

DEPURACIÓN BACTERIANA Y FÍSICA DE LA ALMEJA *Polymesoda solida* A PEQUEÑA ESCALA

Bacterial and Physical Depuration of the Clam *Polymesoda solida* at Pilot Scale

Marynes Montiel ^{1*}, Yajaira García ², Héctor Severeyn ³ y Félix Morales ⁴

¹Unidad de Investigación en Microbiología Ambiental (UIMA), ²Laboratorio de Cultivo de Invertebrados Acuáticos.

³Laboratorio de Sistemática de Invertebrados Acuáticos, ⁴Laboratorio de Oceanografía y Ecología Molecular.

Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

*E-mail: mamontiel@cantv.net. Telf. 0414-6448858, Fax. 0261-7598109.

RESUMEN

El consumo de moluscos bivalvos ha sido asociado con infecciones microbianas aún en casos donde los mismos cumplen con los parámetros de calidad bacteriológica. El proceso de depuración se realiza con el fin de eliminar, de forma natural, los microorganismos presentes en moluscos bivalvos, los cuales han sido acumulados por su proceso de filtración. En este estudio se determinó la tasa de depuración de indicadores potenciales de contaminación. Se realizaron cuatro experimentos con la almeja *Polymesoda solida*, la cual poseía niveles altos de índices contaminantes de forma natural. Para evaluar el proceso de depuración se utilizaron como indicadores bacterianos los coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), estreptococos fecales (SF), enterococos (EN) y bacterias aerobias mesófilas (AM). El contenido inorgánico total (CIT) se utilizó como indicador del contenido de arena. La desinfección del agua marina, preparada artificialmente, se realizó irradiando con luz UV durante 48 h. El proceso de depuración se realizó durante 120 horas (5 días) a 28°C y 5 UPS, en tanques de 150 L de capacidad. La tasa de remoción bacteriana y física en *Polymesoda solida* fue más eficiente (80%) durante las primeras 72 h, alcanzando una calidad bacteriológica y física adecuada para el consumo, sin importar que los ejemplares fueron recolectados de sitios que no cumplían con los niveles aceptables de calidad.

Palabras clave: Moluscos bivalvos, calidad, depuración, *Polymesoda*.

ABSTRACT

The consumption of shellfish has been associated with microbial infections even in cases where shellfish complied with the current regulation, which is based on bacterial analysis. Depuration processes try to eliminate microorganisms using seawater to allow living, filter-feeding shellfish to naturally purge themselves from agents they accumulated from the environment. In this study, depuration rates of potential indicators were estimated. Four experiments, with naturally-contaminated shellfish (*Polymesoda solida*), were performed. For evaluating the shellfish depuration process, total coliforms (TC), fecal coliforms (FC), fecal streptococcus (FS), enterococcus (EN) and mesophilic aerobic bacteria (MAB) were evaluated as bacterial indicators. Total inorganic content was used as physical indicator. Artificial prepared seawater of the depuration tank was disinfected by UV irradiation. Depuration removal rates of experiments running for 120 hours (five days) at 28°C, 5 psu, in a 150 L tanks were effective (80%) and more efficient during the first 72 hours, allowing an adequate bacterial and physical quality for consumption after this time, no matter the clams were collected in contaminated areas which do not complain with maximal allowable level.

Key words: Shellfish, quality, depuration, *Polymesoda*.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de moluscos bivalvos ha estado limitado por la contaminación de los ambientes acuáticos donde son cosechados, los cuales podrían transmitir enfermedades al momento de su consumo [5, 20].

