



Disminución/Reducción de la carga bacteriana en la concha negra *Anadara tuberculosa* para consumo humano

Reducing bacterial load in *Anadara tuberculosa* for human consumption

Lita SORROZA Ochoa [1](#); Patricio VELASQUEZ López [2](#); Roberto SANTACRUZ Reyes [3](#); Edison ECHEVERRÍA Espinoza [4](#); Mauricio YÁNEZ Morocho [5](#); Galo SOLANO Motoche [6](#)

Recibido: 21/05/2018 • Aprobado: 10/07/2018

Contenido

- [1. Introducción](#)
- [2. Metodología](#)
- [3. Resultados](#)
- [4. Conclusiones](#)

[Referencias bibliográficas](#)

RESUMEN:

En Ecuador el bivalvo *Anadara tuberculosa* es un molusco de interés comercial que no siempre está apto para consumo humano debido a la contaminación bacteriana. Este estudio determina la disminución de la carga bacteriana en el organismo. La exposición de especímenes de *A. tuberculosa* en agua purificada por un tiempo de 4.5 horas permitió reducir la cantidad de Enterobacterias, *Vibrios* sp y *E. coli*. Finalmente, es necesario proveer a los pescadores de herramientas que permitan reducir el impacto a la salud pública.

Palabras clave: Contaminación, *Anadara*, Bacteria.

ABSTRACT:

In Ecuador the bivalve *Anadara tuberculosa* is a mollusk specie of commercial interest that is not always suitable for human consumption due to bacteria contamination. The study determines the reduction of the total bacterial load in the organism. The exposure of *A. tuberculosa* to purified seawater in a period of 4.5 hours allowed to reduce the amount of Enterobacteria and *Vibrios* sp and the elimination of *E. coli*.

Keywords: Contamination, *Anadara*, Bacteria

1. Introducción

El sur de Ecuador y principalmente la zona costera de la provincia de El Oro se caracteriza por la presencia de organismos acuáticos que habitan en el estuario y zonas de manglar. Tales organismos se encuentran amenazados por la contaminación que se origina ante la falta de tratamiento de aguas negras, producto del intenso desarrollo urbano de los últimos 20 años. A pesar de la contaminación, varias especies habitan en el ecosistema de manglar encontrándose de manera importante el molusco bivalvo *Anadara tuberculosa*.

La concha *Anadara tuberculosa*, pertenece al grupo de los moluscos bivalvos conocida comúnmente en Ecuador como "concha prieta" o "concha negra", es una de las especies bioacuáticas más comerciales que habita en las zonas inter-mareales asociada a las raíces de mangle rojo (*Rhizophora mangle*). Esta especie se localiza a lo largo del Océano Pacífico Ecuatoriano y se distribuye geográficamente desde Baja California hasta el norte del Perú (MacKenzie 2001; Borda y Cruz, 2014). *A. tuberculosa* tiene gran importancia por su valor comercial, por lo cual, miles de personas se dedican a la captura del molusco en zonas de manglar tanto en México (Pico et al. 2009), Colombia (Lucero-Rincón et al. 2013), Centro América (Wong et al. 1997), Ecuador (Flores et al. 2014) y el norte del Perú (Cabanillas et al. 2016).

Ecuador, es posiblemente el país donde mayor cantidad de gente se dedica a la pesca artesanal de este molusco (MacKenzie 2001), actividad que es realizada mediante pequeñas asociaciones de pescadores artesanales, quienes capturan y distribuyen el producto a nivel nacional. Los especímenes que se capturan en Ecuador incluyen a *A. tuberculosa*, *A. similis* y *A. grandis* y son distribuidas localmente para consumo en restaurantes locales y vendidas al norte del país y al Perú (Yáñez y Mendoza, 2015). En el consumo humano de este molusco generalmente no interviene la cocción, de ahí el riesgo asociado a la contaminación microbiana por falta de seguridad sanitaria de estos moluscos bivalvos.

