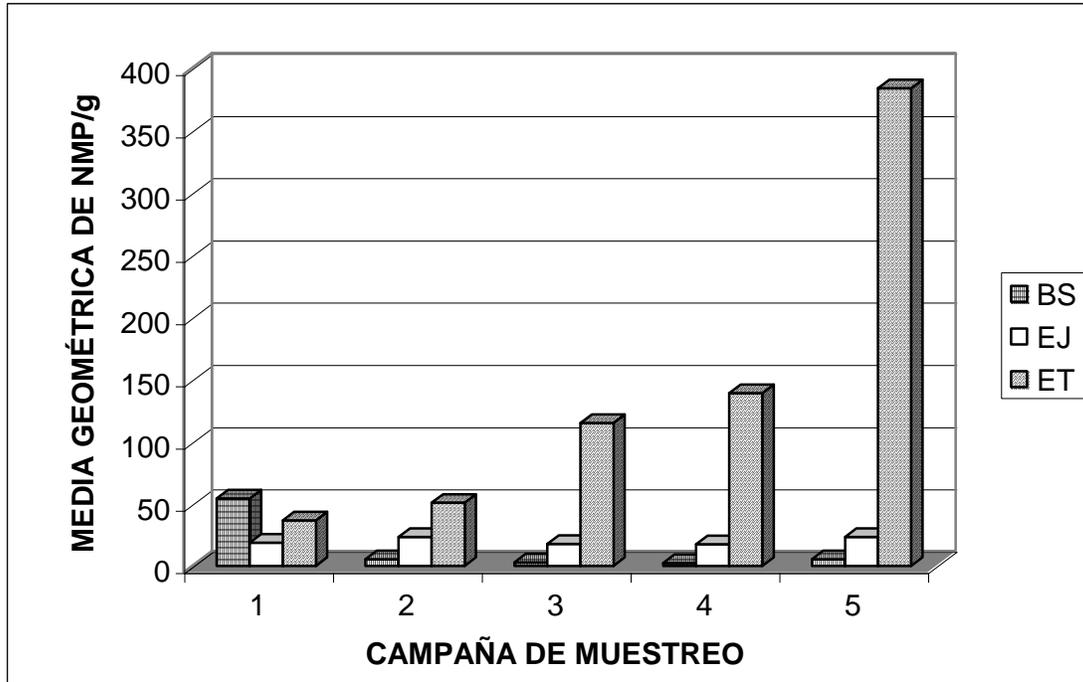


Figura 8. Media geométrica de NMP/g por estuario durante las cinco campañas de muestreo (abril-mayo 2006).

COMPARACIÓN ESTADÍSTICA

Los datos colectados cumplieron con los requisitos para realizar una prueba de ANOVA; ya que se determinó que las varianzas de los datos no presentan diferencias significativas al compararlas ($p > 0.05$, Cuadro 8), por lo que son homogéneos, lo que permite aplicar el ANAVA de un solo factor para determinar diferencias significativas entre los datos de Log (CF + 1) de los diferentes lugares en estudio.

Cuadro 8. Prueba de homogeneidad de Levene y Bartlett. F: valor calculado mediante ANAVA, P: Probabilidad del error, NS: No existe diferencia significativa en la comparación estadística ($p > 0.05$).

Comparación	Prueba de Levene	Prueba de Bartlett
Barra de Santiago-Estero de Jaltepeque	F = 0.105099 Grados de libertad = 1, 38 P = 0.7476 (NS)	Chi cuadrado = 0.201439 Grados de libertad = 1 P = 0.6536 (NS)
Barra de Santiago-Estero El Tamarindo	F = 0.64147 Grados de libertad = 1, 38 P = 0.42 (NS)	Chi cuadrado = 1.345445 Grados de libertad = 1 P = 0.2461 (NS)
Estero de Jaltepeque-Estero El Tamarindo	F = 1.278645 Grados de libertad = 1, 38 P = 0.2652 (NS)	Chi cuadrado = 0.512785 Grados de libertad = 1 P = 0.4739 (NS)

En el cuadro 9 se presentan las diferencias significativas entre los valores Log (CF + 1) al comparar Barra de Santiago-Jaltepeque (F = 6.011077164, p = 0.0189, gl = 1, 38) Barra de Santiago-El Tamarindo (F = 32.74657691, p = 1.368 x 10⁻⁶, gl = 1, 38), y Estero Jaltepeque- Tamarindo (F = 11.29812417, p = 0.0178, gl = 1, 38).

Cuadro 9. Análisis de varianza de un solo factor. SC: Suma de Cuadrados, GL: Grados de libertad, PC: Promedio de los cuadrados, F: Valor calculado, P: Probabilidad de error, FV: Mínimo valor para considerar que no hay diferencia significativas.

BARRA DE SANTIAGO-ESTERO DE Jaltepeque						
VARIACIONES	SC	GL	PC	F	P	FV
Entre grupos	1.904925331	1	1.9049253	6.01077164	0.0189	4.098
Dentro de los grupos	12.04290678	38	0.3169186			
Total	13.94783212	39				
BARRA DE SANTIAGO-ESTERO EL TAMARINDO						
VARIACIONES	SC	GL	PC	F	P	FV
Entre grupos	12.64747411	1	12.64747411	32.74657691	1.368E-06	4.098
Dentro de los grupos	14.67646581	38	0.386222784			
Total	27.32393992	39				
ESTERO DE JALTEPEQUE-ESTERO EL TAMARINDO						
VARIACIONES	SC	GL	PC	F	P	FV
Entre grupos	4.73558408	1	4.735578408	11.29812417	0.00178	4.098
Dentro de los grupos	15.92759797	38	0.419147315			
Total	20.66317637	39				

Lo anteriormente expuesto indica que los lugares en estudio presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los niveles de coliformes fecales obtenidos, reflejando que los niveles de contaminación fecal en los bivalvos recolectados en los estuarios mencionados son diferentes.

CALIDAD SANITARIA DE LAS MUESTRAS

Considerando el valor máximo permisible como una media geométrica de 230 NMP/100 g carne de bivalvo crudo (equivalente a 2.3 NMP/g) para consumo

humano propuesto por Lio-Po (1990) y la FDA (web 3), se detectó que el 40 % de las muestras recolectadas en Barra de Santiago, sobrepasaron ese límite máximo. En el Estero de Jaltepeque, el 85% del total de las muestras (n = 20) superó el nivel mencionado y 95% en El Tamarindo (fig. 9).

Al agrupar las 60 muestras de los diferentes lugares se determinó que el 73.3% del total de ejemplares analizados se encuentra arriba del límite permisible, reflejando alto grado de contaminación fecal en los bivalvos de esas zonas. Se debe señalar que ese valor se propone para una prueba de 5 tubos de fermentación, difiriendo de la utilizada en el presente trabajo que es de 3 tubos.

