

Indicadores bacterianos y materia inorgánica en la almeja *Rangia cuneata* y su relación con el agua y sedimento

Marynes Montiel, Ricardo Silva, Jesús Núñez*
Nínive Espinoza, Félix Morales Ramos**

RESUMEN

Los moluscos bivalvos por ser una fuente importante de proteínas son utilizados por las poblaciones para su alimentación, sin embargo la transmisión de enfermedades a través de los mismos es un problema de salud pública, no sólo a nivel nacional sino mundial. *Rangia spp.* es un molusco bivalvo comercializado en el estado Zulia y que ha sido reportado en el Sistema de Maracaibo. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la calidad microbiológica y física (materia inorgánica) de la almeja *Rangia cuneata* proveniente de la playa Curarire, sitio donde se han encontrado amplios bancos de este organismo, y del agua y sedimento de la zona. Se determinaron los coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos y enterococos por la técnica del número más probable descrita en los métodos estándares. Igualmente la presencia de *Salmonella* fue analizada en las muestras de agua, sedimento y *R. cuneata*. Los valores más elevados se encontraron para los coliformes totales en las muestras de almeja. En general, los indicadores bacterianos se

Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. montielmarynes@gmail.com

* Unidad de Investigación en Microbiología Ambiental (UIMA).

** Laboratorio de Oceanografía y Ecología Molecular.

presentaron en mayor concentración en este tipo de muestra, seguido por los sedimentos y posteriormente el agua. El 36,6% de las muestras de *R. cuneata* sobrepasaron los límites establecidos por la normativa venezolana. Los resultados demuestran la importancia de evaluar este molusco desde el punto de vista microbiológico y físico a fin de controlar la posible transmisión de enfermedades.

PALABRAS CLAVE: indicadores bacterianos, *Rangia*, agua, sedimento.

Bacterial and Organic Matter Indicators in the Rangia cuneata Clam and their Relation to Water and Sediment

ABSTRACT

Mollusks are an important source of protein for humans. They are also related to diseases and present a worldwide and local public health problem. *Rangia spp.* is a bivalve mollusk sold in the state of Zulia and reported in the Maracaibo System. The objective of this research was to evaluate the microbiological and physical (inorganic matter) quality of the *Rangia cuneata* clam from the Curarire beach, a place where ample beds of this organism have been found, as well as the water and sediment in the zone. Total coliforms, fecal coliforms, streptococcus and enterococcus were determined using the most probable number technique described in standard methods. *Salmonella* were analyzed in all samples (water, sediment, and *R. cuneata*). Highest values for total coliforms were found in the clam samples. In general, bacterial indicators had the highest values in the clam samples, followed by those of sediments and water. Thirty six point six (36.6%) of the *R. cuneata* samples exceeded the established Venezuelan standards. Results show the importance of evaluating the mollusk microbiologically and physically in order to prevent diseases.

KEY WORDS: bacterial indicators, *Rangia cuneata*, water, sediment.

Introducción

La alimentación a base de pescado y mariscos es de gran importancia, por poseer estos productos un alto valor nutritivo y excelente sabor, además contienen proteínas de alta calidad, en el orden del 20%, y gran cantidad de minerales, lo que hace que sean ampliamente recomendados en la dieta diaria. También es importante hacer notar que son fácilmente digeribles y reducen el riesgo de enfermedades circulatorias (Iwamoto *et al.*, 2010).

Entre la gran diversidad de especies que comprende la fauna marina de Venezuela, es necesario resaltar la presencia de moluscos bivalvos y crustáceos que forman parte de los productos de consumo interno, así como de exportación. Particularmente, el género *Rangia* es un molusco bivalvo perteneciente a la Familia Mactridae (Wong, 2009).