Por tal motivo, es necesario estudiar de manera integral el problema, mediante el análisis del grado de contaminación en los organismos acuáticos, para determinar procedimientos prácticos de remediación que permitan erradicar la presencia de microorganismos patógenos y agentes tóxicos que son peligrosos para la salud humana.

El presente estudio explora la contaminación microbiana medida por la presencia de *E. coli* Enterobacterias, y Vibrios totales en *A. tuberculosa* en un punto referencial de captura en la zona costera de la provincia de El Oro, Ecuador, con la finalidad de aplicar alguna herramienta que permita la reducción de la carga bacteriana en este molusco.

1.1. Fundamentación teórica

En años recientes se ha incrementado la preocupación del sector público por la contaminación de los recursos bio-acuáticos que son destinados al consumo humano (Martínez et al., 2009; Hara-Kudo, 2014). El ambiente donde habitan los organismos acuáticos puede representar un peligro directo ante la contaminación microbiana, así como también por el uso desmedido de fertilizantes, pesticidas agrícolas, y las aguas residuales que son depositadas en zonas costeras (Herrero et al., 1999).

En relación a los moluscos bivalvos recobra especial importancia la inocuidad, pues estas especies viven en ambientes diversos y se alimentan por mecanismos de filtración no selectiva y como consecuencia, se pueden convertir de esta manera en concentradores de varias sustancias como metales pesados y diversos patógenos entre los que encontramos a bacterias, virus y ciertas toxinas producidas por microalgas que pueden estar presentes en el agua, constituyendo un riesgo potencial para la salud del consumidor (Sandoval y Saborío, 2008).

Entre las bacterias que pueden llegar acumular los moluscos bivalvos encontramos a la familia Vibrionaceae, tales como: *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, los cuales son patógenos para el humano. Asimismo, si la zona de recolección y producción de este molusco está contaminada con materia de origen fecal pueden encontrarse en el interior bacterias como *Salmonella* spp, *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli* (Muñoz, et al., 2010).

Escherichia coli del tipo enteropatógena ocasiona en niños y adultos gastroenteritis aguda, su mecanismo de patogenicidad no está relacionado con la producción de toxinas termolábiles o toxinas termoestables. Produce una lesión intestinal y es capaz de destruir las microvellosidades intestinales. La adherencia realizada sobre las células epiteliales es muy cerrada, de manera que al ser observadas en el microscopio dan la impresión de estar cubiertas por una "taza de bacterias". Este fenómeno es conocido como adhesión y borrado, y es mediado por una adhesina no fimbrial denominada intimina, una proteína de la

membrana externa, dando origen a modificaciones severas en la ultraestructura de las células epiteliales, con la producción de cuadros diarreicos que se manifiestan con la presencia de una diarrea acuosa que va desde simple a moderada, y puede ir acompañada con fiebre (Martínez y Villalobos, 2005).

Asimismo, el género *Vibrio* es un grupo de bacterias Gram-Negativas que se encuentran distribuidas en ambientes marino, costero, estuarino y en recursos hidrobiológicos en forma virulenta o avirulenta. Específicamente el *V. cholera* y *V. parahemolyticus* han sido identificados como un peligro para la salud humana debido a que puede ocasionar problemas gastrointestinales con cuadros de diarrea aguda eventualmente de tipo disentérico, en ocasiones bastante severos y con desenlaces fatales en especial en ciertos grupos poblacionales susceptibles: niños, gestantes, ancianos, inmunocomprometidos, personas con enfermedades hepáticas concomitantes o infección por *Helicobacter pylori*, entre otras. (Aliaga et al, 2010).

Para evitar el consumo de moluscos contaminados, algunos países han elaborado códigos de buenas prácticas de producción acuícola de los moluscos bivalvos entre ellas la disminución de la carga bacteriana, y sobre todo se han determinado estándares permisibles de calidad, lo que permite que el producto sea ingerido sin ningún problema y riesgo para la salud pública (Jahnecke et al., 2002)

2. Metodología

Con el apoyo de un pescador artesanal, se realizó la captura de *Anadara tuberculosa* en una zona de manglar del estero de Jambelí, Provincia de El Oro. Se recolectaron 50 conchas las mismas que fueron transportados al laboratorio de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias (UACA) de la Universidad Técnica de Machala para su posterior análisis.