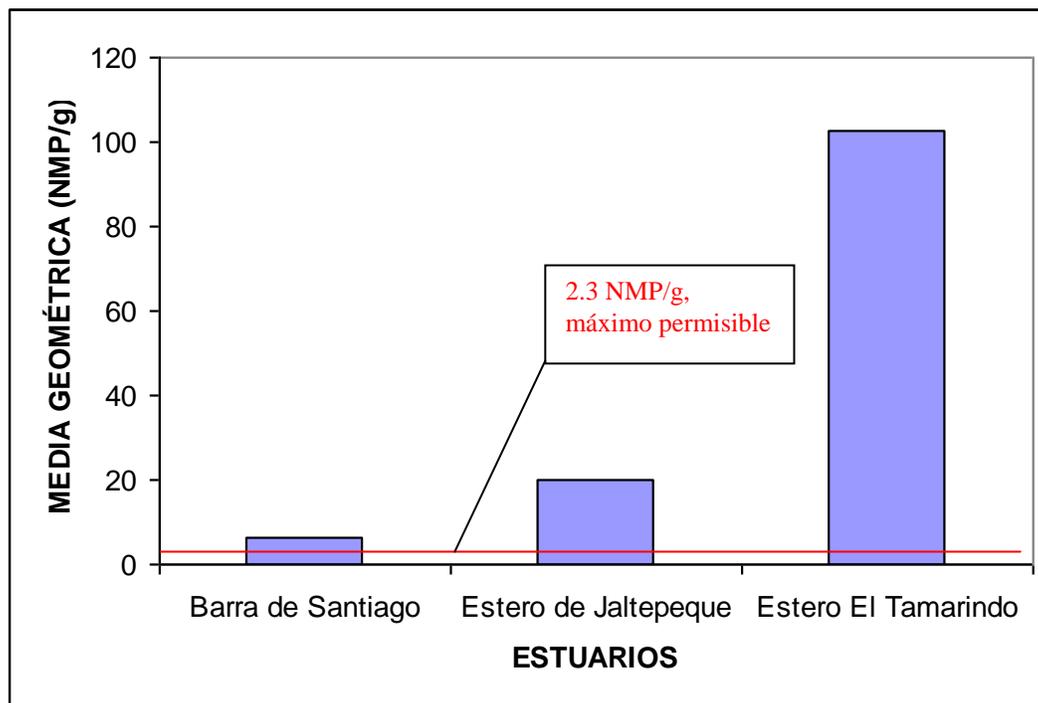


Figura 9. Media geométrica registrada para cada área de muestreo (Abril-Mayo 2006). Número de muestras analizadas por lugar: 20. Nivel máximo permisible según FDA (Web 3).

DISCUSIÓN

Los estuarios presentan y proveen de muchos bienes y servicios ambientales a la población humana aledaña y usuarios asociados, es preciso señalar que estos lugares experimentan una constante presión antropogénica, lo que conlleva a incrementar la contaminación por materia orgánica y fecal. Esta situación representa altos riesgos a la salud de la población humana y vida silvestre asociada.

En cuanto a la salinidad, los resultados son similares para todos los sitios de muestreo, estos datos oscilaron entre 25 ups hasta un valor máximo de 30 ups, lo cual coincide con los valores de salinidad correspondientes al final de la época seca del Estero de Jaltepeque (Azucena y López, 2006). Además, considerando que las lluvias usualmente descienden este parámetro en los estuarios tropicales (Yáñez-Arancibia, 1986; Day *et al.*, 1989), se considera que no existió un descenso intenso en la salinidad por la poca influencia de lluvias hasta mayo de 2006 (fig. 4).

Los valores de temperatura diurna registrados presentaron un ámbito que varió desde 29.5 hasta 30.0 ° C (Cuadro 3), coincidiendo con otros estudios realizados en zonas costeras del país para la época del año en la cual se realizó este estudio (Web 1).

NIVELES DE BACTERIAS COLIFORMES FECALES (CF) EN *Anadara* spp.

Los niveles de coliformes fecales en *A. similis* y *A. tuberculosa* oscilaron entre 2 hasta 1100 NMP/g de tejido para el presente estudio (figuras 5, 6 y 7). La presencia de CF en los bivalvos mencionados indica contaminación fecal en los estuarios estudiados.

La media geométrica y otros estadísticos de tendencia central, indicaron que la contaminación fecal fue mayor en el Estero El Tamarindo y menor en Barra de Santiago (6.3 y 102.5 NMP/g, respectivamente). Tomando en cuenta que la media geométrica es la medida principal para analizar niveles de CF en agua o

alimentos (Lio-Po, 1990; web 2) y que la cantidad de muestras por estuario ($n = 20$) en este estudio supero el número mínimo ($n = 6/\text{mes}$) de muestras recomendado por la Agencia de Estándares de Alimentos de Escocia (2003), para este tipo de monitoreo rápido, se puede considerar que Barra de Santiago presentó estos niveles debido a que el tamaño del estuario es mayor en comparación con El Tamarindo, como se menciona en la sección de descripción de áreas de estudio, lo cual podría diluir las aguas residuales vertidas en ese cuerpo de agua, reduciendo así los niveles de coliformes en el estuario y los bivalvos asociados.

Comparando Barra de Santiago con El Tamarindo, se debe considerar que otro factor que podría influir en esta diferencia es la cantidad de ríos que confluyen con el estuario, ya que al menos 6 ríos importantes se asocian a Barra de Santiago (ríos Izcanal, Aguachapío, Guayapa, Naranjo, Rosario y el zanjón El Chino), en comparación con el río Managuara, considerado por Jiménez *et al.* (2004), como el principal afluente del Estero El Tamarindo (figs. 1 y 3). Además, la geomorfología semicerrada de este estuario no permite un intercambio intenso con el agua oceánica aledaña.

Además, en Barra de Santiago, se determinó una ligera tendencia temporal niveles de CF en *Anadara* spp., ya que estos valores fueron más altos durante el primer muestreo, probablemente asociado a la poca dilución de este material por las escasas lluvias ocurridas hasta esa fecha. También, se detectó una ligera tendencia espacial, debido a que en El Cajetillo, ubicada a 1800 metros al norte del caserío principal. En cambio, en el Espino 1 y 2, así como El Zapatero, ubicados a 20, 400 y 1000 metros, respectivamente, los valores fluctuaron (2-93 NMP/g), independientemente de la distancia a asentamientos humanos. Esta situación permite asumir que la proximidad de asentamientos humanos importantes está relacionada con la contaminación microbiológica de los cuerpos de agua.

De igual forma, en El Tamarindo se pudo establecer una ligera tendencia espacial durante el estudio, ya que, las estaciones Los Valientes y El Pargo, presentaron niveles más elevados, probablemente asociado a la cercanía de descargas de aguas residuales provenientes de los asentamientos humanos cercanos (1000 metros), así como el estiércol derivado de la actividad ganadera de la zona denominada "Canoguero", ubicada a igual distancia al oeste de Los Valientes (fig. 3). Las otras estaciones, El Coco 1 y 2, se ubicaron a 500 y 800 metros, respectivamente, al oeste del caserío El Jaguey.

En el Estero de Jaltepeque, se obtuvieron valores de tendencia central con un nivel menor al registrado en El Tamarindo (media geométrica = 19.9 NMP/g). A pesar que la población humana asociada es considerablemente significativa (aproximadamente 34,000 habitantes), la extensión del mismo (17568 ha), es superior a los otros (Barra de Santiago, 2868 ha; Estero El Tamarindo, 1029), por lo que el efecto de dilución del material fecal es mayor (fig. 2).

A diferencia de los otros dos estuarios, en Jaltepeque, sí se detectó un patrón espacial definido para la distribución de niveles elevados de coliformes fecales en *Anadara* spp., ya que las muestras de la estación La Trojona presentaron en casi todos los muestreos un nivel superior de esas bacterias en comparación a las otras estaciones, lo cual puede estar asociado a la cercanía de esta estación con viviendas (aproximadamente 111 m al oeste), que descargan sus aguas residuales directamente al estuario (fig. 2). De igual forma, se puede observar que los niveles de la estación Santa Cruz permanecen similares a lo largo del estudio. Esta estación se encuentra a 552 m aproximadamente al norte de un asentamiento humano importante (isla Tasajera, fig. 2). Tampoco, se puede descartar la influencia del río Lempa para esa estación ubicada al este de ese estuario, que presentó niveles de CF entre 42.4 y 1100 NMP/100 ml en agua en la zona de La Pita, ubicada cerca de la desembocadura del río Lempa, aledaña al estero de Jaltepeque (FUSADES, 2000).