Las almejas, un importante alimento en la dieta humana, filtran grandes volúmenes de agua reteniendo en su interior ma-

teria particulada, la cual incluye partículas inorgánicas de arena, limo y arcilla y partículas orgánicas, vivas o no, las cuales sirven como fuente de alimento. De esta manera, si el agua donde crecen las almejas está contaminada, éstas acumularán microorganismos y químicos que pueden ser dañinos para los consumidores. Por otra parte, cuando las almejas son vendidas para el consumo humano, los tejidos que contienen arena y/o microorganismos pueden ser desagradables al paladar y poseer alto riesgo para la salud. Igualmente, debido a que frecuentemente se consumen crudas o poco cocidas son clasificadas dentro del grupo de los alimentos de alto riesgo por las autoridades de salud mundial [13]. Por ello, el papel de los moluscos bivalvos en la transmisión de enfermedades ha sido bien documentado [5, 11].

El molusco bivalvo *Polymesoda solida*, una almeja importante como recurso pesquero del Lago de Maracaibo [9], es recolectada artesanalmente por los pescadores y pobladores de sus riveras, siendo ocasionalmente comercializada como sustituto de otras almejas como el guacuco (*Tivela mactroides*), durante las épocas del año en la que éste escasea [8,10]. Durante muchos años, *P. solida* ha sido sometida a una creciente explotación comercial [22] que amenaza su papel de alimento natural, pero además, estudios recientes han demostrado que esta almeja no cumple con la normativa sanitaria para ser consumida [21]. Estudios previos han demostrado que esta condición es producto de la alta contaminación microbiológica del Sistema del Lago de Maracaibo, en el cual las aguas servidas son descargadas sin previo tratamiento [2].

A pesar de esta situación, en algunos países como Estados Unidos y los de la Comunidad Económica Europea, las almejas pueden ser legalmente cosechadas de aguas medianamente contaminadas sólo si son llevadas a un proceso de purificación antes de ser comercializadas y consumidas [6].

La depuración es el término aplicado para lograr esta purificación y reducir el contenido microbiano y particulado de las almejas, recolectadas de áreas moderadamente contaminadas, bajo condiciones controladas [16]. El proceso de depuración es posible gracias a la capacidad que tienen los moluscos bivalvos de bombear y filtrar grandes cantidades de agua, a través de sus branquias, que debe estar limpia de todo tipo de partículas. A este respecto se ha demostrado que individuos adultos de la almeja *P. solida* poseen una alta tasa de bombeo, cercana a los 1,5 litros/almeja/h, tasa que debería ser suficiente para depurarlas si son colocadas bajo las condiciones adecuadas [19].

El proceso generalmente envuelve el mantenimiento de las almejas en tanques por períodos de 48 a 72 h. con agua que es esterilizada con luz ultravioleta (UV).

Debido a la necesidad sanitaria de reducir el riesgo de contaminación física y microbiológica de los productos alimenticios, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar un sistema piloto de depuración física y bacteriana, a pequeña escala y bajo condiciones de laboratorio, de la almeja *P. solida* provenientes de áreas contaminadas del Lago de Maracaibo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y transporte de los ejemplares. Se recolectaron muestras de la almeja *P. solida* en la Laguna de Sinamaica (11°00' y 11° 20'N, 71°30' y 72° 00' W) y el sector Nazaret, de San Rafael del Mojan (10° 55'N, 71°45'W), ubicados en el Sistema del Lago de Maracaibo, Edo. Zulia, Venezuela (FIG. 1). Los ejemplares, con un tamaño superior a 3 cm, fueron capturados manualmente y colocados en envases plásticos que contenía agua proveniente de la zona. La temperatura promedio del agua de las zonas fue de 28 a 30°C y la salinidad fluctuó entre 3 y 20 Unidades Prácticas de Salinidad (ups) [3].



FIGURA 1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE EL ÁREA DE MUESTREO / GEOGRAPHICAL LOCATION OF SAMPLED AREA.

Se realizaron cuatro muestreos, dos en la Laguna de Sinamaica y dos en la zona del Nazaret, ambas clasificadas como tipo II de acuerdo a la clasificación de la Comunidad Económica Europea (CEE) [6] y como aguas no aptas para el cultivo de moluscos bivalvos, según la normativa venezolana [7].