La mitad de estos especímenes fueron lavados con agua estéril y se procesó de forma inmediata separando masa visceral y tejido muscular. La masa visceral fue utilizada para realizar análisis microbiológico de cada organismo y conocer la concentración de Bacterias totales heterótrofas, Enterobacterias, Vibrios Totales y patógenos entéricos. La otra mitad de los animales fueron colocados en agua purificada estéril para el proceso de reducción de la carga bacteriana.

2.1. Análisis microbiológico de la masa visceral de *A. tuberculosa*

Los análisis microbiológicos de masa visceral de *A. tuberculosa* se realizaron según el método de recuento en placa con diluciones seriadas 1/10 en solución fisiológica salina estéril al 1% ClNa. Se efectuaron siembras en diferentes medios de cultivo cuyos resultados se expresan en unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/gr). El agar marino (DIFCO) utilizado para bacterias heterótrofas totales favorece el desarrollo de microorganismos aerobios, y anaerobios. El agar Thiosulphate Citrate Bile Salt (TCBS) (DIFCO), es un medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus* y otras especies de *Vibrio*. El agar MacConkey (DIFCO) para bacterias Gram-negativas de la familia de las Enterobacteriaceae. Adicionalmente, se utilizó el medio Salmonella-Shigella para una diferenciación más selectiva de microorganismos fecales. Finalmente, *Escherichia coli* fue aislada e identificada por el método de aglutinación por anticuerpo *E. Coli* PRO 0157 kit (Prolex).

2.2. Disminución de la carga bacteriana en *A. tuberculosa*

Para evaluar la reducción de la carga bacteriana, las conchas fueron colocadas en recipientes separados a razón de 1 individuo/litro con agua filtrada y purificada. Un grupo de individuos fueron colocados en recipientes con una malla de separación del fondo y otro grupo fue colocado en recipientes sin malla, es decir sin separación del fondo. El ensayo se trabajó por triplicado y se establecieron dos tiempos de permanencia de las conchas en el agua. Después de completar 4.5 horas y 9 horas de permanencia en los recipientes con agua

limpia, se determinó la carga de Enterobacterias, Vibrios sp, y presencia de *E. coli*.

Los datos fueron transformados del valor numérico a un valor logarítmico y luego se sometieron a un análisis de varianza con la prueba de Duncan ($p < 0.05$) para determinar la significancia del efecto del tiempo de exposición a agua limpia y utilizando como variable dependiente el recuento de Enterobacterias y Vibrios.

3. Resultados

Los resultados previamente analizados indican presencia de *E. coli* y bacterias de los géneros Vibrio y Enterobacterias en la concha negra *Anadara tuberculosa* que se captura en las zonas costeras de la Provincia de EL Oro.

Para el caso de Enterobacterias totales al tiempo cero de exposición, o tiempo inicial, es decir organismos recientemente capturados de su hábitat natural, el promedio de la concentración de microorganismos fue de 6,14 log UFC/gr que corresponde a un promedio de 1.9×10^6 ufc/gr. Posteriormente las concentraciones de microorganismos en los ensayos "con malla" (c-malla) y "sin malla" (s-malla) se observa que disminuyeron 20 % y 8,22% respectivamente (Fig. 1).

En cuanto a la concentración de Vibrios totales se puede notar el mismo comportamiento, es decir organismos recientemente capturados de su hábitat natural al tiempo inicial tuvieron una concentración de microorganismos de 6,45 log UFC/gr que corresponde a un promedio de 2.8×10^6 ufc/gr. Posteriormente luego de 4.5 horas las concentraciones de microorganismos en los ensayos "con malla" (c-malla) y "sin malla" (s-malla) disminuyeron en 20 % y 8% respectivamente. (Fig. 1). Este experimento preliminar permitió determinar la importancia de la separación el fondo de los organismos para su proceso de limpieza habiéndose evidenciado una reducción de Enterobacterias y Vibrios cuando se utilizó malla de separación.