Además, los asentamientos humanos cercanos a la estación El Conchal son: caserío El Zapote y San Luis La Herradura, ubicados a 2700 m al suroeste y

2300 al noroeste, respectivamente. En relación a la estación El Limón, los asentamientos humanos importantes más cercanos son Los Blancos y San Luis La Herradura, que se ubican a 1500 al suroeste y 1400 m al norte, respectivamente. Se considera que estas distancias, así como la capacidad de dilución del cuerpo de agua, están asociadas a la tendencia de presentar valores bajo de coliformes fecales de estas estaciones.

Estos resultados coinciden con el estudio de Alegría (1978), quien detectó enterobacterias incluyendo coliformes fecales en ejemplares de *Anadara tuberculosa* recolectada en diferentes zonas de Bahía de Jiquilisco. Además, la presencia de esas bacterias las asoció con la emisión de aguas residuales por parte de asentamientos humanos aledaños. Además, se determinó que tanto *A. tuberculosa* como *A. similis* estuvieron ausentes en zonas con descargas intensas de aguas residuales (Muelle de San Luis La Herradura; la zona más contaminada de La Trojona, Barrio El Centro de Barra de Santiago), coincidiendo parcialmente con lo manifestado por De la Lanza-Espino *et al.* (2000), quienes proponen a *A. tuberculosa* como indicador de ausencia de contaminación orgánica en manglares.

Por ello, la ocurrencia de material fecal en agua superficial de los estuarios del país (Sagastizado, 1996; FUSADES, 2000), permite asumir que los bivalvos analizados en este estudio, han incorporado dicho material contaminante del agua circundante. Estuarios utilizando bivalvos como indicadores de contaminación fecal diferentes partes del mundo presentan similar relación entre los niveles de CF en agua y tejido blando (Serrano-Dias & Nunes, 1994; Ho y Tam, 2000; Lipp *et al.*, 2001; Aslan-Yilmaz *et al.*, 2004; Troussellier *et al.*, 2004; Peng *et al.*, 2005).

Así mismo, la ocurrencia de CF en ejemplares de *A. similis* y *A. tuberculosa*, permite asumir que pueden utilizarse como biomonitores de contaminación orgánica en cuerpos estuarinos. Sin embargo, la recolecta de estos organismos requiere de medios de transporte acuático, y su abundancia es relativamente

baja (esfuerzo de captura de 10-12 individuos/20-45 minutos para dos personas), lo cual limita su fácil recolecta, requisito de un buen biomonitor según Carballeira *et al.* (1997).

Por todas esas limitantes mencionadas y a pesar de que las dos especies de bivalvos en estudio sí acumularon CF, no pueden ser considerados como biomonitores apropiados de contaminación fecal en estuarios del país. Lo anteriormente mencionado permite considerar a un biomonitor cuya abundancia y distribución en los estuarios del país sea mayor que la presentada por los moluscos objeto de este estudio. También, se debe señalar que los lugares de recolecta del biomonitor apropiado deben ser accesibles vía terrestre, facilitando la recolecta en menor tiempo y reduciendo costos al mismo tiempo.

Se encontraron diferencias significativas entre los valores Log (CF + 1) al comparar Barra de Santiago-Jaltepeque ($F = 6.011077164$, $p = 0.0189$, $gl = 1, 38$) Barra de Santiago-El Tamarindo ($F = 32.74657691$, $p = 1.368 \times 10^{-6}$, $gl = 1, 38$), y Estero Jaltepeque- Tamarindo ($F = 11.29812417$, $p = 0.0178$, $gl = 1, 38$).

Al comparar los datos homogenizados de niveles de CF en *Anadara* spp. (Log (NMP/g + 1)), mediante ANAVA de un solo factor, se determinó que existen diferencias significativas ($F = 6.011077164$, $p = 0.0189$, $gl = 1, 38$) entre Barra de Santiago y Estero de Jaltepeque. En cambio, se detectaron diferencias altamente significativas al comparar Barra de Santiago con El Tamarindo ($F = 32.74657691$, $p = 1.368 \times 10^{-6}$, $gl = 1, 38$), así como Estero de Jaltepeque y El Tamarindo ($F = 11.29812417$, $p = 0.0178$, $gl = 1, 38$). Esto coincide con lo reflejado por la media geométrica y permite reafirmar que el estuario que presentó menor contaminación por coliformes fecales fue Barra de Santiago (6.3 NMP/g), ocurriendo lo contrario en Estero El Tamarindo (102.5 NMP/g).

Como se mencionó anteriormente, la densidad de población humana, las actividades ganaderas, el tamaño de los estuarios, así como la cantidad de ríos asociados y su calidad ambiental, influyen en los niveles de contaminación de esos ecosistemas, lo que incide en el nivel de bacterias coliformes en bivalvos. Otros estudios asocian esta contaminación a desarrollo urbano en zonas costeras, descargas de efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales en estuarios o ríos costeros, contaminación de esos ecosistemas por estiércol de ganado, coincidiendo en parte con lo propuesto en este estudio (Yáñez-Arancibia, 1986; Day *et al.*, 1989; Clark, 2001; Lipp *et al.*, 2001; Mallin, 2006; Sindermann, 2006).

En otros lugares del mundo se han realizado recuentos de CF en bivalvos de consumo humano, por ejemplo en Italia, los niveles máximos y mínimos para diferentes especies de esos moluscos fueron de 0 y 3793 NMP/ml (Bonadonna, 1990); también en Cuba se determinó una variación de < 10 a 10^3 UFC/g (Leyva-Castillo *et al.*, 1996); así como la zona litoral de Zulia, Venezuela, el bivalvo *Polymesoda solida*, entre 1.8×10^2 a 2.4×10^4 NMP/g (Sarcos y Botero, 2005). Lo que en comparación con nuestros resultados indica que en otras partes del mundo la contaminación fecal en estuarios es superior, considerando que la técnica de recuento de CF en esos países supera el límite superior (1100 NMP/g) de este estudio.

Se debe aclarar que algunos estudios han reflejado que la acumulación de coliformes fecales en bivalvos es diferente según la especie y concentración de coliformes en el medio donde habitan, lo cual se comprobó en diferentes zonas del mar Mediterráneo (Bonadonna *et al.*, 1990; Solic *et al.*, 1999), por lo que se asume que los niveles de estas bacterias en otros bivalvos que ocurren en los estuarios objeto de este estudio, pueden ser diferentes a los obtenidos en esta investigación.

CALIDAD SANITARIA DE LAS MUESTRAS

Los valores de media geométrica determinados para los ejemplares de bivalvos recolectados en Barra de Santiago, así como los estuarios Jaltepeque y El Tamarindo fueron: 6.3, 19.9 y 102.5 NMP/g, respectivamente. Estos valores superan el nivel de 230 NMP/100 g (equivalente a 2.3 NMP/g) mencionado por Lio-Po (1990), requerido por la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (web 2) y la Agencia de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos de América (web 3). De igual forma, en Cuba el límite máximo para consumo de bivalvos crudos es < 10 UFC/g (Leyva-Castillo *et al.*, 1996), y la Unión Europea es < 300 NMP/100 g de carne de marisco en la Unión Europea (Lee y Young, 2003). No se consideró el primero debido a que las unidades son diferentes, y el segundo tampoco porque el límite es superior al elegido.