Al momento de la recolección de los ejemplares se tomó una muestra de agua y almejas de la zona, a fin de obtener valores de referencia iniciales y se colocaron en un envase de vidrio de 500 mL de capacidad y bolsas plásticas previamente esterilizadas, respectivamente, en una cava con hielo para ser transportadas hasta el laboratorio en un periodo no mayor a 6 h [1].

Sistema experimental de depuración. El proceso de depuración se llevó a cabo, por triplicado, en tanques plásticos de 150 L de capacidad, colocando 100 L de agua de mar artificial a una salinidad de 5 ups. Esta fue irradiada con luz UV (lámpara germicida, 30W, General Electric, G30T8, EUA) durante un periodo, al menos de 24 h. Se realizaron recambios manuales del 100% del agua al momento de la toma de los ejemplares. La salinidad y temperatura del agua se mantuvieron constantes durante el proceso a 5 ups y 30°C, respectivamente. En cada tanque se colocaron 50 almejas, las cuales no fueron alimentadas durante todo el proceso de depuración.

Toma de muestra. A partir de cada uno de los tanques, a las 0; 3; 24; 48; 72; 96 y 120 h se tomaron suficientes ejemplares (aproximadamente 5) para alcanzar la cantidad de muestra necesaria para cada uno de los análisis. Las muestras fueron transportadas en envases individuales al laboratorio para su inmediato procesamiento.

Análisis Microbiológico. Las almejas fueron lavadas y abiertas con un exacto estéril. Se preparó un homogeneizado a partir de una proporción del contenido interno de las almejas de 1:10 en caldo lactosado o peptonado licuado a alta velocidad durante dos minutos [24].

Cuantificación de bacterias indicadoras. A partir del homogeneizado, se cuantificaron los coliformes totales (CT), fecales (CF), estreptococos fecales (SF) y enterococos (EN) utilizando la técnica del número más probable o tubos múltiples, descrita por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, por sus siglas en inglés) [1]. Las bacterias del grupo coliformes se determinaron empleando series de cinco tubos utilizando como medios caldo lactosado (Himedia, India), bilis verde brillante (Himedia, India), y EC (Himedia, India). Para los SF y EN se utilizó como medio de enriquecimiento el caldo azida dextrosa (Himedia, India) seguido por el agar KF streptococos y posteriormente verificado en caldo infusión cerebrocorazón con 6,5% de NaCl e incubación a 45°C. Las combinaciones obtenidas se compararon con las tablas del número más probable (NMP) para determinar las concentraciones de los diferentes grupos microbianos.

Los aerobios mesófilos (AM) se cuantificaron utilizando la técnica de vaciado en placa con agar conteo en placa (Himedia, India), e incubación a 35-37°C.

Análisis del contenido inorgánico. El contenido interno de la almeja fue secado en un horno (Lab-Line Instruments, INC, modelo 3512, EUA) a 80°C hasta alcanzar un peso seco constante. Para cada animal, las muestras secas fueron incineradas a 500°C en una mufla (Thermolyne, modelo F47915, EUA), por 24 h y el contenido de cenizas remanente fue pesado. Siete ejemplares fueron analizados para asegurar la precisión del promedio que representaba el peso de las cenizas secas. El contenido inorgánico de cada almeja fue calculado como el porcentaje de cenizas del total del peso seco de todo el tejido blando [16].

Como control de calidad del agua utilizada para el proceso de depuración, muestras de agua irradiada fueron analizadas al azar para la detección de los microorganismos a estudiar.