La calidad microbiológica de los moluscos bivalvos es un reflejo del sitio donde los mismos se desarrollan (Narváez, 2003). Así, en ambientes contaminados por descargas fecales, la acumulación de microorganismos patógenos es un hecho resaltante (Kay *et al.*, 2008). Varios factores contribuyen al papel de los moluscos bivalvos como vehículos transmisores de enfermedades causadas por bacterias y virus: primero, los moluscos bivalvos son capturados principalmente de estuarios y ambientes cercanos a las costas, y estas áreas están generalmente contaminadas, en varios grados, con descargas humanas; segundo, debido a que se alimentan por filtración, los moluscos concentran patógenos potenciales tanto virales como bacterianos que se encuentran presentes en esta agua (Quiñones *et al.*, 2000); tercero, los humanos generalmente consumen el molusco entero, incluyendo el tracto gastrointestinal, donde los patógenos se concentran, y finalmente, debido a que los moluscos bivalvos se comen crudos o parcialmente cocidos, los patógenos se mantienen viables y con capacidad para llegar al tracto gastrointestinal de los humanos, pudiendo producir enfermedades (Martínez-Manzanares, 1992).

Entre los microorganismos asociados a enfermedades de origen alimentario, a través de moluscos bivalvos, se encuentran: *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter jejuni*, *Pleisomonas shigelloides* y *Aeromonas hydrophila*. De igual manera agentes virales tales como el

virus de la hepatitis A, Norwalk-virus y Norwalk-like virus, han sido implicados (Iwamoto *et al.*, 2010).

Los coliformes fecales, *Escherichia coli* y enterococos han sido ampliamente utilizados como indicadores de patógenos fecales en la carne de los moluscos bivalvos y agua, respectivamente (Grabow *et al.*, 1992; Anderson *et al.*, 2005).

Los moluscos bivalvos, se alimentan durante la marea alta utilizando los sifones, los cuales extienden a la superficie de la tierra para coleccionar organismos microscópicos y partículas de la columna de agua. De esta manera las partículas de arena, junto con otras partículas indeseadas como los virus, bacterias y poluentes, quedan atrapadas en los órganos, tales como la agallas, intestino y músculos aductores. Cuando las almejas son vendidas para el consumo humano, los tejidos que contienen arena son desagradables al consumirlos y también poseen un riesgo para la salud.

En Venezuela las aguas marinas o de medios costeros destinadas a la cría y explotación de moluscos consumidos en crudo están clasificadas como aguas tipo 3 y deben contener un promedio mensual menor a 70 NMP de coliformes totales por cada 100 mL, pudiendo el 10% de las muestras exceder de 200 NMP por cada 100 mL (Gaceta de Venezuela, 1995). Al mismo tiempo deben presentar un oxígeno disuelto mayor de 5.0 mg/L o un porcentaje de saturación mayor del 60% y un pH entre 6.5 y 8.5. En relación a la calidad de los moluscos bivalvos, la normativa venezolana y de la Comunidad Económica Europea, señala que los moluscos bivalvos vivos destinados al consumo humano inmediato deben contener < 300 Coliformes fecales/100 g y < 230 *E. coli*/100 g (Gaceta de Venezuela, 1998).

Dentro de los recursos comercializados en el estado Zulia se encuentran los ejemplares del genero *Rangia* que han sido reportados en el Sistema de Maracaibo. Esta almeja, junto con *Polymesoda*, es colectada y consumida artesanalmente por muchos pescadores de esta área y es muy común encontrarla en algunos mercados locales e incluso del centro del país.

Estudios previos realizados en el laboratorio, sugieren la contaminación de *Rangia* y otros moluscos bivalvos (Porto, 1988; Morillo, 2010). Hasta los momentos no existen reportes previos de la zona de Curarire,

encontrándose en la misma un banco de almejas que está siendo explotado por los pescadores de la zona. Por lo que se espera con este estudio realizar un aporte al conocimiento de la calidad microbiológica y física de este género y el ambiente donde se desarrolla, a fin de conocer su posibilidad de ser utilizada de forma segura en el mercado nacional y evaluar su posible exportación.

