

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
PESQUERA



**Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los
centros de acopio de la región Tumbes 2022**

TESIS

Para optar el título profesional de Ingeniera Industrial Pesquera

Autora: Br. Nicole Alessandra Vergara Alfaro

Tumbes, 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
PESQUERA



**Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los
centros de acopio de la región Tumbes 2022**

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dra. Eneida Graciela Vieyra Peña

Presidente

Mg. John Estuardo Ramayoni Sandoval

Secretario

Mg. Jorge Humberto Carrasco Casariego

Vocal

Tumbes, 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
PESQUERA



**Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los
centros de acopio de la región Tumbes 2022**

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y
forma:

Br. Nicole Alessandra Vergara Alfaro

EJECUTOR

Dra. Tessy Peralta Ortiz

ASESORA

Dr. Alberto Ordinola Zapata

COASESOR

Tumbes, 2023

ACTA DE SUSTENTACION



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
VICERRECTORADO ACADEMICO
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y CIENCIAS DEL MAR

“Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo”

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los doce días del mes mayo del dos mil veintitrés, siendo las ocho horas, en la modalidad virtual, a través de la plataforma Google meet, cuyo link es <https://meet.google.com/cbi-pbsf-ayu>, se reunieron el Jurado Calificador de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes, designado por Resolución N° 076-2022/UNTUMBES-FIPC-CF, Dra. ENEDIA GRACIELA VIEYRA PEÑA (Presidenta), Mg. JOHN ESTUARDO SANDOVAL RAMAYONI (Secretario) y Mg. JORGE HUMBERTO CARRASCO CASARIEGO (Vocal), reconociendo en la misma resolución a la Dra. Tessa Peralta Ortiz como asesora (CODIGO ORCID N° 0000-0001-5907-7713) y Dr. Alberto Ordinola Zapata como Co-Asesor (CODIGO ORCID N° 0000-0002-9644-0531), luego de la presentación, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, titulada: “Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los centros de acopio de la región Tumbes 2022”, para optar el Título Profesional de INGENIERIA INDUSTRIAL PESQUERA, presentado por la:

Br. NICOLE ALESSANDRA VERGARA ALFARO

Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte de la sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 65 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a la Bachiller NICOLE ALESSANDRA VERGARA ALFARO, APROBADA, con calificativo:

EXCELENTE

Se hace conocer a la sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el Jurado le indica.

En consecuencia, queda APTA para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniera Industrial Pesquera, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las OCHO horas y CINCUENTA Y CINCO minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica en forma virtual, procediendo a firmar el acta de sustentación.

Dra. ENEDIA G. VIEYRA PEÑA
CODIGO ORCID N° 0000-0001-8541-7075
DNI. N° 00217076
Presidenta

Tumbes, 12 de mayo del 2023

Mg. JOHN E. SANDOVAL RAMAYONI
CODIGO DE ORCID N° 0000-0002-9928-5805
DNI. N° 07343332
Secretario

Mg. JORGE H. CARRASCO CASARIEGO
CODIGO ORCID N° 0000-0001-8584-2028
DNI. N° 00241031
Vocal

c.c.:

- Jurado (03)
- Asesora: Dra. T. Peralta O. - Co-Asesor: Dr. A. Ordinola Z.
- Interesada
- Archivo Decanato.

Los Ceibos S/N. Puerto Pizarro. Tumbes – Perú

INFORME RESUMIDO DE TURNITIN

2023.05.15. Tesis de Nicole Alessandra Vergara Alfaro

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%	12%	5%	%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	6%
2	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	1%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	www.met.igp.gob.pe Fuente de Internet	1%
5	1library.co Fuente de Internet	1%
6	erp.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	revistas.uees.edu.ec Fuente de Internet	<1%
8	repository.uaeh.edu.mx Fuente de Internet	<1%
9	www.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	<1%



10	lume.ufrgs.br Fuente de Internet	<1 %
11	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
12	eprints.soton.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
13	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	<1 %
14	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.untumbes.edu.pe:8080 Fuente de Internet	<1 %
16	rinacional.tecnm.mx Fuente de Internet	<1 %
17	www.vliz.be Fuente de Internet	<1 %
18	rost43.ru Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 15 words

DEDICATORIA

Este informe va dedicado especialmente a Dios; por haberme dado la vida, y por proporcionarme las fuerzas necesarias para seguir adelante en mi vida profesional.

A mis padres y hermanas que siempre me brindaron su apoyo.

A mi tío Hugo Alfaro, que desde el primer momento creyó en mí dándome su apoyo incondicional para seguir adelante, así mismo a mis abuelas y padrinos, quienes siempre están conmigo dándome consejos y motivándome a progresar.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora, Dra. Tessy Peralta Ortiz por brindarme la oportunidad de apoyarme en mi tesis además de su permanente apoyo y sus consejos, al Dr. Alberto Ordinola Zapata quien además de ser mi coasesor, es un gran maestro, un gran amigo gracias por sus grandes enseñanzas y por su apoyo incondicional en mi proyecto de tesis.

A la Dra. Eneida Graciela Vieyra Peña por ser una gran maestra, una gran amiga, una mujer de inspiración, por apoyarme y guiarme en toda mi carrera profesional.

Al Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni, por ser un gran maestro un gran amigo, gracias por sus valiosas enseñanzas, por su apoyo incondicional y sus consejos durante mi carrera profesional.

Al Mg. Jorge Humberto Carrasco Casariego, por sus enseñanzas y valiosas observaciones y recomendaciones.

Al Ing. Wagner Paúl Campaña Maza, Ing. Robert Peralta Otero, Ing. Yeni Seminario Yamunaqué, e Ing. Erick Suárez, por apoyarme durante el proceso de la ejecución de mi tesis.

Al Laboratorista Peter Paúl Baca, un gran amigo; gracias por apoyarme durante la ejecución de mi proyecto de tesis y por sus valiosas enseñanzas.

A todos los docentes de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes, por su gran esfuerzo para lograr que cada uno de nosotros, sus estudiantes, estemos lo mejor preparados para afrontar el mundo laboral.