Los datos generados fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico (Kruskal Wallis), debido a la ausencia de normalidad, para detectar diferencias significativas entre los valores de depuración [23].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Basado en la normativa venezolana [7], las áreas utilizados para la captura de los ejemplares, Laguna de Sinamaica y Nazaret, no cumplieron con la calidad microbiológica para aguas tipo 3 para el cultivo de moluscos bivalvos, la cual admite un NMP CT 100 MI⁻¹ de hasta 70 y un promedio mensual no mayor a 200 [7]. Por otra parte, basado en la normativa de Estados Unidos, de acuerdo al Programa de Saneamiento Nacional para Moluscos (NSSP, por sus siglas en inglés) y la Conferencia de Saneamiento entre Estados para Moluscos (ISSC, por sus siglas en inglés), estas aguas son clasificadas como de uso restringido, lo cual permite sólo la recolección de almejas para ser depuradas [4]. Igualmente, basados en los valores de coliformes detectados en los ejemplares capturados en los sitios estudiados (almeja inicial transportada en hielo, AL I), estas zonas se consideran tipo B (moderadamente poluta) según la Comunidad Económica Europea (CEE), siendo este tipo de zona permitida para la recolección de moluscos que posteriormente van a ser depurados [6] (TABLA I).

A pesar que los valores de CT, AM y EN, en muestras de almejas fueron menores a los microorganismos indicadores en las muestras de agua analizadas directamente del medio ambiente (AL I) como en aquellas provenientes de las bandejas transportadas al laboratorio, en agua proveniente del ambiente de recolección (AL 0) (FIG. 2), no se presentaron diferencias significativas (Kruskal Wallis, P=0,3649; 0,3121 y 0,8978, respectivamente). Este no fue el caso para los estreptococos fecales (SF) los cuales si fueron estadísticamente distintos (Kruskal Wallis, P=0,0175), siendo mayores en el agua. Estudios previos han mostrado la capacidad de los moluscos bivalvos de concentrar microorganismos [12]. Esto es particularmente importante, ya que la normativa venezolana sólo contempla el agua al momento de evaluar la calidad microbiológica

TABLA I

VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS DE COLIFORMES EN MUESTRAS DE AGUA Y ALMEJA *P. solida* COLECTADAS EN EL SISTEMA LAGO DE MARACAIBO / MINIMUM AND MAXIMUM VALUES OF COLIFORMS IN WATER AND SHELLFISH *P. solida* COLLECTED AT LAKE MARACAIBO SYSTEM.

	min	max	min	max
Agua	340	2800	220	340
AL(I)	340	30000	110	9000
AL(O)	260	3500	111	900

CT: coliformes totales (NMP-100 g o mL), CF: coliformes fecales (NMP 100 mL o g, AL(I): almeja transportada en hielo, AL(O) almeja transportada en agua del sitio, tiempo 0.

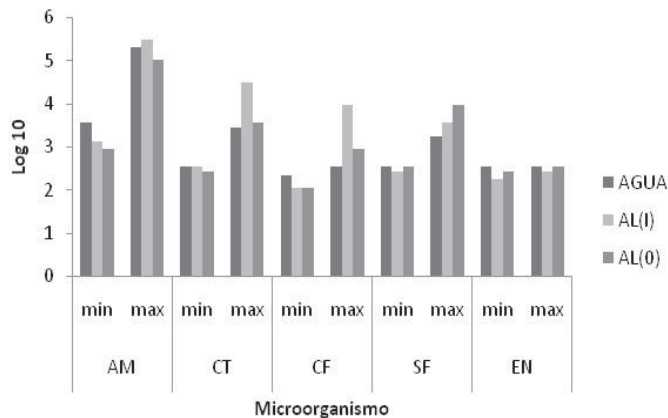


FIGURA 2. VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS DE INDICADORES BACTERIOLÓGICOS EN MUESTRAS DE AGUA Y ALMEJAS. AM: AEROBIOS MESÓFILOS, CT: COLIFORMES TOTALES, CF: COLIFORMES FECALES, SF: ESTREPTOCOCOS FECALES Y EN: ENTEROCOCOS, AL(I) ALMEJA TRANSPORTADA EN HIELO, AL (0): ALMEJA TRANSPORTADA EN AGUA DEL SITIO, TIEMPO 0. / MINIMUM AND MAXIMUM VALUES OF BACTERIAL INDICATORS IN WATER AND SHELLFISH SAMPLES. AM: MESOPHILIC AEROBIC BATERIA, CT: TOTAL COLIFORM, CF: FECAL COLIFORM, SF: FECAL STREPTOCOCCI, AND EN: ENTEROCOCCI, AL(I) ICED TRANSPORTED CLAMS, AL (0): WATER TRANSPORTED CLAMS, TIME 0.

ca de los ambientes donde se desarrollan las almejas, sin tomar en consideración la calidad del producto.