Se debe señalar que debido a que FUSADES presenta sus resultados en unidades de NMP/g de tejido y líquidos, se optó por transformar el límite en mención de 230 NMP/100 g a 2.3 NMP/g. Considerando ese límite sanitario, se determinó que el 40% de las muestras analizadas ($n = 8$) de Barra de Santiago se encontraban arriba del mismo, en Jaltepeque fue 85% ($n = 17$) y en El Tamarindo 95% ($n = 19$). En general, del total de 60 muestras recolectadas en los tres estuarios en estudio, el 73.3% se ubica por encima del valor en mención. Como se mencionó anteriormente, la cantidad de muestras es representativa para un monitoreo rápido como el presente, ya que, la Agencia de Estándares de Alimentos de Escocia (2003), recomienda 6 muestras por lugar/mes.

Lo elevado estos porcentajes permite considerar que consumir *A. similis* y *A. tuberculosa* de los lugares en estudio representa riesgo a la salud humana. Similares valores superiores e inferiores a niveles permisibles se han registrado en diferentes zonas del mundo, por ejemplo, en *Anadara tuberculosa*, Golfo de Nicoya, Costa Rica (Fernández y Bunker, 1997); ostiones, en Cuba (Leyva-Castillo *et al.*, 1996); *Chamelea gallina*, *Donax trunculus*, *Ensis siliqua*, Italia

(Bonadonna *et al.*, 1990); *Polymesoda solida*, Venezuela (Sarcos y Botero, 2005).

Se considera que la comparación es relativa, ya que, el límite propuesto de 230 NMP/100 g corresponde a una prueba de 5 tubos de fermentación (Feng *et al.*, 1998), y la utilizada en el presente estudio se basa en la prueba de 3 tubos. Esto no permite identificar valores exactos menores de 3 NMP/g, cuyo manejo matemático se explicó en la sección de análisis estadístico de la metodología.

Se debe señalar que debido a la posibilidad que los bivalvos acumulan contaminantes, incluyendo enterobacterias y otros microorganismos, muchos países han establecido procedimientos de depuración natural, en donde los bivalvos se colocan en agua de mar filtrada mediante diferentes mecanismos que eliminen patógenos (Lio-Po, 1990; Wong *et al.*, 1997; Richards, 2003; web 2). Esta práctica de depuración de bivalvos después de la recolecta, no se implementa en El Salvador. Aunque, Ho y Tam (2000), mencionaron que esta técnica no es totalmente eficiente.

Los resultados obtenidos en este estudio, indican que *A. similis* y *A. tuberculosa* acumulan coliformes fecales en sus tejidos blandos, aunque su utilidad como biomonitor de este tipo de contaminación en estuarios de El Salvador es limitada debido a la dificultad de recolecta mencionada anteriormente. También, los niveles de bacterias coliformes fecales en *A. similis* y *A. tuberculosa* de Barra de Santiago, Estero de Jaltepeque y El Tamarindo, reflejan que el consumo de estos bivalvos crudos representan un riesgo de salud humana, repercutiendo negativamente en actividades turísticas.

CONCLUSIONES

Los ejemplares de *A. similis* y *A. tuberculosa* de los esteros Barra de Santiago, Jaltepeque y El Tamarindo reflejaron niveles de comprendidos entre 2 a 93 NMP/g, para el primero, así como desde 2 a 1100 NMP/g, para los otros, lo cual confirma la contaminación fecal predominante en esos esteros.

Se comprobó la hipótesis alternativa de este estudio, ya que se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, Barra de Santiago-Estero de Jaltepeque), así como muy significativas ($p < 0.01$, Barra de Santiago-El Tamarindo y Estero Jaltepeque- Tamarindo), al comparar los niveles de coliformes fecales en los tejidos blandos y jugos de los bivalvos de los estuarios investigados.

Los estadísticos de tendencia central reflejaron que el estuario que presentó mayor contaminación fecal fue El Tamarindo, considerando que los factores que influyeron principalmente en estos resultados fueron la extensión del estuario, población humana aledaña que vierte sus aguas residuales al humedal, actividades ganaderas, así como cantidad y caudal de ríos que confluyen en los estuarios.

En esta investigación se determinó que tanto *Anadara similis* como *A. tuberculosa* son indicadores importantes de contaminación por material fecal en estuarios; pero, su recolecta requiere de un gran esfuerzo de captura y logística bastante considerable que limita su uso.

Con base a los niveles de coliformes fecales detectados en los bivalvos recolectados y a la cantidad de muestras superan el límite máximo permisible, se confirma que su calidad sanitaria no es apta para el consumo humano.

RECOMENDACIONES

Es recomendable investigar los niveles de coliformes fecales en tejidos blandos y jugos de *A. similis* y *A. tuberculosa* en otros estuarios del país, incluyendo otros estuarios de menor extensión.

Comprobar si existen diferencias significativas entre los niveles de contaminación fecal en *A. similis* y *A. tuberculosa*.

Utilizar otras especies de bivalvos para verificar su utilidad como biomonitor de la calidad ambiental de los estuarios mediante la cuantificación de bacterias coliformes fecales.

Verificar tasas de acumulación y depuración de coliformes fecales en *Anadara spp.* en condiciones de laboratorio y de campo, de manera que conozcan estas cinéticas de carga y de descarga con fines sanitarios.

Investigar la correlación estadística entre coliformes fecales y sedimento y tejido blando de *Anadara spp.*

Considerar los niveles de contaminación por coliformes fecales en agua para cultivos de moluscos en zonas estuarinas.

Introducir mediante un programa sanitario, un sistema apropiado de manejo de excretas humanas y de aguas residuales derivadas de actividades ganaderas en las zonas costeras.

Informar a los Ministerios de Agricultura y Ganadería, Salud Pública y Asistencia Social, así como Medio Ambiente y Recursos Natural, para promover acciones conjuntas de manera que se reduzca la contaminación en los estuarios del país.

Instalar sistemas apropiados para manejo de excretas humanas en la zona costera nacional.

Implementar campañas de educación sobre el manejo apropiado de excretas humanas y animales a pobladores de la zona costera de El Salvador.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo-Merino, A., C. Garrido-Pérez, E. Nebot-Sanz & D. Sales-Márquez. 2005. Fenómenos de dilución y autodepuración de un vertido de aguas residuales urbanas en un ecosistema litoral: el caso del estuario del río Iro (Sureste de España). *Ciencias Marinas* 31 (1B): 221-230.
- Acosta V. & C. Lodeiros. 2003. Metales pesados en la almeja *Tivela mactroides* Bom, 1977 (Bivalvia; Veneridae) en localidades costeras con diferentes grados de contaminación en Venezuela. *Ciencias Marinas* 30: 279-380.
- Alegría, R. 1978. Análisis Bacteriológicos de Muestras de "conchas o curiles" *Anadara tuberculosa* Sowerby, colectadas en la Bahía de Jiquilisco. Departamento de Biología, Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura). 97 pp.
- Aslan-Yilmaz, Ash, Erdoğan O., & Süleyman Ö. 2004. Bacteriological indicators of anthropogenic impact prior to and during the recovery of water quality in an extremely polluted estuary, Golden Horn, Turkey. *Marine Pollution Bulletin* 49: 951-958.
- Azucena C. D & López C. E. 2006. Niveles de Arsénico, Mercurio y Plomo en Sedimento y Tejido Blando de *Anadara* spp. en el Estero de Jaltepeque, Departamento de La Paz, El Salvador, 2005. Escuela de Biología, Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura). 109 pp.
- Barnes, R. D. 1985. Zoología de Invertebrados. Nueva Editorial Interamericana. México D. F. 1157 pp.
- Barraza, J. E. & M. Vásquez. 1988. Diagnóstico de Contaminación del Agua de Consumo Doméstico en Algunas comunidades Marginales del Área

Metropolitana de San Salvador. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad de El Salvador. (Tesis de Licenciatura). 74 pp.