La Fig. 2 muestra la concentración de los dos grupos bacterianos Vibrios y Enterobacterias en organismos expuestos a agua de mar purificada por un periodo de 4.5 y 9 horas.

Para el caso de Enterobacterias totales la concentración promedio de microorganismos en especímenes no expuestos a agua limpia fue de 6.14 log ufc/g. En cambio, en los organismos expuestos a agua limpia a las 4.5 horas la concentración fue menor ($p < 0.05$) que en aquellos que no se sometieron a la purificación, calculándose un decrecimiento de alrededor del 36% respecto al valor inicial. Subsiguientemente, organismos que se mantuvieron por un tiempo de 9 horas en agua limpia la concentración de Enterobacterias decreció en un 40%. Esto ratifica que la disminución de Enterobacterias fue progresiva en relación al valor registrado en especímenes analizados directamente al salir de su hábitat. El descenso de la concentración de Enterobacterias fue relativamente menor y poco significativo después de las 4.5 horas de exposición. (Fig. 2)

La concentración de *Vibrios* totales en especímenes recientemente capturados y no sometidos a depuración (tiempo cero) fue de 5.21 log ufc/g. En especímenes sometidos por 4.5 horas en agua de mar purificada la concentración fue menor ($p < 0.05$) calculándose un decrecimiento de alrededor del 29%. De manera similar al comportamiento observado en Enterobacterias, la disminución de bacterias del grupo de *Vibrios*, fue igualmente gradual en los organismos que fueron sometidos a agua de mar purificada incrementándose en el tiempo hasta las 9 horas de exposición, aunque la diferencia entre las 4.5 horas y las 9 horas no fue significativa ($p < 0.05$). (Fig. 2)

El segundo experimento permitió ratificar la reducción del número de Enterobacterias y Vibrios eliminación total de *E. coli*, al ser expuestas a agua limpia por 4.5 horas, alternativa viable para mitigar la depuración de microorganismos patógenos en *Anadara tuberculosa* capturada de zonas de manglar de la costa de la Provincia de El Oro Ecuador.

4. Conclusiones

El presente estudio determinó la presencia de diversos grupos bacterianos en la concha *A tuberculosa*, cuya contaminación podría ocasionar daño al consumidor. Asimismo, se

determinó la fiabilidad de conducir procesos de limpieza en condiciones estáticas produciéndose una reducción de alrededor del 40 % y 29% de la carga de Enterobacterias y *Vibrios*, respectivamente y la eliminación de *E. coli*. Para procedimientos de limpieza del molusco la separación del fondo fue importante para evitar el contacto y re-ingesta de heces fecales y consecuentemente impedir una persistente contaminación bacteriana en el organismo.

Acciones gubernamentales frente al manejo de recursos costeros podrían contribuir a mitigar la contaminación mediante la sensibilización integral del problema, además son necesarios realizar un análisis más extensivo de la zona costera para la designación de sitios aptos para la extracción de este molusco y la implementación de programas de saneamiento para los bivalvos en general. Adicionalmente estudios de la contaminación microbiana en otras especies de organismos acuáticos que son capturados en la zona de manglar deberían conducirse como medida de prevención y vigilancia.