ÍNDICE

	Pág.
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	15
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	17
2.1. Bivalvos.....	17
2.2. <i>Anadara tuberculosa</i>	17
2.3. Comercialización de <i>A. tuberculosa</i>	18
2.4. Contaminación de alimentos.....	18
2.5. Coliformes fecales.....	19
2.6. <i>Escherichia coli</i>	19
2.7. Indicadores microbiológicos en bivalvos.....	20
2.8. Investigaciones relacionadas.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Obtención de <i>Anadara tuberculosa</i>	23
3.2. Limpieza de <i>A. tuberculosa</i>	23
3.3. Registro de peso y longitud valvar.....	24
3.4. Desvalvado y extracción de tejidos de <i>Anadara tuberculosa</i>	25
3.5. Preparación de solución Butterfield.....	25
3.6. Homogenización y obtención de diluciones.....	25
3.7. Prueba presuntiva y confirmativa de coliformes totales.....	26
3.8. Prueba confirmativa de coliformes fecales.....	27
3.9. Prueba de <i>E. coli</i>	28
3.10. Siembra en medio de cultivo MacConkey.....	28
3.11. Características morfológicas de las colonias en agar MacConkey.....	28
3.12. Purificación de cepas bacterianas en medio TSA.....	29
3.13. Tinción de Gram.....	29
3.14. Extracción de ADN de las cepas bacterianas.....	30
3.15. Amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr de las cepas bacterianas.....	30
3.16. Confirmación de la amplificación del fragmento del gen 16S ARNr.....	31
3.17. Secuenciamiento.....	31

3.18. Depuración de las secuencias.....	31
3.19. Procesamiento y análisis de datos	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Peso y longitud valvar de <i>Anadara tuberculosa</i>	33
4.2. Nivel de coliformes totales.....	34
4.3. Nivel de coliformes fecales.....	35
4.4. Nivel de <i>Escherichia coli</i>	36
4.5. Identificación de cepas de coliformes fecales	36
V. CONCLUSIONES	38
VI. RECOMENDACIONES	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Límites máximos permisibles para <i>Escherichia coli</i> en bivalvos según clasificación del área de explotación	20
Tabla 2. Volumen de reactivos para preparar el <i>mix</i> necesario para la reacción de la PCR.....	30
Tabla 3. Programación del termociclador	31
Tabla 4. Peso y longitud valvar (Media \pm DE) de <i>Anadara tuberculosa</i> adquiridas según centro de acopio.....	33
Tabla 5. Recuento de coliformes totales por centro de acopio y muestreo	34
Tabla 6. Recuento de coliformes fecales en <i>Anadara tuberculosa</i> por centro de acopio y muestreo.	35
Tabla 7. Recuento de <i>Escherichia coli</i> en <i>Anadara tuberculosa</i> por centro de acopio y muestreo	36
Tabla 8. Morfología de las colonias e identificación molecular de cepas de coliformes fecales aisladas de <i>A. tuberculosa</i>	37
Tabla 9. Tabla para determinar el número más probable (NMP/g) usando tres diluciones.....	46
Tabla 10. Caracterización de colonias de coliformes aisladas de <i>Anadara tuberculosa</i> obtenidas de exteriores del Coliseo Tumpis	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplares de <i>Anadara tuberculosa</i> adquiridos en los centros de acopio.....	23
Figura 2. Limpieza de ejemplares de <i>Anadara tuberculosa</i>	24
Figura 3. Registro biométrico.....	24
Figura 4. Solución <i>stock</i> Butterfield	25
Figura 5. Procesamiento de los tejidos de <i>A. tuberculosa</i>	26
Figura 6. Preparación de diluciones y prueba presuntiva de coliformes totales.....	27
Figura 7. Prueba para coliformes fecales	27
Figura 8. Crecimiento de colonias de coliformes en medios sólidos	28
Figura 9. Colonias puras creciendo en medio TSA	29
Figura 10. Observación microscópica (1000 X) de bacterias coliformes teñidas con tinción de Gram.....	29

Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los centros de acopio de la región Tumbes 2022.

Br. Nicole Alessandra Vergara Alfaro¹

Dra. Tessy Peralta Ortiz²

Dr. Alberto Ordinola Zapata³

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la concentración de coliformes fecales en concha negra (*Anadara tuberculosa*) comercializadas en los dos principales centros de acopio de Tumbes: Mercado Modelo de Tumbes y exteriores del Coliseo Tumpis en el año 2022. Se adquirieron 116 ejemplares de concha negra en las que se determinó los niveles de coliformes totales, fecales y de *Escherichia coli* mediante el método del número más probable (NMP) siguiendo el protocolo de Sanipes; los niveles de coliformes fecales y de *E. coli* se compararon con los límites máximos permisibles (LMP) establecidos en la normatividad nacional e internacional; mientras que los niveles de coliformes totales se compararon con los de otras investigaciones. Adicionalmente se caracterizaron las colonias bacterianas y se identificó la especie de 10 de las cepas de coliformes fecales. El 75% de los ejemplares de *A. tuberculosa* tuvieron niveles de coliformes fecales mayores a 70 NMP/100 g, superando el LMP establecido por la FDA para coliformes fecales; los niveles de coliformes totales estuvieron en el rango de 110 NPM/100 g a 940 NMP/100 g, siendo inferiores a los reportados en investigaciones similares, mientras que los niveles de *E. coli* fueron inferiores al LMP establecido en la normatividad nacional e internacional (FDA y Comisión Europea) que es de 230 NMP/100 g. Se determinó también que las cepas de coliformes fecales correspondieron a *Escherichia coli*, *Enterobacter hormaechei*, *Shigella flexneri* y *Klebsiella variicola*; concluyéndose que de acuerdo a la normatividad nacional (establecida en base al conteo de *E. coli*), las conchas tuvieron una calidad microbiológica equivalente a las de una zona tipo A (aprobada para explotación); aunque es preocupante que 75% de ellas tuvieron niveles de coliformes fecales superiores al LMP de la FDA.

Palabras clave: Coliformes termotolerantes, bivalvo, enterobacterias, contaminación fecal, contaminación microbiológica, canal de marea.