En lo que respecta a los ensayos de depuración, los valores de CT, al inicio del proceso de depuración se encontraron entre 260 y 3500 NMP 100 g⁻¹ estando los más elevados en la zona de Nazaret. El valor mínimo después de la depuración fue de 19 NMP 100 g⁻¹.

En el caso de los CF los valores oscilaron entre 111 y 900 NMP 100 g⁻¹, lográndose una reducción de hasta 16 a 107 NMP CF 100 g⁻¹, durante el proceso. La CEE considera que valores menores a 300 CF 100 g⁻¹ de almeja la hace permisible para ser consumida [6]. Por otra parte, la administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) propone una media geométrica de 20 CF 100 g⁻¹ de almejas [25]. En relación a los estreptococos fecales, los valores iniciales estuvieron más elevados en comparación con el grupo de los coliformes (340-28000 NMP 100 g⁻¹), alcanzando valores mínimos de de hasta 57 NMP 100 g⁻¹, durante el proceso de depuración. Los enterococos se encontraron inicialmente entre 170 y 340 NMP 100 g⁻¹ reduciéndose hasta valores de 19 NMP 100 g⁻¹.

Los aerobios mesófilos se encontraron al inicio entre 700 y 100000 UFC 100 g⁻¹ de muestra, llegando a alcanzar valores de hasta 16 UFC 100 g⁻¹. La Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, por sus siglas en inglés), acepta la presencia de entre 5x10⁵ y 10⁶ UFC g⁻¹ [14,15].

Todos los valores de los microorganismos estudiados al final de la depuración fueron inferiores a los iniciales, siendo significativamente diferentes en el caso de los coliformes feca-

les, enterococos y estreptococos (P=0,0063; 0,0153 y 0,0001, respectivamente).

En el caso de los CT y SF se encontró una disminución marcada de los microorganismos a partir de las 3 h de depuración (FIG. 3) lo cual pudiese estar relacionado con el hecho de que estos grupos de microorganismos indicadores se encuentran de forma natural en el ambiente. Al contrario, los CF y EN presentaron una eliminación marcada en un tiempo superior a las 24 h, extensible hasta las 72 h.

Debido a que en Venezuela no se cuenta con una normativa relacionada con la calidad microbiológica de la almeja cruda apta para el consumo, se utilizó la normativa de otros países, tales como Estados Unidos y la Comunidad Económica Europea, según la cual son comercializadas y consumidas cuando los niveles son menores de 230 CF en 100 g [6, 18, 25].

En el caso de las almejas depuradas se esperaba que al final de las 48 h el conteo fuese < 230 CF 100 g⁻¹ [17], valores que fueron alcanzados en los cuatro ensayos de depuración realizados.

Los promedios de los valores de los microorganismos estudiados presentaron una disminución de al menos el 70% (T70) entre las 3h y 48 h (FIG. 4). Sólo los SF alcanzan un 90% de reducción a las 72 h.