_____. & A. Carballeira. 1998. Una nota corta sobre metales pesados de la Bahía de la Unión, Golfo de Fonseca, El Salvador. Publicación Ocasional No. 1. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. El Salvador. 8 pp.

Barraza, J. E. 2000. Determinación de metodología óptima para la biomonitorización de metales pesados en sedimento y biota del río Lempa. PROARCA/CAPAS. El Salvador. 13pp.

_____. 2004. Metales y metaloides en bivalvos comestibles de El Salvador. Presentación. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador, Universidad de Santiago Compostela, España.

Blodgett, R. 1998. Most Probable Number for Serial Dilutions. In: Bacteriological Analytical Manual. 8th Ed. U.S. Food and Drug Administration. Appendix 2.

Brock, T. D. 1991. Microbiología. 6a ed. Prentice Hall Inc. New York. 956 pp.

Bryan G. W. W. J. Langston, L. G. Hummerstone & G. R. Buro. 1985. A Guide to the Assessment of Heavy-Metal Contamination in Estuarios Using Biological Indicators". Marine Biological Association of the United Kingdom, The Laboratory Citadel Hill Plymouth Devon England. 92 pp.

Bonadonna, L, L.Voltera, F. A. Aulicino & L. Mancini. 1990. Accumulation power of some bivalve molluscs. Marine Pollution Bulletin. 21 (2): 81-84.

- Borda, C. A. & R. Cruz. 2004. Crecimiento y tasas de mortalidad del bivalvo *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) en el Pacífico Colombiano. Rev. Invest. Mar. 25: 177-184.
- Bortman, M. 1999. Elaboración de corredores o canales endémicos mediante planillas de cálculo. Rev. Panam. Salud Pública. 5 (1): 1-15.
- Burkhardt III, W. & Calci, K. R. 2000. Selective Accumulation May Account for Shellfish-Associated Viral Illness. Applied and Environmental Microbiology, vol 66, 1375-1378 pp.
- Carballeira, A., E. Carral, X. M. Puente & R. Villares. 1997. Estado de Conservación de la Costa de Galicia. Nutrientes y Metales Pesados en Sedimentos y Organismos Intermareales. Universidad de Santiago Compostela, España. Imprenta Universitaria, Pavillón de Servicios. Campus Sur. Santiago. 107 pp.
- Carral, E. 1992. Estado de Conservación de los Complejos Hidrolitorales de Galicia: Nutrientes y Metales Pesados en Sedimentos y Organismos. Memoria presentada para optar al grado de Doctor en la Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Carral E., X. Puente, R. Villares & A. Carballeira. 1995. Background heavy metal levels in estuarine sediments and organisms in Galicia (Northwest Spain) as determined by modal analysis. The Science of the Total Environment. 172: 175-188.
- Clark, R. B. 2001. Marine Pollution. 5ª Ed. Oxford University Press. 286 pp.
- Carro, J. J. Cobas & J. Maneiro. 2006. Distribution of aliphatic compounds in bivalve molluscs from Galicia after the Prestige oil spill: Spatial and temporal trends. Environmental International 100 (3): 339-348.

- Cazares, E. & Prado-Pano, B. C. 1998. Predicción del comportamiento de coliformes fecales en la Bahía de Acapulco. Transferencia. Universidad de Monterrey, México. 11: 23-30.
- Chávez-Aparicio, J. I. 1996. Biometría de *Anadara similis* y *Anadara tuberculosa* en la Bahía de Jiquilisco, Departamento de Usulután. (Tesis de Licenciatura). 27pp.
- Cremonte, F., Antonio Figueras & Eugene Bureson. 2005. An histopathological survey of some commercially exploited bivalve mollusc in northern Patagonia, Argentina. *Journal of Parasitology* 249: 23-33.
- Cotsapas, L., S. A. Zengel & E. J. Barraza. 2000. El Salvador. *In*: Seas at the Millennium an Environmental Evaluation. C. R. C. Sheppard (Ed.). Pergamon. Capítulo 34: 545-558.
- Day, J. W., C. A. S. Hall, W. M. Kemp & A. Yáñez-Arancibia. 1989. *Estuarine Ecology*. John Wiley & Sons. New York. 558 pp.
- De la Lanza-Espino, G., S. Hernández. & J. Carvajal. 2000. *Organismos Indicadores de la Calidad del Agua y de la Contaminación*. Editorial Plaza y Valdez. México D.F. 633 pp.
- Doré W. J., K. Henshilwood & D. N. Lee. 2000. Evaluation of F – Specific RNA Bacteriophage as a Candidate Human Enteric Virus Indicator for Bivalve Molluscan Shellfish. *Applied And Environmental Microbiology* 66:1280-1285.
- Dibase, J. K., R. J. Young & J. A. Vanderhoof. 2006. Enteric microbial flora, bacterial overgrowth, and short-bowel syndrome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 4: 11-20.

- Feng, P., S. D. Weagant & M. A. Grant. 1998. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. In: Bacteriological Analytical Manual. 8th Ed. U.S. Food and Drug Administration. Chapter 4.
- Fernández, B. & T. Brunker. 1977. Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 25: 101-107
- Flores, C. 1995. Contaminación del Agua. In : Historia Natural y Ecología de El Salvador. F. Serrano (Ed.). 181-198 pp. Ministerio de Educación. El Salvador.
- Frías-Espiricueta, M. G., M. A. Ortiz-Arellano, J. I. Osuna-López y J. A. Rosso-Paulino. 1999. Heavy Metal in the rock Oyster *Crassostrea iridescens* (Filibranchia: Ostreidae) from Mazatlan, Sinaloa, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 47: 843-849.
- Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Social y Económico (FUSADES). 2000. Estudio de Contaminación en la Cuenca del Río Lempa y Afluentes. 70 pp.
- Gagné, F., C. Balise, I. Aoyama, R. Luo, C. Gagnon, Y. Couillard, P. Campbell & M. Salazar. 2002. Biomarker study of a municipal effluent dispersion plume in two species of freshwater mussels. *Environmental Toxicology* 73(3):149-159.
- Giannella, R. A. 1982. Salmonella. In: Medical Microbiology. S. Baron (Ed.). 315 - 320 pp. Addison-Wesley Publishing Company, Inc. Menlo Park, California.