¹ Estudiante de la Escuela de Ingeniería Industrial Pesquera de la Universidad Nacional de Tumbes

² Profesora Principal de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes

³ Profesor Principal de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes

Tesis presentada para obtener el título profesional de Ingeniero Industrial Pesquero
Universidad Nacional de Tumbes

Facultad de Ingeniería Pesquera y ciencias del mar
Escuela Académica Profesional de Ingeniería Industrial Pesquera

Calle Los Ceibos S/N Puerto Pizarro, Tumbes, Perú

e-mail: vergaraalfaronicole20@gmail.com

2023

Fecal coliforms in *Anadara tuberculosa* marketed in the collection centers of the Tumbes region 2022.

Br. Nicole Alessandra Vergara Alfaro¹

Dra. Tessy Peralta Ortiz²

Dr. Alberto Ordinola Zapata³

ABSTRACT

The aim of this investigation was to determine the concentration of fecal coliforms in pustulose ark (*Anadara tuberculosa*) marketed in the two main collection centers of Tumbes: Mercado Modelo de Tumbes and exteriors of the Tumpis Coliseum in 2022. 116 specimens of pustulose arks were acquired, of these the levels of total and fecal coliforms besides *Escherichia coli* was determined by the most probable number method (MPN) following the Sanipes protocol; the levels of fecal coliforms and *E. coli* were compared with the maximum permissible limits (MPL) established in national and international regulations; while the levels of total coliforms were compared with those of other researches. Additionally, the bacterial colonies were characterized and the species of 10 of the fecal coliform strains was identified. 75% of the *A. tuberculosa* specimens had fecal coliform levels greater than 70 MPN/100 g, exceeding the MPL established by the FDA for fecal coliforms; total coliform levels were in the range of 110 NPM/100 g to 940 NMP/100 g, being lower than those reported in similar researches, while *E. coli* levels were lower than the MPL established in national and international regulations (FDA and European Commission) which is 230 NMP/100 g. It was also determined that the fecal coliform strains corresponded to *Escherichia coli*, *Enterobacter hormaechei*, *Shigella flexneri* and *Klebsiella variicola*; concluding that according to current national regulations (established based on the *E. coli* count), the cockles have a microbiological quality equivalent to those of a type A zone (approved for exploitation); however, it is worrisome that 75% of pustulose arks have fecal coliform levels higher than the FDA MPL.

Keywords: Thermotolerant coliforms, bivalve, enterobacteria, fecal pollution, Microbial pollution, tidal channel.

¹ Student of the Industrial Fisheries Engineering School of the National University of Tumbes

² Principal Professor of the Fisheries Engineering and Marine Sciences Faculty of the National University of Tumbes

Thesis presented to obtain the professional title of Industrial Fisheries Engineer

National University of Tumbes

Fisheries Engineering and Marine Sciences Faculty

Industrial Fisheries Engineering School

Los Ceibos S/N Street, Puerto Pizarro, Tumbes, Peru

e-mail: vergaraalfaronicole20@gmail.com

2023

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua es un asunto de mucha preocupación en el mundo, el cual es aún mayor en el caso de países en vías de desarrollo, en los cuales la carencia de regulaciones sobre la disposición de contaminantes o la falta de cumplimiento de las mismas hace que la contaminación sea aún mayor (Troya, 2021).

Entre las fuentes de contaminación que afectan a los cuerpos de agua, entre ellos a los manglares, se encuentran las producidas por actividades antrópicas tales como evacuación de aguas residuales urbanas e industriales y de efluentes de la agricultura y la acuicultura; estos contaminantes afectan a los recursos hidrobiológicos en dichos ecosistemas (Morán & Hidalgo, 2018).

Uno de los contaminantes más problemáticos en los cuerpos acuáticos es el microbiológico que ha sido responsabilizado por el 90% de las infecciones diarreicas e intestinales (Troya, 2021). Estos contaminantes pueden llegar al ser humano por el consumo de organismos acuáticos, en especial de bivalvos (Sorroza et al., 2018).

FAO (2018), reporta que en el año 2016 se utilizó cerca del 88% de la producción pesquera mundial para el consumo humano directo, y se produjo un incremento del consumo de mariscos *per cápita* que pasó de 18,0 kg a 20,3 kg.

Entre los mariscos más consumidos en el mundo se encuentran los bivalvos (Martínez & Villalobos, 2005), éstos son muy nutritivos debido a su alto contenido de proteínas (48% en peso seco), así como de lípidos (8,2% en peso seco) (Farías, 2008).

Los bivalvos se caracterizan por capturar el alimento a través de filtración lo que incrementa su potencial de concentrar microorganismos patógenos que pueden transferir al consumidor, entre bacterias tales como *Escherichia coli*, *Vibrio* spp., *Listeria* spp. y coliformes fecales, y causar enfermedades gastrointestinales (Márquez, 2017; Vásquez & Cabral, 2001).

La concha negra (*Anadara tuberculosa*) es un bivalvo típico del manglar, y es el más comercializado en la región Tumbes, contando también con una buena demanda a nivel nacional (Mendoza & Peralta, 2007); en algunas investigaciones se ha observado que puede acumular bacterias patógenas como *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *E. coli* y

coliformes, en particular, las investigaciones de Barrozo & Cruz (2021), Carreño (2019), Delgado (2018) e Hidalgo (2019) han encontrado que sus concentraciones de coliformes son altas y en algunos casos pueden sobrepasar los límites máximos permisibles, siendo consideradas en dichos casos como no aptas para el consumo humano.

En el Perú el Organismo Nacional de Sanidad Pesquera (Sanipes) ha implementado políticas sanitarias para la comercialización de recursos hidrobiológicos aptos para el consumo humano, para lograr la seguridad alimentaria con productos inocuos (Sanipes, 2012).

La comercialización de recursos hidrobiológicos en el Perú se realiza principalmente en terminales pesqueros, mercados y centros de acopio donde el producto se expende en forma fresca. En el caso de la concha negra, su comercialización en la región Tumbes se da principalmente en el Mercado Modelo de Tumbes y en el frontis del Coliseo Tumpis (Prado-Carpio et al., 2020).