1. Metodología

1.1. Área de estudio

Las muestras fueron recolectadas en la región de Curarire ubicada en el municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia, bajo las coordenadas: $10^{\circ}16' 37,0''\text{N}$ y $71^{\circ}48' 57,8''\text{W}$ (figura 1). El municipio se ubica geográficamente en la costa oeste del Lago de Maracaibo a unos 45 minutos de la ciudad. Cuenta con una superficie aproximada de 2.040 km^2 . Para el año 2001, presentaba una población de 61.527 habitantes. La capital del municipio es La Concepción.

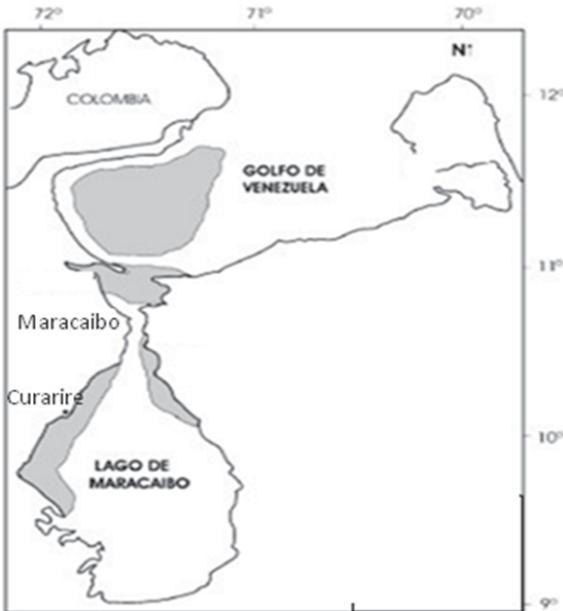


FIGURA 1. Ubicación de Curarire.

Se eligió este lugar por ser un banco de producción de la almeja *Rangia* sp de donde son captadas de manera artesanal por los pescadores de la zona para luego ser distribuidos a la población. Además, este ecosistema posee una alta diversidad biológica al actuar como hábitat de varias especies con alto valor económico.

1.2. Toma de muestras

Se realizó un muestreo mensual por un período de once meses (octubre 2008-octubre 2009), en tres sitios de la zona de Curarire. Las muestras de agua, sedimento y almeja (*Rangia cuneata*), se colectaron del mismo sitio al momento del muestreo, siguiendo el orden agua, sedimento y almeja a fin de evitar contaminación cruzada.

Las muestras de agua fueron recolectadas en envases de vidrio estériles de 500 mL de capacidad, de forma aséptica en dirección contrarriente, a 30 cm de profundidad aproximadamente desde la superficie.

Con el objetivo de obtener 25 g de muestra de la almeja *R. cuneata*, se colectaron manualmente entre 10 y 20 organismos, los cuales fueron colocados en bolsas plásticas tipo clip.

Se recolectaron aproximadamente 500 g de sedimento utilizando un envase de vidrio previamente esterilizado. La muestra fue colocada en una bolsa plástica con cierre tipo clip. El sedimento se encontró aproximadamente entre 60 y 70 cm de la superficie del agua.

Todas las muestras se colocaron debidamente rotuladas en una cava con hielo y fueron transportadas al laboratorio, donde se llevó a cabo el procesamiento de las muestras en un tiempo no mayor a 6 h (APHA, 1998).

Al momento de la toma de muestra se midió el pH, la temperatura, la salinidad y la turbidez del agua por técnicas descritas en el APHA, 1998.

1.3. Procesamiento de las muestras.

Las muestras de almejas (*R. cuneata*) fueron lavadas con agua estéril. 25 g de la almeja (líquido intervalvar y masa muscular), fueron licuados con 225 mL de caldo peptonado (1% p/v). De igual manera, 25 g de sedimentos fueron pesados y homogeneizados manualmente durante 2 min con 225 mL de caldo peptonado (1% p/v) (COVENIN, 1989).

Se cuantificaron los coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Escherichia coli* (EC), *Streptococos* fecales (SF) y *Enterococos* (ENT) siguiendo la técnica del Numero Más Probable (NMP) (COVENIN, 1988a; COVENIN, 1996).