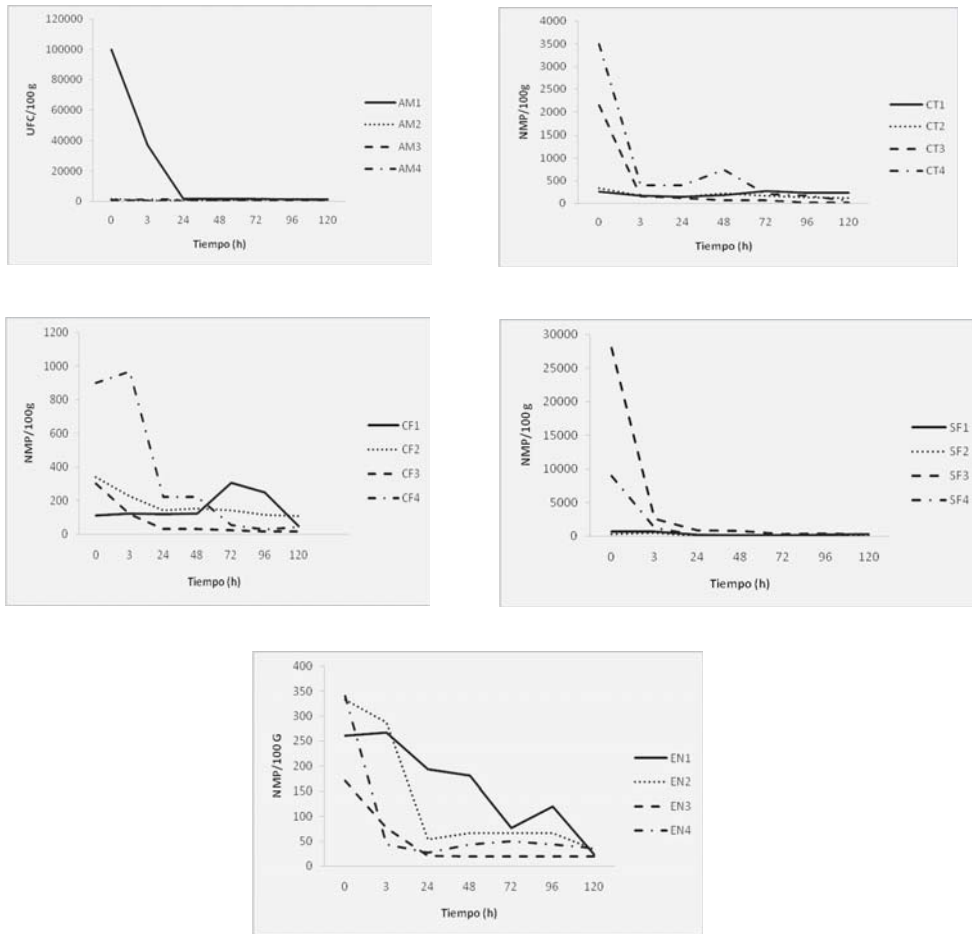
En relación al contenido inorgánico total (CIT), el cual refleja la cantidad de arena presente en la almeja, se observó una disminución a partir de las 3 h, haciéndose marcada a las 48 h (FIG. 5). Los valores de CIT se redujeron de 0,12 g a 0,04 g al inicio, hasta 0,008 g durante el proceso de depuración. Existen pocos reportes relacionados con las tasas de eliminación de arena en moluscos y especies relacionadas, sin embargo, existe información donde se menciona que los moluscos bivalvos son capaces de eliminar arena al colocarlos en agua limpia [16]. Estos resultados corroboran la efectividad de un corto y barato proceso de depuración en remoción de la arena en las almejas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados, en general, muestran una reducción sustancial, tanto microbiológica como física, en la almeja *Polymesoda solida*, en las condiciones de depuración estudiadas.

El presente estudio, pionero en Venezuela para la almeja *P. solida*, permite aportar valiosa información, tanto para la reglamentación del consumo de moluscos bivalvos como su posible uso en acuicultura.

Es importante señalar la necesidad de desarrollar una normativa para la evaluación de la calidad de las almejas al momento de ser consumidas, lo cual reduciría el riesgo de salud pública que tiene el consumo de las mismas. Sin una clasificación apropiada de las aguas ni de los momentos de cosecha, ningún estándar en el mercado tendrá un efecto en la protección al consumidor.



AM: aerobios mesófilos, CT: coliformes totales, CF: coliformes fecales, SF: estreptococos fecales y EN: enterococos.