La inocuidad de un producto debe garantizar que el alimento esté libre de patógenos como virus, parásitos y bacterias, entre estas últimas algunas de las más importantes son los coliformes fecales (Hidalgo, 2019). Este grupo está conformado por bacterias de los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Jiménez, 2021); éstas son consideradas como indicadoras de contaminación fecal (González & Solano, 2019); adicionalmente ciertas cepas de *E. coli* tales como la O157:H7 son particularmente muy patógenas y constituyen un serio riesgo en los alimentos cuando éstos se consumen crudos o poco cocidos como ocurre con la concha negra (Larrea-Murrell et al., 2013).

Por lo anteriormente indicado se entiende que es importante evaluar la inocuidad de las conchas negras (*A. tuberculosa*) comercializadas en la región Tumbes, evaluando la misma a través de su concentración de coliformes fecales.

La presente investigación tuvo como objetivo:

Determinar la concentración de coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializadas en los dos principales centros de acopio de Tumbes (Mercado Modelo de Tumbes y exteriores del Coliseo Tumpis) en el año 2022.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Bivalvos

Los bivalvos o pelecípodos son la clase con el segundo mayor número de especies dentro del phylum Mollusca, con 8000 a 20 000 de ellas. Más del 80% de sus especies son marinas, las restantes son dulceacuícolas; los bivalvos tienen diversos tamaños que van desde cerca de 1,2 m de longitud valvar en la almeja gigante *Tridacna gigas* a menos de 1 mm en *Chlamydoconcha orcutti* (Morton & Machado, 2019)

Los bivalvos presentan simetría bilateral, se caracterizan por un pie musculoso y un manto; también poseen su cuerpo cubierto por dos valvas, de allí el nombre de bivalvos. Respecto a su alimentación, usan sus branquias no sólo para la respiración sino también para filtrar las partículas en suspensión que son su alimento (Chalen, 2021); esta forma de alimentación por filtración incrementa su capacidad de concentrar microorganismos tales como virus y bacterias (Márquez, 2017; Vásquez & Cabral, 2001).

Los bivalvos son uno de los recursos hidrobiológicos con mayor valor comercial, según FAO (2022), en 2020 el comercio mundial de bivalvos representó 4300 millones de dólares; los principales grupos comercializados son las vieiras, ostras, mejillones y almejas, siendo estas últimas bivalvos que viven enterrados en el sedimento; la almeja que mayor importancia económica tiene en la región Tumbes es la concha negra (*Anadara tuberculosa*), la cual también es comercializada a nivel nacional (Ordinola et al., 2020)

2.2. *Anadara tuberculosa*

Anadara tuberculosa es el bivalvo de mayor comercialización en la región Tumbes, tiene una gran demanda a nivel regional y nacional; representando una importante actividad económica dentro de la pesquería artesanal. Este bivalvo tiene como hábitat el ecosistema del manglar del Pacífico Americano; y en el Perú se encuentra solo en la región Tumbes, distribuyéndose desde Boca de Capones en la provincia de Zarumilla hasta Punta de Mal Pelo en la provincia de Tumbes (Mendoza & Peralta, 2007).

La concha negra (*A. tuberculosa*) comparte su hábitat con una concha de morfología muy similar, la concha huequera (*A. similis*). *A. tuberculosa* posee

valvas gruesas con 33 a 37 costillas, las cuales tienen nódulos o tubérculos. Su margen dorsal es angulado, tiene un periostraco café oscuro con cerdas, su umbo está a menudo erosionado mostrando un color blanco (Hidalgo, 2019; Ordinola et al., 2019).

Anadara tuberculosa habita entre las raíces de mangle, no estando presentes en zonas sin mangle, vive enterrada a profundidades de 10 a 30 cm (Ordinola et al., 2019); en Tumbes se ha reportado que las principales zonas de extracción de este bivalvo son el Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, El Bendito y Corrales (Ordinola et al., 2019; Ordinola et al., 2007).

2.3. Comercialización de *A. tuberculosa*

La concha negra por lo general es comercializada viva, el extractor vende el recurso en las afueras de las asociaciones de extractores al culminar su faena, siendo expandida de forma directa; en otras ocasiones se entregan a restaurantes, centros de acopio, mercados locales y nacionales. *Anadara tuberculosa* no es procesada industrialmente en la región, solo se le da valor agregado al prepararla en platos típicos (Azabache, 2016).

En Tumbes, el principal centro de acopio y comercialización está en los exteriores del Coliseo Tumpis en la ciudad de Tumbes, otros centros de comercialización importantes son el Mercado Modelo de Tumbes así como los mercados de las ciudades de Zarumilla y Corrales (Ordinola et al., 2019).

2.4. Contaminación de alimentos

El consumo de alimentos contaminados representa un problema de salud pública, presentándose cada año, miles de personas que fallecen por problemas de infecciones e intoxicaciones por brotes transmitidos por patógenos en alimentos, siendo el brote de *Escherichia coli* ocurrido en Alemania el 2011 el que ha generado una mayor alerta en todo el mundo (Yeni et al., 2016).

La causa principal de las intoxicaciones alimentarias es la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos patógenos tales como virus y bacterias, entre estas últimas se encuentran: *Escherichia coli*, *Vibrio* spp., *Listeria* spp. y coliformes fecales que pueden originar enfermedades gastrointestinales (Delgado, 2018; Márquez, 2017; Vásquez & Cabral, 2001).

Los bivalvos tienen una alta probabilidad de portar patógenos, debido a que viven en lugares que pueden estar contaminados por aguas residuales, efluentes de la agricultura y la acuicultura; o porque pueden contaminarse cuando son manipulados en los centros de acopios constituyendo una amenaza a la salud, más aún en el caso de la concha negra que habitualmente se consume poco cocida o cruda (Marañón et al., 2013; Morán & Hidalgo, 2018).