Los CT, CF y EC fueron cuantificados utilizando tres series de 5 tubos de caldo lactosado, inoculado con diluciones apropiadas. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24-48 h. Los tubos positivos, gas y turbidez, se transfirieron a caldo bilis verde brillante, incubados en las mismas condiciones anteriores y transferidos a caldo EC, los cuales se incubaron a 44,5 °C durante 24 h. Los tubos positivos de caldo EC fueron transferidos a placas con agar Eosina Azul de Metileno (EMB, por sus siglas en ingles) e incubados a 37 °C durante 24-48h. Las colonias típicas de *E. coli* fueron verificadas utilizando las pruebas de indol, rojo de metilo, voges proskauer y citrato (IMVIC) (COVENIN, 1996).

Los SF y ENT se cuantificaron inoculando tres series de 5 tubos conteniendo caldo azida dextrosa, se incubaron a 37 °C durante 24-48h. Los tubos positivos se transfirieron a placas con agar KF-estreptococos y se incubaron a 37 °C durante 24-48h. Las colonias de estreptococos fueron confirmados para enterococos a través de las pruebas de catalasa, crecimiento a 45 °C en caldo infusión cerebro corazón, crecimiento con 6,5% de NaCl y la utilización de bilis esculina (COVENIN, 1988a).

La detección del género *Salmonella* se realizó según la metodología descrita en las normas nacionales (COVENIN, 1988b).

El contenido de materia inorgánica de *R. cuneata*, se determinó por el método de calcinación en Mufla. Se colocó el contenido interno de la almeja en una bandeja de aluminio a 80 °C durante 24 h. Se pesó el contenido interno para determinar el peso seco y se colocó en una mufla a 550 °C durante 6 h. A partir del peso de las muestras se determinó el porcentaje de materia inorgánica presente en la muestra.

2. Resultados y discusión

Se recolectaron un total de 90 muestras (30 de agua, 30 de sedimentos y 30 de almejas (*Rangia cuneata*) durante el período (noviembre 2008-octubre 2009) en la zona de Curarire.

Se encontró variabilidad en relación a los microorganismos indicados, en las 90 muestras analizadas. *R. cuneata* presentó valores desde $<2 \times 10^0$ hasta $1,6 \times 10^5$ NMP/100 g (Tabla 1). En el caso de las muestras de agua y sedimento los indicadores estuvieron presentes en un rango entre $<2 \times 10^0$ y $1,4 \times 10^4$ NMP/100 mL, y $<2 \times 10^0$ y $1,6 \times 10^5$ NMP/100 g, respectivamente.

TABLA 1. Valores promedios, mínimos y máximos de indicadores medidos en muestras de agua, sedimento y almejas (*Rangia cuneata*) provenientes de Curarire, Venezuela

	CT	CF	<i>E. coli</i>	SF	ENT
Agua					
Promedio	$5,5 \times 10^2$	$5,1 \times 10^1$	$1,1 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$	$6,9 \times 10^0$
Mínimo	$<2 \times 10^0$				
Máximo	$1,4 \times 10^4$	$7,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^1$
Sedimento					
Promedio	$1,6 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^1$	$6,8 \times 10^2$	$2,2 \times 10^1$
Mínimo	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^0$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^0$
Máximo	$1,6 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$	$1,3 \times 10^2$
<i>R. cuneata</i>					
Promedio	$1,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$2,3 \times 10^1$	$1,0 \times 10^3$	$2,1 \times 10^1$
Mínimo	$1,1 \times 10^2$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^0$	$<2,0 \times 10^1$	$<2,0 \times 10^0$
Máximo	$1,6 \times 10^5$	$9,0 \times 10^3$	$2,7 \times 10^2$	$1,6 \times 10^4$	$7,0 \times 10^1$

CT: coliformes totales, CF: coliformes fecales, SF: estreptococos fecales, ENT: enterococos. Valores expresados en NMP/100 mL o 100g.