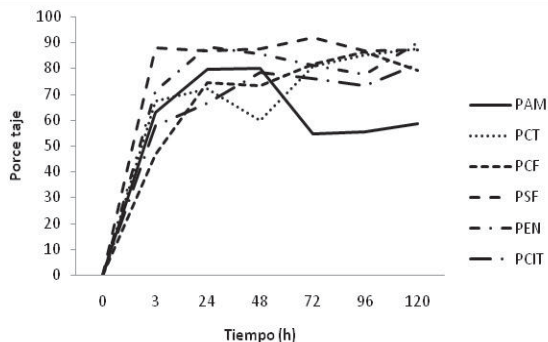
FIGURA 3. ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS INDICADORES EN *P. solida* DURANTE EN PROCESO DE DEPURACIÓN/ *P. solida* MICROORGANISM INDICATORS ELIMINATION DURING THE DEPURATION PROCESS.

AGRADECIMIENTO

Se agradece al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) por el financiamiento de este proyecto bajo el número CC-0389-06. A la Universidad del Zulia (LUZ) sede de los laboratorios donde se desarrolló el proceso de depuración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". 19 th Ed. Washington, USA. APHA, AWWA, WPCF. Inc., 1325 pp. 1998.
- [2] BOTERO, L.; MONTIEL, M.; PORTO, L. Recovery of enteroviruses from water and sediments of Lake Maracaibo, Venezuela. *J. Environ. Sci. Health*. A27: 2213-2226. 1992.



AM: aerobios mesófilos, CT: coliformes totales, CF: coliformes fecales; SF: estreptococos fecales, EN: enterococos, CIT: carbono inorgánico total.

FIGURA 4. PORCENTAJE DE DEPURACIÓN BACTERIOLÓGICA Y FÍSICA DE LA ALMEJA *P. solida* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO / *P. solida* SHELLFISH BACTERIAL AND PHYSICAL DEPURATION PERCENTAJE UNDER LABORATORY CONDITIONS.