2.5. Coliformes fecales

Los coliformes fecales abarcan cepas bacterianas Gram negativas que son comunes en el tracto intestinal de mamíferos y aves, la mayoría son no patógenas y pertenecen a los géneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella*; se caracterizan por ser anaerobios facultativos, generalmente tienen forma bacilar aunque algunas pueden tener forma de cocos o cocobacilos; crecen a temperaturas entre 35 a 44,5 °C fermentando la lactosa con producción de gas a las 48 h. Dentro de la familia Enterobacteriaceae existen más de 30 géneros siendo *E. coli* la especie representativa (Beltran & Galvez, 2022; Mishra et al., 2018; OPS, 2015).

2.6. *Escherichia coli*

Escherichia coli es una especie bacteriana cuya presencia habitualmente indica contaminación fecal, pues tiene como hábitat el intestino humano, así que su presencia indicaría que existe alta posibilidad de que también estén presentes virus y bacterias patógenas intestinales como son el virus de la hepatitis, y bacterias que originan infecciones diarreicas agudas (Beltran & Galvez, 2022; Metz et al., 2020).

Escherichia coli es una bacteria anaerobia facultativa Gram negativa de forma bacilar con un tamaño aproximado de 0,5 a 2 µm; mientras que la mayoría de cepas de *E. coli* son inofensivas, algunas de ellas pueden ser extremadamente patógenas siendo capaces de causar enfermedades en los seres humanos e incluso la muerte. *Escherichia coli* es uno de los indicadores más importantes de contaminación fecal en alimentos, así como en ambientes marinos o de agua dulce (Albuquerque, 2013; Miotto et al., 2019); esta especie se diferencia de otros coliformes por su capacidad de producir indol a partir de triptófano, y por poseer la

enzima β -D-glucuronidasa que puede hidrolizar enlaces glucosídicos (Hidalgo, 2019).

El investigador Sharding propuso por primera vez en 1892 el uso de *E. coli* como indicador de contaminación fecal por ser fácilmente detectable, al ser capaz de fermentar la lactosa a temperaturas altas (44,5 a 45,5 °C). La legislación peruana ha establecido límites máximos permisibles para la presencia de *E. coli* en varios alimentos incluyendo los bivalvos (Sanipes, 2012).

2.7. Indicadores microbiológicos en bivalvos

Mediante la norma técnica sanitaria denominada Control Oficial de Zonas y Áreas de Producción Clasificadas de Moluscos Bivalvos Vivos, autorizada con el Decreto Supremo 007-2004-Produce, el Estado Peruano estableció que los bivalvos deben cumplir ciertas condiciones microbiológicas sanitarias y de inocuidad que aseguren que éstos sean aptos para el consumo humano (Produce, 2004); asimismo Sanipes (2012) ha establecido los límites máximos permisibles (LMP) para ciertos microorganismos tales como *Salmonella* spp., virus de la hepatitis A y *E. coli*, en el caso de los dos primeros deben estar ausentes en los alimentos, mientras que en el caso de *E. coli* los LMP se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Límites máximos permisibles para *Escherichia coli* en bivalvos según clasificación del área de explotación

Clasificación del área	Concentración de <i>E. coli</i> (NMP/100 g)
Tipo A (área aprobada)	230
Tipo B (área condicionalmente aprobada)	4 600
Tipo C (área prohibida)	46 000

2.8. Investigaciones relacionadas

Delgado (2018) investigó los niveles de coliformes totales y de *Escherichia coli* en *Anadara similis* y *Anadara tuberculosa*, recolectadas en Puerto El Morro en la provincia de Guayas en Ecuador. Para ello el autor realizó muestreos durante dos meses en los Esteros Caballito, Marcelita, Chalaco y Capón. Analizó 30 muestras correspondientes a los cuatro esteros, determinado que la concentración de *E.*

coli varió de 4×10^3 a 2×10^7 UFC/100 g, y para coliformes totales fue de 8×10^3 a 9×10^8 UFC/100 g, concluyendo que *A. similis* y *A. tuberculosa* no fueron aptas para el consumo humano directo por su elevada carga microbiológica.

Sosa (2006) realizó la determinación de coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* en cuatro zonas de la Bahía de Jiquilisco en El Salvador; utilizó muestras de tejido blando de ambas conchas en los cuales determinó el número más probable (NMP) utilizando la técnica de fermentación en caldo lauril sulfato. De cada uno de los tubos que resultaron positivos tomó una alícuota para ser inoculada en nuevos tubos con caldo *Escherichia coli* (EC). Los resultados mostraron que hubo entre 24 000 a 30 000 NMP/100 g en tres zonas de muestreo y alrededor de 800 NMP/100 g para otra zona de muestreo, por lo que concluyó que ambos bivalvos no fueron aptos para el consumo humano.

Hidalgo (2019) determinó la concentración de coliformes totales y de *Escherichia coli* en *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* en el Archipiélago de Jambelí en Ecuador. Obtuvo 240 conchas de cuatro puntos del manglar de las cuales sembró muestras en agar chromocult para luego realizar el conteo de colonias crecidas en el medio. Los resultados obtenidos indicaron que los coliformes totales en *Anadara similis* estuvieron entre $1,5 \times 10^4$ UFC/100 g y $2,0 \times 10^4$ UFC/100 g y para *Anadara tuberculosa* entre $1,7 \times 10^4$ UFC/100 g y $2,4 \times 10^4$ UFC/100 g. En ambas especies no se observó presencia de *Escherichia coli*.

Márquez (2017) evaluó los niveles de *Escherichia coli* en tejido de tres especies de bivalvos: concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), pico de pato (*Tagelus dombeii*) y palabritas (*Donax* sp.) en 15 estaciones de siete áreas de la zona de amortiguamiento de la Bahía de Sechura. El conteo de coliformes totales y fecales se hizo con la técnica de tubos múltiples para la determinación del número más probable (NMP), mientras que en el caso de *E. coli* se hizo usando el método de horizontal. Como resultados obtuvo que en palabritas los conteos de *E. coli* fueron muy altos, con valores entre 230 y 490 NMP/100 g; siendo no aptas para el consumo humano, mientras que en conchas de abanico y pico de pato, los niveles de *E. coli* estuvieron por debajo del límite establecido de 230 NMP/100 g, siendo aptas para el consumo.