El 36,6% de las muestras de *R. cuneata* sobrepasó la normativa venezolana establecida en relación a los CF ($<300/100g$) y sólo el 3,3% para *E. coli* ($<230/100g$) (Gaceta Oficial, 1995) demostrando la falta de relación entre los CF y *E. coli*. Se encontró correlación ($p < 0,05$) entre el número de muestras de moluscos bivalvos que sobrepasaron la normativa venezolana para CF (36,6%) (Gaceta Oficial de Venezuela, 1998) y el de agua que sobrepasaron la normativa CT ($<70/100$ mL) (33,3%) (Gaceta Oficial de Venezuela, 1995). No hubo diferencia en relación al cumplimiento de la nor-

ma de forma temporal. Sarcos (2003), reportó un 58,3% de muestras de la almeja *Polymesoda solida* recolectada en el Lago de Maracaibo, que sobrepasó la normativa venezolana.

Estudios realizados en el golfo de México encontraron que los coliformes fecales estaban presentes en el 100% de las muestras con valores entre 10^1 y 10^6 NMP/g. Estudios realizados en la almeja *Tivela mactroides*, en un ambiente marino, revelaron la presencia en promedio de CT de 5,4 NMP/100 g, 103,4 de NMP SF/100 g, y de 65,1 NMP EC/100g (Chourio y Montiel, 1997).

Los valores de estreptococos y enterococos se presentaron entre <2 y 1×10^4 NMP/100 g. Estos grupos han sido probablemente el grupo de microorganismos más extensamente estudiados como posibles indicadores fecales, encontrándose en las heces humanas en menor concentración que los coliformes fecales (10^6 por gramo) y en las heces animales pueden llegar a 10^6 - 10^7 por gramo. En aguas residuales, los SF tienden a estar presentes en concentraciones 10-100 veces inferiores que los coliformes fecales, aunque parecen ser más persistentes. En el caso de los enterococos se argumenta que son microorganismos capaces de soportar temperaturas de 44 a 45 °C en comparación con otros indicadores, además de vivir en ambientes con concentraciones de 6,5% de cloruro de sodio, por lo que son considerados buenos indicadores para evaluar aguas estuarinas. Algunos países como Canadá, EE.UU y la Comunidad Económica Europea los incluye como indicadores de contaminación fecal dentro de la normativa de control de calidad (Sánchez, 2007).

No se detectó el género *Salmonella* en ninguna de las muestras estudiadas, lo cual demuestra la falta de relación entre los indicadores de contaminación y la presencia de este género bacteriano. Estudios previos han indicado relación entre bajas concentraciones de coliformes fecales y *Salmonella*, pero no cuando las concentraciones de CF son elevadas (Hood et al., 1983).

A excepción de los enterococos, los promedios de los diferentes indicadores se encontraron más elevados en las muestras de *R. cuneata* en relación a los sedimentos y el agua (figura 2). Morillo (2010), reportó muestras de *Rangia* spp. provenientes del Gran Eneal esta misma condición, encontrando valores de coliformes entre 7×10^4 a $3,410^4$ NMP/100 g.

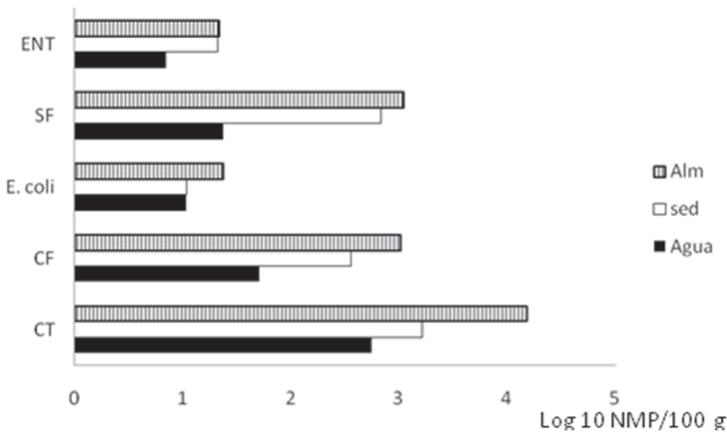


FIGURA 2. Valores promedio de organismos coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), Estreptococos fecales (SF), *E. coli* (EC) y enterococos (ENT) en muestras de agua, sedimento y almejas.