- Glassner, A. & L. McKee. 2002. Pathogen occurrence and analysis in relation to water quality attainment in San Francisco Bay Area Watersheds. San Francisco Estuary Institute. 11 pp.
- Gómez-Couso, H., F. Freire-Santos, M. R. Ortega-Iñarrea, J. A. Castro-Hermida & M. E. Ares-Mazás. 2002. Environmental dispersal of *Cryptosporidium parvum* oocysts and cross transmission in cultured bivalve molluscs. Parasitology Research. 90: 140-142.
- Gómez-Couso, H., F. Freire-Santos, J. Martínez-Urtaza, O. García-Martín, M.E. Ares-Mazás. 2003. Contamination of bivalve molluscs by *Cryptosporidium* oocysts: the need for new quality control standards. International Journal of Food Microbiology. 87: 97-105.
- Gómez-Couso, H., F. Freire-Santos, C.F.L. Amar, K. A. Grant, K. Williamson, M.E. Ares-Mazás, & J. McLauchlin. 2004. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in molluscan shellfish by multiplexed nested-PCR. International Journal of Food Microbiology 91: 279-288.
- Gómez-Couso, H., F. Freire-Santos, G. A. Hernández-Cordova, & M.E. Ares-Mazás. 2005a. A histological study of the transit of *Cryptosporidium parvum* oocysts through clams (*Tapes decussatus*). International Journal of Food Microbiology. 102 57-62.
- Gómez-Couso, H., Fernando Méndez-Hermida, J. A. Castro-Hermida & M. E. Ares-Mazás. 2005b. *Giardia* in shellfish-farming areas: Detection in mussel, river water and waste waters. Veterinary parasitology. 133 13-18 p.
- Gómez-Couso, H., Fernando Méndez-Hermida, J. A. Castro-Hermida, & M. E. Ares-Mazás. 2006. *Cryptosporidium* Contamination in Harvesting Areas of Bivalve Molluscs. Journal of Food Protection, 69: 185-190.

- Haritonidis, S. & P. Malea. 1995. Seasonal and local variation of Cr, Ni and Co concentrations in *Ulva rigida* C. Agardh and *Enteromorpha linza* (Linnaeus) from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution* 89: 319-327.
- Harley, J., A. Klein & L. Prescott. 1995. *Microbiology*. Third Edition. Brown Publishers. 935 pp.
- Herrero, L., A. Palacios, H., Laya & F. Vega. 1999. Ausencia de detección de enterovirus en bivalvos *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) por contaminación química en el Pacífico de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 47(3): 419-427.
- Ho, Y. B. 1990. *Ulva lactuca* as a bioindicator of metal contamination in intertidal water in Hong Kong. *Hydrobiology* 203: 73-81.
- Ho, B. & T. Y. Tam. 2000. Natural depuration of shellfish for human consumption: a note of caution. *Water Research* 34 (4): 1401-1406.
- Ibarra-Portillo, R., N. Herrera & M. E. Salinas-Delgado. 2005. Diagnóstico de las Colonias de Anidación de Aves Acuáticas en la Zona Costera de El Salvador, América Central. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales/Agencia de Cooperación Española. 52 pp.
- Jiménez, I., L. Sánchez-Mármol & N. Herrera. 2004. Inventario Nacional y Diagnóstico de los Humedales de El Salvador. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales/Agencia de Cooperación Española. 322 pp.
- Jofrey, J., J. Lasobres, D. McIntosh & F. Lucena. 1994. Evaluation of virus contamination of shellfish through enumeration of phages infecting

Bacterioides fragilis. MAP Technical Report Series No. 87. Athens, Greece: United Nations Environment Programme. 99 – 121.

Karez, C. S., Magalhaes, V. F., Pfeiffer, W. C. & Amado-Filho, G. M. 1994. Trace metal accumulation by algae in Sepatiba Bay, Brazil. *Environmental Pollution* 83: 351-356.

Keen, M. 1971. *Sea Shells of Tropical West America*. 2nd Ed. Stanford University Press, Stanford, California. 1064 pp.

Lara, G., A. Contreras & F. Encina. 2002. The freshwater mussel *Diplodon Chilensis* (Bivalvia: Hyriidae) biofilter to diminish coliform levels of water wells. *Gayana* 66: 113-118.

Lee, R. J. & A. D. Younger. 2003. Determination of the relationship between faecal indicator concentrations and the presence of human pathogenic microorganisms in shellfish. 247-263 pp. In: Proceedings of the 4th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela, España, 4-8 junio 2002. A. Villalba, B. Reguera, J. L. Romalde, R. Beiras (Eds.). 620 pp.

León-Suematsu, G. 1995. Parámetros de calidad para el uso de aguas residuales. Guías de calidad de efluentes para la protección de la salud. CEPIS/OPS. 13 pp.

Leyva-Castillo, V., E. Valdés-Amey, E. Cisneros-Despaigne & B. Pérez-Solar. 1996. Aislamiento de vibrios patógenos y valoración de la calidad sanitaria de ostiones frescos cosechados en Cuba. *Revista Cubana Aliment. Nutr.* 10(2) 1-4.

Lio-Po, G. 1990. Post-harvest technology of commercially important bivalves. In: Selected Papers on Mollusc Culture. UNDP/FAO REGIONAL SEA

FARMING DEVELOPMENT AND DEMONSTRATION PROJECT
(RAS/90/002). 14 pp.

Lipp, E. K., S. A. Farrah & J. B. Rose. 2001. Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community. *Marine Pollution Bulletin*. 42: 286-293.

Mallin, M. A., J. M. Burkholder, L. B. Cahoon & M. H. Posey. 2000. North and South Carolina coasts. *Marine Pollution Bulletin*. 41: 56-75.

Mallin, M. A. 2006. Wading in waste. *Scientific American*. 294: 42-49.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2002. Informe Nacional del Estado del Medio Ambiente. MARN. El Salvador. 110 pp.

_____ . 2004. Inventario Nacional y Diagnóstico de Humedales de El Salvador. MARN. El Salvador. 321pp.

MacKenzie, C. L. 2001. The fisheries for mangrove cockles, *Anadara* spp., from Mexico to Peru, with descriptions of their habitats and biology, the fishermens lives, and the effects of shrimp farming. *Marine Fisheries Review*. 63 (1): 1-39.

McJunkin, E 1986. *Agua y Salud Humana*. Editorial Limusa. México DF. 231 pp.

Michel, J. & S. A. Zengel. 1998. Monitoring of oysters and sediments in Acajutla, El Salvador. *Marine Pollution Bulletin*. 36 (4): 256-266.

Miller, G. 2002. *Introducción a la Ciencia Ambiental*. Desarrollo Sostenible de la Tierra. Editores International Thomson. Madrid .458 pp.

- Miller, W. A., E. R. Atwill, I. A. Gardner, M. A. Miller, H. M. Fritz, R. P. Hedrick, A. C. Melli, N. M. Barnes & P. A. Conrad. 2005a. Clams (*Corbicula fluminea*) as bioindicators of fecal contamination with *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in freshwater ecosystems in California. *International Journal of Parasitology*. 35: 673-684.
- Miller, W.A., M. A. Miller, I. A. Gardner, E. R. Atwill, M. Harris, J. Ames, D. Jessup, A. Melli, D. Paradies, K. Worcester, P. Olin, N. Barnes & P. A. Conrad. 2005b. New genotypes and factors associated with *Cryptosporidium* detection in mussels (*Mytilus* spp) along the California coast. *International Journal for Parasitology*. 35: 1103-1113.
- _____, I. A. Gardner, E. R. Atwill, C. M. Leutenegger, M. A. Miller, R. P. Hedrick, A. C. Melli, N. M. Barnes & P. A. Conrad. En impresión. Evaluation of methods for improved detection of *Cryptosporidium* spp. in mussels (*Mytilus californianus*). *Journal of Microbiological Methods*.
- Michel, J. & S. Zengel, 1998. Monitoring of oysters and sediments in Acajutla, El Salvador. *Marine Pollution Bulletin*. 36: 256-266pp.
- Negri, A., K. Burns, S. Boyle, D. Brikman, and N. Webster. 2006. Contamination in sediments, bivalves and sponges of McMurdo Sound, Antarctica. *Environmental Pollution* 143 (3): 456-467.
- Normanno, G., A. Parisi, N. Addante, N. C. Quaglia, A. Dambrosio, C. Montagna & D. Chiocco. 2006. *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and microorganisms of fecal origin in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold in the Puglia region (Italy). *International Journal of Food Microbiology*. 106: 219-222.