Jeamsripong et al. (2018) evaluaron el nivel de bacterias en ostras centinelas en Phang Nga, Tailandia. Para llevar a cabo este trabajo recolectaron 144 muestras de carne de ostras de las cuales determinaron la concentración de bacterias

(coliformes fecales, coliformes totales, *E. coli*, *Shigella* y *Vibrio parahaemolyticus*) en el tejido, evaluado a través del NMP/100 g; encontrando que en el 93,1% de las muestras de ostra se halló *E. coli*, en 94,4%, coliformes fecales y en 99,3% coliformes totales, los niveles de *V. parahaemolyticus* fueron de $8,5 \times 10^7$ NMP/g de carne ostra, así también se determinó la presencia de *Salmonella* spp., en 20,6% de las muestras y de *Shigella* spp. en 7,6%, concluyendo que la carne de ostra presentó un nivel de contaminación microbiana muy elevada.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Obtención de *Anadara tuberculosa*

Las conchas negras fueron adquiridas en los centros de acopio de la región Tumbes: Mercado Modelo de Tumbes y exterior del Coliseo Tumpis; éstas se trasladaron en una caja de tecnopor a una temperatura de 4 °C hasta el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar (FIPCM)(Figura 1).

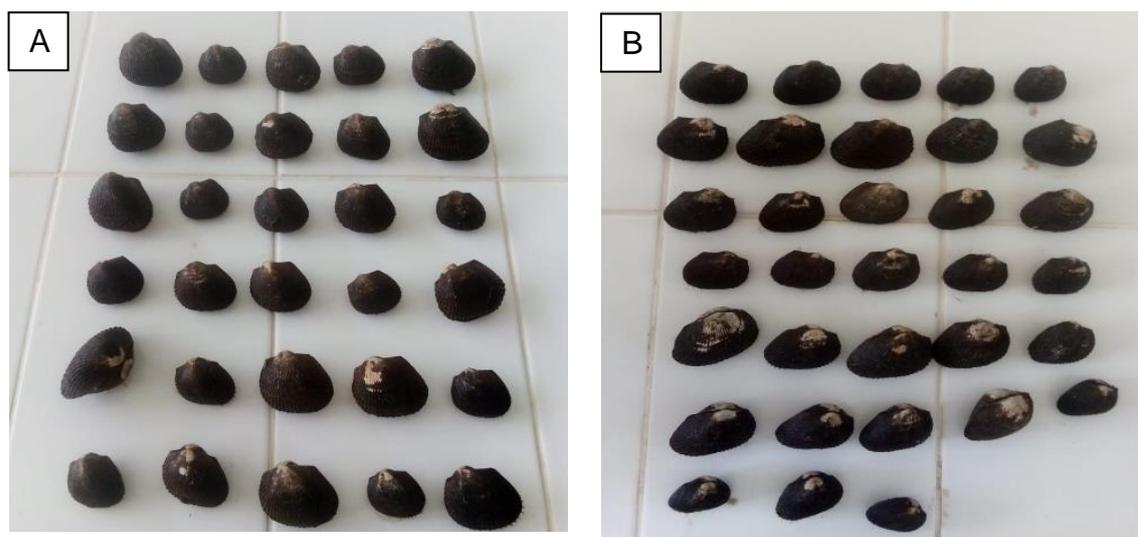


Figura 1. Ejemplares de *Anadara tuberculosa* adquiridos en los centros de acopio: A) de Exteriores del Coliseo Tumpis y B) de Mercado Modelo de Tumbes.

3.2. Limpieza de *A. tuberculosa*

Se realizó según la metodología de Sanipes (2009) como se indica a continuación: se descartó cualquier ejemplar que mostrara daños externos o que tuviera sus valvas abiertas, posteriormente se tomó 60 ejemplares de cada lugar de muestreo, los que se sumergieron en una solución clorada (0,2 ppm de cloro libre) por dos minutos, luego con un cepillo se retiró restos de algas y otras partículas adheridas a la superficie de las valvas. Finalmente, cada ejemplar se lavó usando agua potable (Figura 2).



Figura 2. Limpieza de ejemplares de *Anadara tuberculosa*: A) Conchas sumergidas en solución clorada y B) Lavado de las conchas negras

3.3. Registro de peso y longitud valvar

Para el registro del peso de la muestra se utilizó una balanza gramera con una precisión de 0,1 g, adicionalmente se midió su longitud valvar con un vernier (Figura 3).

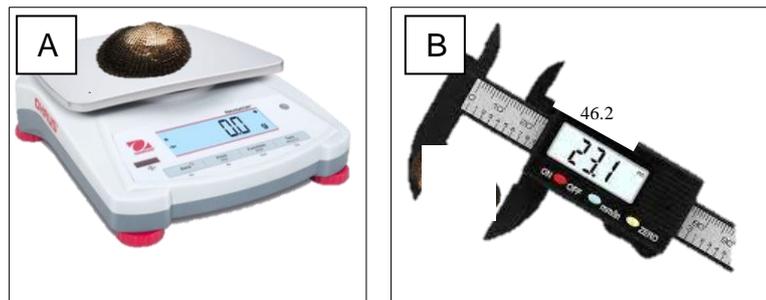


Figura 3. Registro biométrico A) Determinación del peso y B) Medición de la longitud valvar.

3.4. Desvalvado y extracción de tejidos de *Anadara tuberculosa*

Se utilizó un abridor de conchas previamente desinfectado (flameado con un mechero), para abrir las valvas, luego se extrajo el pie y el cuerpo, el líquido intervalvar, éstos fueron colocados en un vaso de precipitación estéril.

3.5. Preparación de solución Butterfield

Se preparó solución *stock* Butterfield disolviendo 34 g de KH_2PO_4 en 500 ml de agua destilada, luego se ajustó su pH a 7,2 con NaOH 1 N, posteriormente la solución se enrasó hasta 1 litro con agua destilada. Finalmente se procedió a esterilizar en el autoclave por 15 min a una 121 °C y 15 psi de presión. La solución *stock* se mantuvo en refrigeración. La solución de trabajo Butterfield se preparó disolviendo 1,25 ml de solución *stock* en agua destilada que fue enrasada hasta 1 l (Figura 4).