Los moluscos bivalvos, tal como *R. cuneata*, son capaces de acumular en sus tejidos microorganismos indicadores provenientes de los ambientes contaminados, lo cual está principalmente relacionado con la capacidad de filtración que los mismos poseen. Igualmente las condiciones fisicoquímicas del ambiente de Curarire donde, la salinidad presentó un valor promedio de 3,84 UPS (Rango: 2-5 UPS), la temperatura promedio 31,5 °C (Rango: 23,7 y 35 °C), la turbidez 42,94 NTU (Rango: 31,60-66,47 NTU), y el pH 9,28 (rango: 8,73-9,63), pudiesen ser propicias para la acumulación de microorganismos y partículas al presentarse una alta turbidez, con temperaturas que favorecen el proceso de filtración.

La presencia de una mayor concentración de coliformes fecales en los sedimentos pudiese estar relacionada con el hecho de que los mismos, estaban constituidos principalmente por limo-arcilla (60-80%) con un porcentaje de materia orgánica de 2,44 a 10,1% con un promedio de 5,68%. Guber *et al.*, 2007 establecen que las bacterias indicadoras como los coliformes totales, fecales y enterococos, también se presentan en estos ambientes (sedimentos) debido principalmente a que estos ecosistemas poseen altas concentraciones de materia orgánica en comparación con la columna de agua. Igualmente ha sido demostrado que los sedimentos forman una cápsula arenosa que protege al microorganismo de las condiciones adversas, proporcionándole nutrientes necesarios para su supervivencia (Sánchez, 2006).

Estudios previos han demostrado una mayor concentración de microorganismos indicadores de contaminación fecal en el sedimento que en las muestras de agua (Botero et. al., 1992; Lisle et al., 2004; Anderson et al., 2005), demostrando al mismo tiempo, que diferentes cepas de *E. coli* pueden presentar diferentes tiempos de sobrevivencia en este tipo de ambiente (Anderson et al., 2005). Los sedimentos pueden proveer información adicional relacionada con la contaminación de un ambiente además que el hecho de que los mismos sean resuspendidos al momento de ciertas actividades, como recreación, dragado etc., pudiese reflejar un incremento en las concentraciones en el agua. Montiel y Botero (2006), sugieren la consideración de la calidad de los sedimentos al momento de evaluar la calidad microbiológica del agua en el Sistema de Maracaibo.

El promedio de porcentaje de materia inorgánica en la almeja *R. cuneata* fue de 18,06%. Se presentó una alta variabilidad en los porcentajes de materia inorgánica medida en las almejas de *Rangia cuneata* presentando valores entre 0 y 90%, lo cual demuestra que en algunos casos las muestras de almejas presentaban gran cantidad de sedimentos en su interior.

Conclusiones

Los estudios demuestran que la almeja *R. cuneata* presenta concentraciones de indicadores microbiológicos que sobrepasan la normativa venezolana, reflejando al mismo tiempo las condiciones del ambiente.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) y a la División de Investigación de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia por el financiamiento parcial de este estudio. A los pobladores de la región de Curarire por su apoyo logístico durante la toma de muestras.

Referencias

APHA. American Public Health Association. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. American Public Health Association, Washington D.C.