- Ott, L. 1988. An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis. 3rd Ed. PWS-KENT Publishing Company, Boston, 819 pp.
- Portillo, A. 2003. Análisis Cualitativo y Cuantitativo de Coliformes en la Cuenca Media del Río Grande del Departamento de San Miguel. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura), 88 pp.
- Puente X., R. Villares, E. Carral & A. Carballeira. 1996. Nacreous shell *Mytilus gallprovincialis* as a biomonitor of heavy metal pollution in Galicia (NW Spain). *The Science of the Total Environment*. 183: 205-211.
- Peribáñez, M. A., M. L. Elrío, M. J. Gracia, D. Fernández de Luco, J. A. Castillo, J. Lucientes & I. Cia. 2006. *Phyllodistomum folium* (Trematoda: Gorgoderidae) infecting zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in the Ebro River, Spain. *Parasitology International*. 55: 143-145.
- Reyes-Castañeda, P. 1980. Bioestadística Aplicada. 2^a ed. Editorial Trillas S. A de C. V, México, D. F. 216 pp.
- Romero-Rojas, J. A. 1999. Calidad del Agua. 2^a ed. Alfaomega Grupo Editor. México, D.F. 273 pp.
- Richards, G. P. 2003. The evolution of molluscan safety. 221-245. In: Proceedings of the 4th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela, España, 4-8 junio 2002. A. Villalba, B. Reguera, J. L. Romalde, R. Beiras (Eds.). 620 pp.
- Sagastizado, M. E. 1995. Poblaciones de enterobacterias en aguas superficiales y sedimento durante la estación seca en la Bahía de Jiquilisco. In J. Zamorro (Ed.). 85-90. Simposium Ecosistemas de Manglares en el

Pacifico Centroamericano y su recurso de post-larvas de camarones peneidos PRADEPESCA El Salvador. 436 pp.

Salas, H. J. 2000. Historia y aplicación de normas microbiológicas de calidad de agua en el medio marino. CEPIS/OPS. 27 pp.

Salazar-Vallejo, S. 1991. Contaminación Marina. Editorial Cuadratín y Medio S.A de C.V. México DF. 193 pp.

Sarcos, M. & L. Botero. 2005. Calidad microbiológica de la almeja *Polymesoda solida* recolectada en playas del Municipio Miranda del Estado Zulia. Ciencia. Universidad de Zulia, Venezuela. 13: 34-43.

Selegian, J., R. Kusserow, R. Patel, T. Heidtke & J. Ram. 2001. Using *Zebra* mussels to monitor *Escherichia coli* in environmental waters. Journal of Environmental Quality. 30:171-179.

Serrano-Dias, M. D. & M. C. Nunes. 1994. Contaminação bacteriana de moluscos bivalves. Seminario sobre Recursos Halieuticos, Ambiente, Acuicultura e Qualidade do Pescado da Península de Setúbal. Publicaciones Avulsas do Instituto Português de Investigação Marítima No. 1. 251-261.

Shieh, Y. C., R. S. Baric, J. W. Woods & K. R. Calci. 2003. Molecular surveillance of enterovirus and Norwalk-like virus in oysters relocated to a municipal-sewage impacted gulf estuary. Applied and Environmental Microbiology. 69 (12): 7130-7136.

Sinderman, C. J. 2006. Coastal Pollution. Effects on Living Resources and Humans. Taylor & Francis Group. 280 pp.

- Solic M., N. Krstulovic, S. Jozic & D. Curac. 1999. The rate of concentration of fecal coliforms in shellfish under different environmental conditions. *Environment International* 25(8): 991-1000.
- Stanier, D. 1981. *Microbiología*. Editorial Aguilar S. A. Madrid España. 860 pp.
- Sutherland, D. 2004. Water Quality Objectives Attainment Monitoring Burrard Inlet in 2002. Ministry of Water, Land & Air Protection. British Columbia, Canada. 55 pp.
- Troussellier, M., P. Got, M. Bouvy, M. Boup, R. Arfi, F. Lebihan, P. Monfort, D. Corbin & C. Bernard. 2004. Water quality and health status of the Senegal River estuary. *Marine Pollution Bulletin*. 48: 852-862.
- Vásquez-Castro, M. D. 1997. Bases para la Biomonitorización Activa de la Calidad Ecológica de los Ríos mediante Briófitos Acuáticos. Universidad de Santiago de Compostela. Tesis Doctoral. 230 pp.
- Volterra, L. 1991. Development of analytical techniques for monitoring the hygienic quality of shellfish. MAP Technical Report Series No. 60. Athens, Greece: United Nations Environment Programme. 22-30. pp.
- Walker, C., S. Hopkin, R. Sibli & D. Peakall. 2001. *Principles of Ecotoxicology*. Second edition. Taylor & Francis Group. London. 209 pp.
- Wegeberg, A. M., X. de Montaudouin & T. Jensen. 1999. Effects of intermediate host size (*Cerastoderma edule*) on infectivity of cercariae of three *Himasthla* species (Echinostomatidae, Trematoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 238: 259-269.
- Wong, E., M. I. Gonzáles, F. Antillón & E. Glenn. 1997. Efectos de varios agentes, a diferentes niveles de pH, sobre la tasa de filtración de la

piangua, *Anadara tuberculosa* (Prionodontidae: Arcidae). Revista de biología tropical. 45: 1445-1452.

Yáñez-Arancibia, A. 1986. Ecología de la Zona Costera. Editorial Calypso, México D.F. 189 pp.

Yoshpe-Pure, Y. & Golderman S. 1991. Studies on the occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in coasta water in Israel. Development and Testing of Sampling and Analytical Techniques for Monitoring of Marine Pollutants. MAP Technical Reports No. 60 UNEP. 77 pp.