- [3] BOTERO, L. Informe Técnico Final. Proyecto FONACIT S-I 20002000375. Venezuela. 107 pp. 2007.
- [4] BURKHARDTIII, W.; CALCI, K.; WATKINS, W.; SCOTT, R.; STUART, J. Inactivation of indicator microorganisms in estuarine waters. **Water Res.** 34: 2207-2214. 2000.
- [5] DESENCLOS, J.C. A.; KLONTZ, K.C.; WILDER, M. H.; NAINAN, O. V.; MARGOLIS, H. S.; GUNN, R. A. A multistate outbreak of hepatitis A caused by the consumption of raw oysters. **Am. J. Public Health.** 81: 1268-1272. 1991.
- [6] EUROPEAN COMMUNITY. COUNCIL DIRECTIVE 91/492/EEC Laying down the Elath conditions for the production and the placing on the market of fishery products. Off. **J. Europ. Comm.** 34:15-34. 1991.
- [7] GACETA OFICIAL DE LA REPÚBLICA DE VENEZUELA No. 36.429. 303-927 pp. 1998.
- [8] GARCÍA Y. Biología y ecología de *Polymesoda arctata*, almeja presente en el Lago de Maracaibo. Universidad del Zulia, Maracaibo (Venezuela), Trabajo Especial de Grado. 105 pp. 1984.
- [9] GARCÍA, Y.; SEVEREYN, H.; EWALD, J. Early development of the estuarine mollusk *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (Bivalvia:Corbiculidae) in Lake Maracaibo, Venezuela. **Am. Malacol. Bull.** 11: 51-56. 1994.
- [10] GARCÍA, Y.; SEVEREYN, H.; EWALD, J.; MORALES, F. Efectos de parámetros ambientales y la talla inicial sobre el crecimiento de la almeja comercial *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) (*bivalvia: corbiculidae*) en condiciones naturales. **Rev. Fac. Agron. LUZ.** 13: 341-356. 1996.
- [11] HALLIDAY, M.L.; KANG, L.Y.; ZHOU, T.K.; HU, M.D.; PAN, Q.C.; FU, T.Y.; HUANG, Y.S.; HU, S.L. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. **J. Infect. Dis.** 164: 852-859. 1991.
- [12] HO, B.; TAM, T. Natural depuration of shellfish for human consumption: a note of caution. **Wat. Res.** 34: 1401-1406. 2000.
- [13] JACKSON K.L.; OGBURN, D.M. Review of Depuration and its Role in Shellfish Quality Assurance. Final report to Fisheries Research and Development Corporation. 1999. Project Number 96/355 On Line: <http://www.dpi.Nsw.gov.au/research/areas/production-research/aquaculture/outputs/1999/depuration-shellfish>. 15 de enero del 2008.
- [14] JONES, T.; PAVLIN, B.I.; LaFLEUR, B.J.; INGRAM, A.; SCHAFFNER, L. Restaurant Inspection Scores and Foodborne Disease. **Emerg. Infect. Dis.** 10: 688-692. 2004.
- [15] KOHN, M.A.; FARLEY, T.A.; ANDO, T.; CURTIS, M.; WILSON, S.A.; JIN, Q.L.; MONROE, R.; BARON, C.; MCFARLAND, M.; GLASS, R. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with eating raw oysters. Implications for maintaining safe oyster beds. **JAMA** 273:466-471, 1995.
- [16] LEUNG, K.; LUI, K. Sand elimination by the Asiatic hard clam *Meretrix meretrix* (L): influences of temperature, salinity and season. **J. Shellfish Res.** 23: 443-447. 2004.
- [17] MASSACHUSETTS OFFICE OF COASTAL ZONA MANAGEMENT. Massachusetts aquaculture white paper-support systems. 1995. On Line: <http://www.mass.gov/czm/wpsprr.htm>. 30 de enero 2008.
- [18] MESQUITA, M.; EVISON, M.L.; WEST, P.A. Removal of fecal indicator bacteria and bacteriophages from the common mussel (*Mytilus edulis*) under artificial depuration conditions. **J. Appl. Bact.** 70: 495-501. 1991.
- [19] MUÑOZ, J.C. Tasa de Filtración a diferentes salinidades y temperaturas del molusco bivalvo *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) presente en el Lago de Maracaibo. Universidad del Zulia, Maracaibo (Venezuela). Trabajo Especial de Grado. 63 pp. 2002.
- [20] POMMEPUY, M.; DUMANS, F.; CAPRAIS, M.P.; CAMUS, P.; LEMENNEC, C.; PRNAUDEAU, S.; HAUGARREAU, L.; SARRETTE, B.; VILAGINES, P.; POTHIER, P.; KHOLI, E.; LEGUYADER, F. Sewage impact on shellfish microbial contamination. **Water Sci. Technol.** 50: 117-124. 2004.
- [21] SARCOS, M.; BOTERO, L. Calidad microbiológica de la almeja *Polymesoda solida* recolectada en playas del Municipio Miranda del estado Zulia. **Ciencia.** 13: 34-43. 2005.
- [22] SEVEREYN, H.; EWALD, J.; GARCÍA DE S.Y.; RODRÍGUEZ, R.; MORALES, F. Estudio de las estrategias reproductivas y adaptativas de la almeja *Polymesoda arctata* en el Lago de Maracaibo. Informe Final, Proyecto de Investigación CONDES- FEC, Universidad del Zulia, Maracaibo. 21 pp. 1986.
- [23] SOKAL, R.R; ROHLF, F.J. Biometry. 3er Ed., W.H. Freeman and Company, New York, USA., 887 pp. 1995.
- [24] US. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) II. Bacteriological analytical manual. 2001. On Line: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>. 30 de enero 2008.
- [25] US. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) II. National Shellfish Sanitation Program Guide for the Control of Molluscan Shellfish. Model Ordinance XV Depuration 2005. On Line: <http://www.cfsan.fda.gov/~ear/nss3or15.html>. 417 pp. 30 de enero 2008.