- Anderson, K., L., Whitlock, J., E., Harwood, V., J. (2005). Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Appl Environ Microbiol.* 71 (6). 3041-3048.
- Botero, L., Montiel, M., Porto, L. Recovery of enteroviruses from wáter and sediments f Lake Maracaibo, Venezuela. (1992), *J. Environ. Sci Health.* A27(8). 2213-2226.
- Chourio, L., Montiel de M, M. (1997) Calidad microbiológica de la almeja Tivela mactroides (Guacuco), en la playa Caño Sagua, Edo. Zulia. *Ciencia.* 5(3), 219-226.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1988a). Alimentos. Determinación de Enterococos y Estreptococos fecales. 2522-88. Caracas, Venezuela. 1988.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1988b). Alimentos. Aislamiento e Identificación de *Salmonella*. (1ª Rev.). 1291-88. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1989). Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1126-89. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1996). Alimentos. Determinación de Organismos Coliformes Totales y *Escherichia coli*. 1104:96. Caracas, Venezuela.
- Gaceta oficial de la República de Venezuela. (1995). No. 5.021 Extraordinario.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. (1998). Condiciones sanitarias aplicables a los moluscos bivalvos vivos. No. 36.429.
- Grabow, W., O., K., De Villiers, J., C., Schildhauer, C., I. (1992). Comparison of selected methods for the enumeration of fecal coliforms and *Escherichia coli* in shellfish. *Appl Environ Microbiol.* 58 (9). 3203-3204.
- Guber, a., k., Pachepsky, Y., A., Shelton, D., R., Yu, O. (2007). Effect of bovine manure on fecal coliform attachment to soil and soil particles of different sizes. *Appl Environ Microbiol.* 73 (10). 3363-3370.
- Hood, M., A., Ness, G., E., Blake, N., J. (1982). Relationship among fecal coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* spp. in shellfish. *Appl Environ Microbiol.* 45 (1). 122-126.
- Iwamoto, M., Ayers, T., Mahon, B., E., Swerdlow, D., L. (2010). Epidemiology of Seafood-Associated Infections in the United States. *Clin Microbiol Rev.* 23 (2). 399-411.

- Kay, D., Kersaw, S., Lee, R., Wyer, M., D., Watkins, J., Francis, C. (2008). Results of field investigations into the impact of intermittent sewage discharges on the microbiological quality of wild mussels (*Mytilus edulis*) in tidal estuary. *Water Research*. 42 (12). 3033-3046.
- Lisle, J., T., Smith, J., J., Edwards, D., D., McFeters, G., A. Occurrence of microbial indicators and *Clostridium perfringens* in wastewater, water column samples, sediments, drinking water, and weddell seal feces collected at McMurdo Station, Antarctica. *Appl Environ Microbiol*. 70 (12). 7269-7276.
- Martinez-Manzanares, E., Moriñigo, D., Castro, M., Balebond, M., Muñoz, M., Borrego, J. (1992). Relationship between indicators of fecal pollution in shellfish-growing water and the occurrence of human pathogenic microorganisms in shellfish. *Journal of food protection*, 55(8), 606-614.
- Montiel de Morales, M., Botero de L., L. Los sedimentos como reservorios de microorganismos en el Sistema del Lago de Maracaibo. (2006) COINLAGO (CCL 10).
- Morillo, N. (2010). Calidad Microbiológica de la almeja *Rangia* spp. En la Laguna de Gran Eneal. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 54 pp.
- Narváez, A. (2003). *Escherichia coli*, especies de *Vibrio* enteropatógeno y *Listeria monocytogenes* en los moluscos bivalvos mejillón y pepitona extraídos de los bancos naturales Guaca y Chacopata del Estado Sucre. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 75 pp.
- Porto, L. (1988). Determinación de virus en agua, sedimentos y almejas en cuatro balnearios del Sistema de Maracaibo. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 82 pp.
- Quiñones-Ramírez, E., I., Vásquez-Salina, C., Pedroche, F., F., Moreno-Sepúlveda, L., Rodas-Suarez, O., R. (2000). Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella* y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. *Hidrobiológica*. 10(2). 131-138.
- Sánchez, J. (2007). Distribución de bacteriófagos en sedimentos del Sistema de Maracaibo y su relación con parámetros fisicoquímicos. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 82 pp.
- Sarcos, M. (2003). Detección de bacterias patógenas en almejas y camarones. Trabajo Especial de Grado. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 46 pp.
- Wong, H., W. (2009). The Mactridae (mollusca:Bivalvia) of East coast park, Singapore. *Nature in Singapore*. 2. 283-296.