Referencias bibliográficas

- Aliaga, R; Miranda, J; Zevallos, J. (2010). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Rev Med Hered* 21, 139-145.
- Borda, I. y Cruz, R. (2004). Pesca artesanal de bivalvos (*Anadara tuberculosa* y *A. similis*) y su relación con eventos ambientales. *Pacífico Colombiano. Rev. Invest. Mar.* 25(3):197-208.
- Cabanillas, R., Advincula, O. y Gutiérrez, C. (2016). Diversidad de Polychaeta (Annelida) en el intermareal de los esteros del Santuario Nacional los Manglares de Tumbes, Perú. *Rev. peru biol.* vol.23, n.2. 117-126. doi.org/10.15381/rpb.v23i2.1238
- Flores, L., Licandeo, R., Cubillos, L. A. y Mora, E. (2014). Intra-specific variability in life-history traits of *Anadara tuberculosa* (mollusca: Bivalvia) in the mangrove ecosystem of the southern coast of Ecuador. *Revista De Biología Tropical*, 62(2),
- Hara-Kudo. (2014). Impact of seafood regulations for *Vibrio parahaemolyticus* infection and verification by analyses of seafood contamination and infection. Volume: 142. Issue 11. Page: 2237-2247. doi: 10.1017/S0950268814001897.
- Herrero U., Palacios F., Laya H. y Vega A. (1999). Ausencia de detección de enterovirus en bivalvos *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) por contaminación química en el Pacífico de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 47 (3): 419-27.
- Jahnecke, M.; Spencer, G.; Reilly, A.; Martin, R. y Cole, E. (2002). *Public, Animal, and Environmental Aquaculture. Health Issues.* USA: John Wiley and Sons.
- Lucero-Rincón, C. H., Cantera, J. R., Gil-Agudelo, D. L., Muñoz, O., Zapata, L. A., Cortes, N., y Manjarres, A. (2013). Análisis espacio temporal de la biología reproductiva y el reclutamiento del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* en la costa del Pacífico colombiano. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(2), 321-334.
- Mackenzie, C. Jr. (2001). The fisheries for mangrove cockles, *Anadara* spp., from Mexico to Peru, with descriptions of their habitats and biology, the fishermen's lives, and the effects of shrimp farming. *Marine Fisheries Review*, 63(1), 1.
- Martínez, O., Rodríguez-Calleja J.M., Santos, J. A., Otero, A. y García-López, M.L. (2009). Foodborne and indicator bacteria in farmed molluscan shellfish before and after depuration. *Journal of Food Protection*, 72(7), 1443-1449. doi.org/10.4315/0362-028X-72.7.1443
- Martínez, R., y Villalobos, L. (2005). *Escherichia coli* enteropatógena en moluscos crudos y cocidos. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XV, N° 2*, 163-167.
- Muñoz, D., Graü de Marín, C., Villalobos, L., Marval, H., Martínez, C. y Zerpa, A. (2010). Uso de *Clostridium perfringens* como indicador de contaminación fecal en zonas de cultivo de moluscos bivalvos en el estado de Sucre, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XX, N° 6*, 575 – 583.
- Pico, E., Ramírez, M. y Holguín-Quiñones, O. (2009). Growth and fisheries of the black ark

Anadara tuberculosa, a bivalve mollusk, in Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *North American Journal of Fisheries Management*, 29(1), 231-236. doi:10.1577/M06-050.1

Sandoval, E., Saborío, A. 2008. Calidad bacteriológica del agua en los sitios de recolección de "conchas negras" (*Anadara tuberculosa* y *Anadara similis*) en Chinandega, Nicaragua. *Encuentro*, Año XL, N° 81, 30-47.

Wong, E., Antillón, F., Glenn, E. y González, M. I. (1997). Revista de biología tropical: Microbiologic depuration of *Anadara tuberculosa* (mollusca: Arcidae). *Revista de Biología Tropical*. Universidad de Costa Rica. Volume: 45 Issue: 4 Page: 1445-1452.

Yáñez, M. y J. Mendoza, (2015). Monitoreo de la pesquería de concha prieta (*Anadara tuberculosa*) en el Archipiélago de Jambelí en el periodo marzo-agosto 2015. *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acuí. VII*: 451-457.

1. Doctor en Sanidad Animal. Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola. slita@utmachala.edu.ec

2. Philosophy doctor. Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola. cvelasquez@utmachala.edu.ec

3. Philosophy doctor Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola. rsantacruz@utmachala.edu.ec

4. Ingeniero Acuicultor, Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola

5. Ingeniero Acuicultor, Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola

6. Ingeniero Acuicultor, Docente de la Universidad técnica de Machala, Carrera de Ingeniería Acuícola

Revista ESPACIOS. ISSN 0798 1015
Vol. 39 (N° 45) Año 2018

[Índice]

[En caso de encontrar algún error en este website favor enviar email a webmaster]