Figura 4. Solución *stock* Butterfield.

3.6. Homogenización y obtención de diluciones

Se pesó 50 g de la muestra con una precisión de $\pm 0,1$ g, luego se vertió en la licuadora; se añadió 450 ml de solución de trabajo Butterfield cubriendo completamente sus cuchillas y se licuó por 2 min, el homogenizado resultante constituyó la dilución 10^{-1} , posteriormente en dos matraces esterilizados se añadió 90 ml de solución peptonada salina y 10 ml de la dilución previa obteniendo la dilución 10^{-2} , de esta misma manera se procedió para obtener la dilución 10^{-3} (Figura 5).

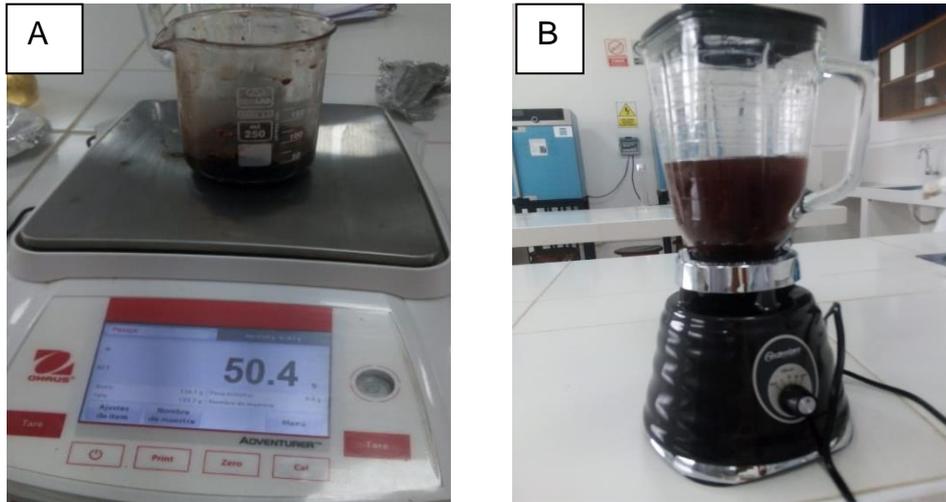


Figura 5. Procesamiento de los tejidos de *A. tuberculosa*. A) Pesado de los tejidos extraídos y B) Homogenización de los tejidos usando solución de trabajo Butterfield.

3.7. Prueba presuntiva y confirmativa de coliformes totales

La prueba presuntiva de coliformes totales se realizó cultivando la solución madre y sus diluciones sucesivas en caldo lauril sulfato (CLS), aprovechando también para determinar la carga de coliformes totales (Figura 6) presuntivos mediante la metodología modificada del Manual de Métodos de Ensayo para Mariscos y Aguas (Sanipes, 2009), como sigue:

Se sembraron las diluciones de los tejidos de *A. tuberculosa*, obtenidos en el literal F): 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} en tubos con CLS, para lo cual se transfirió 1 ml de cada dilución al respectivo tubo que contenía 9 ml de CLS y una campana de Durham; posteriormente se procedió a incubar a una temperatura de 35 °C por 48 h.

Pasado dicho tiempo se contó el número de tubos en los que hubo crecimiento bacteriano, evidenciado por la turbidez del medio de cultivo y la producción de gas que fue atrapado en la campana de Durham, lo cual fue indicador de la presencia presuntiva de coliformes totales. Los datos se registraron en una libreta.

La prueba confirmativa se realizó sembrando 1 asada de cada tubo en el que se observó crecimiento en tubos con caldo verde brillante bilis (VBB) conteniendo una campana de Durham; éstos fueron incubados a 35 °C por 48 h, luego de lo cual se determinó si hubo crecimiento y producción de gas. En base a los tubos con CLS que resultaron positivos se determinó el número más probable (NMP) contando los tubos que fueron positivos en cada dilución, y buscando luego estas

cantidades en la tabla de determinación de número más probable (NMP) (tabla 9 del anexo), siendo sus resultados expresados como NMP/100 g.

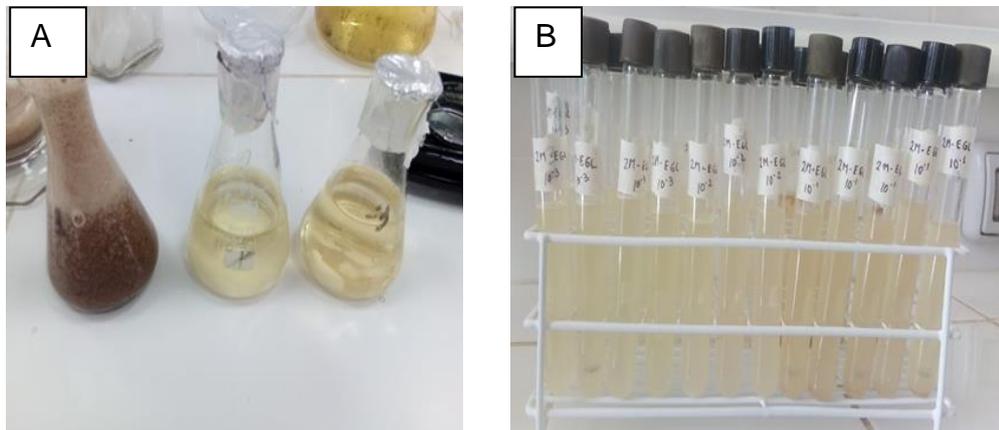


Figura 6. Preparación de diluciones y prueba presuntiva de coliformes totales. A) Diluciones del tejido homogenizado y b) Siembra de las diluciones en caldo lauril sulfato.