REFERENCIAS DE INTERNET

Web 1. http://WWW2.msstate.edu/~d_morse/homogeneity.Pdf

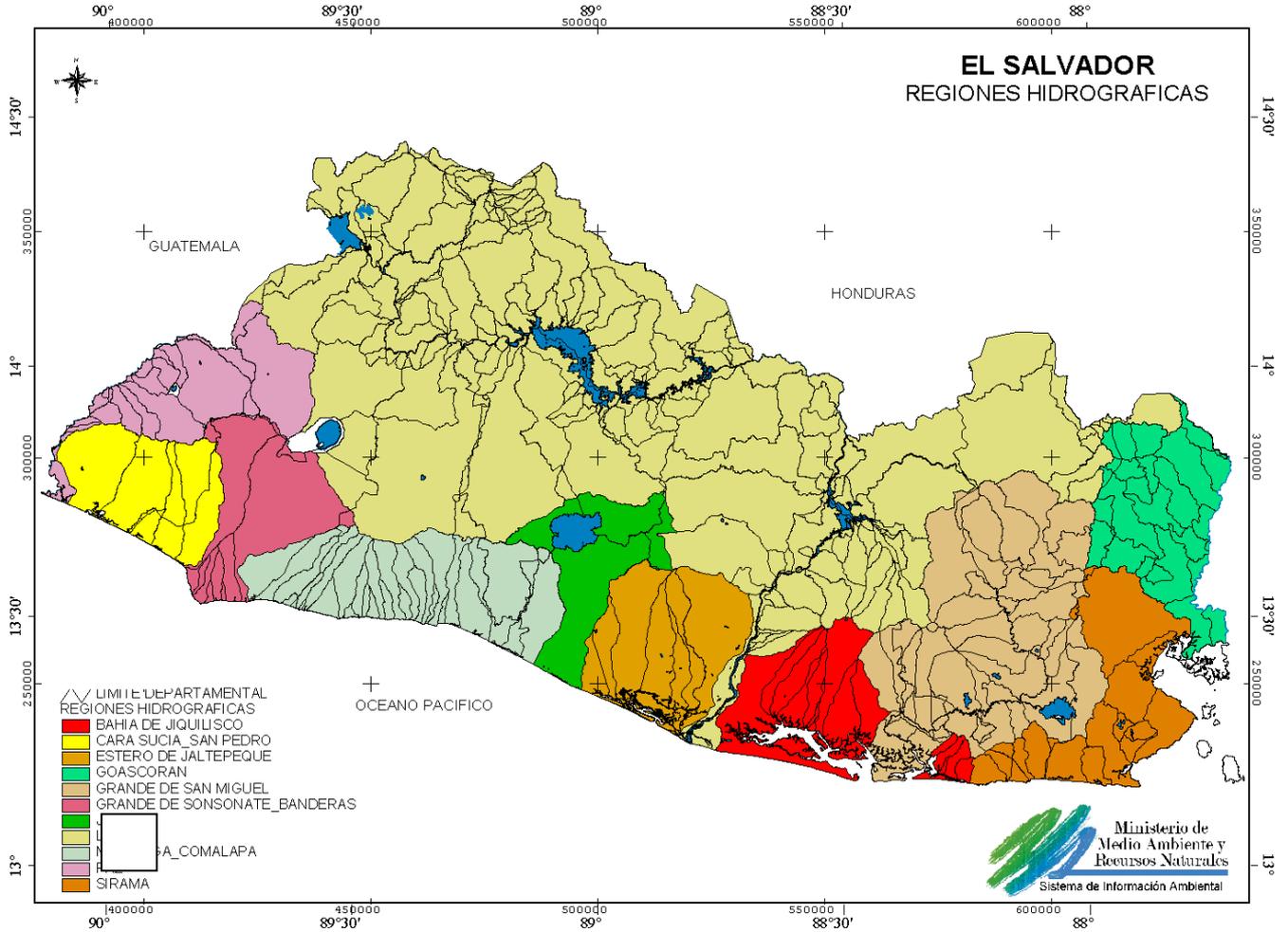
Web 2. http://www.ecoinfo.ec.ge.ca/env_ind/region/shellfish/shellfish_e.cfm

Web 3. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html#authors>

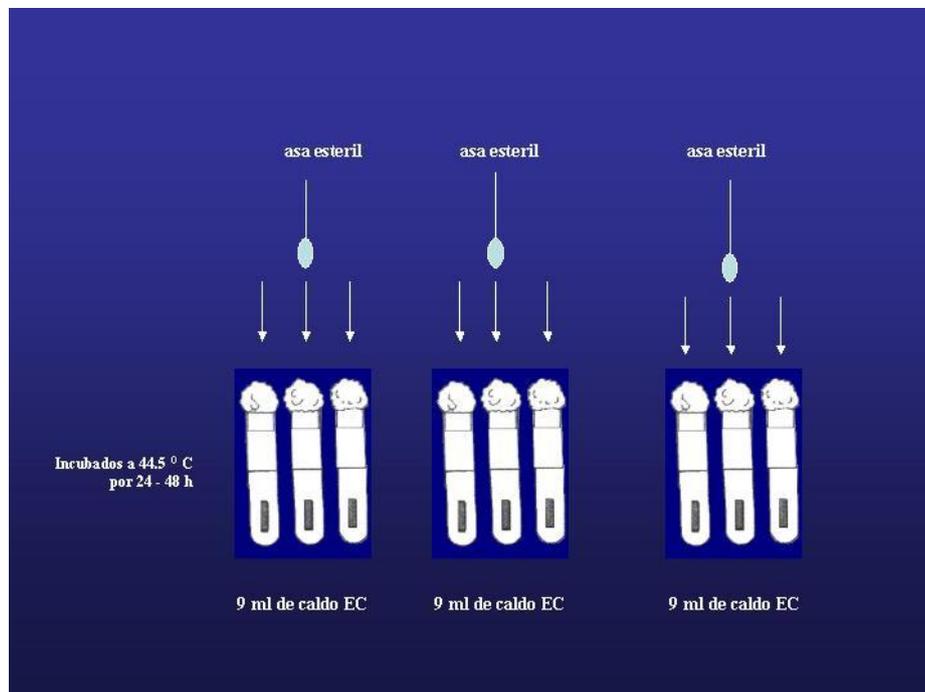
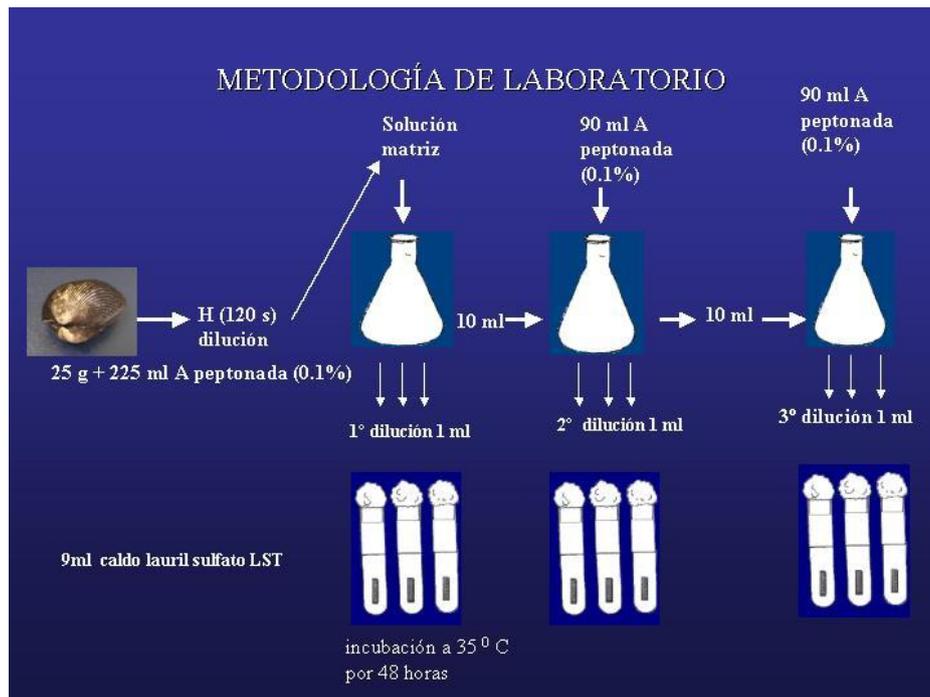
ANEXOS

ANEXO 1

Mapa de las regiones hidrográficas de El Salvador



ANEXO 2



ANEXO 3

Tabla para cálculo de NMP/g para serie de tres tubos en caldo Lauril Sulfato
Triptosa (LST)

Pos. tubes			MP N/g	Conf. lim.		Pos. Tubes			MPN /g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.00		Low	High	0.10	0.01	0.0		Low	High
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	1,00
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,00
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,00
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,10
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>110	420	--