3.8. Prueba confirmativa de coliformes fecales

La prueba confirmativa de coliformes fecales se realizó transfiriendo una asada del cultivo de cada uno de los tubos en los que se observó crecimiento en el caldo CLS a un tubo con caldo *Escherichia coli* (EC) conteniendo una campana Durham, incubándose a 45,5 °C por 24 h; luego de lo cual se observó si se había producido gas; aquellos tubos en los que se produjo se declararon positivos. En base a los tubos con medio EC que resultaron positivos se determinó el NMP de coliformes fecales (Figura 7).

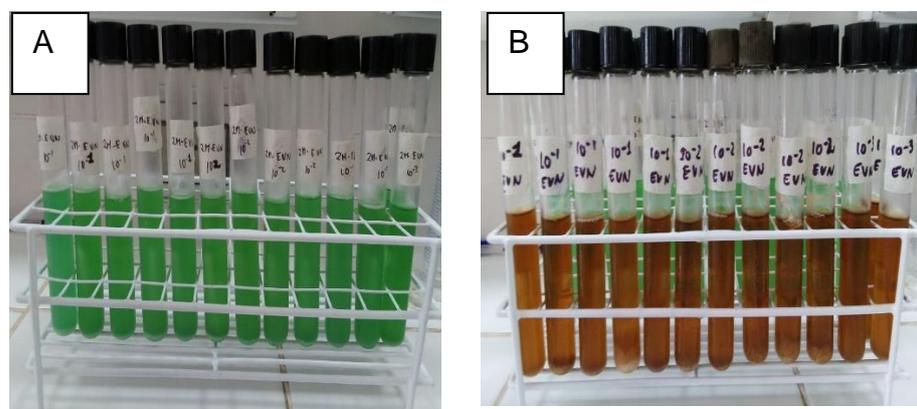


Figura 7. Prueba para coliformes fecales. A) Siembra en tubos con medio verde brillante, b) Tubos con medio EC en el que se aprecia crecimiento bacteriano (prueba presuntiva para *E. coli*).

3.9. Prueba de *E. coli*

De cada tubo positivo en la prueba confirmativa de coliformes fecales (tubos con medio EC que resultaron positivos) se sembró una asada en una placa Petri con medio agar eosina azul de metileno (L-EMB), éstas se dejaron incubar a 35 °C por 24 h; luego de lo cual se inspeccionó las placas Petri para determinar colonias con características presuntivas de corresponder a *E. coli*: poseer un centro plano y oscuro, teniendo brillo metálico o no. En el caso de que un determinado tubo con caldo EC se hubieran podido aislar al menos 5 colonias con características presuntivas de *E. coli*, se declaró positivo para *E. coli* a dicho tubo con EC. Las colonias que crecieron en medio L-EMB fueron sembradas en tubos con *plate count* agar (PCA) en plano inclinado; incubándose a 35 °C por 24 h. Las colonias que crecieron en PCA se sometieron a tinción de Gram, luego se almacenaron en congelación a -30 °C en caldo tripticasa soya (TSB) con 15% de glicerol. Posteriormente estas cepas fueron descongeladas y pasaron al proceso de identificación molecular de la especie bacteriana (Figura 8).

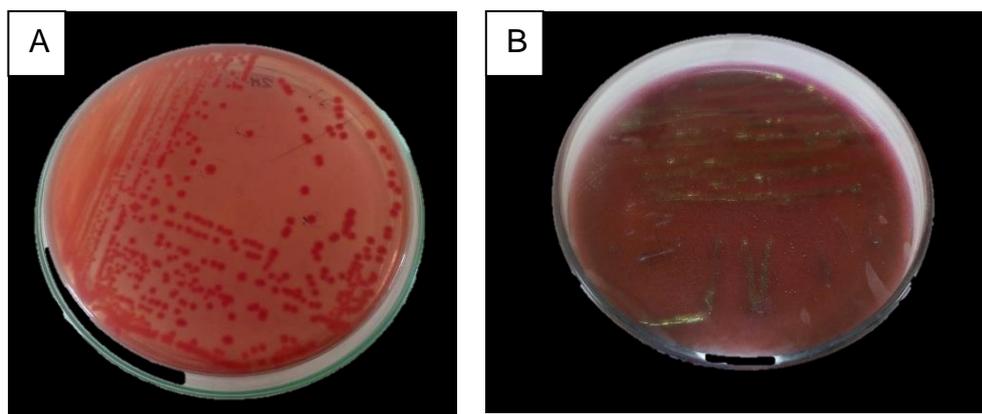


Figura 8. Crecimiento de colonias de coliformes en medios sólidos. A) Colonias en medio MacConkey, B) colonias en medio eosina.

3.10. Siembra en medio de cultivo MacConkey

De los medios de cultivo verde brillante bilis en los que se observó crecimiento bacteriano, se realizó una siembra en placas Petri con medio MacConkey y se incubaron a 35 °C por 24 a 48 horas.

3.11. Características morfológicas de las colonias en agar MacConkey

Se registró las principales características morfológicas (color, tamaño y forma) de las colonias bacterianas que crecieron en el medio de cultivo MacConkey.

3.12. Purificación de cepas bacterianas en medio TSA

Las colonias más representativas que crecieron en el medio MacConkey fueron sembradas sucesivamente con un asa de Kolle y mediante la técnica agotamiento en el agar tripticasa soya (TSA) hasta lograr obtener colonias puras. Las cepas puras fueron almacenadas en congelación a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en caldo TSB con 15% de glicerol hasta su uso (Figura 9).

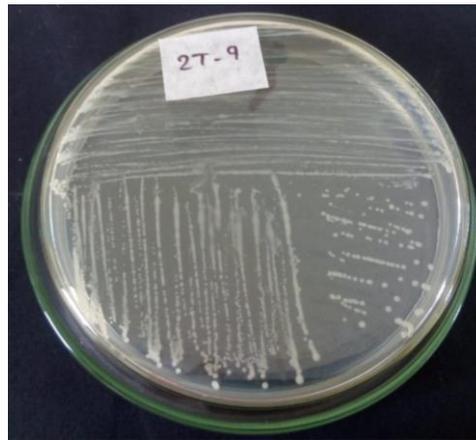


Figura 9. Colonias puras creciendo en medio TSA.

3.13. Tinción de Gram

Se realizó la tinción de Gram a las cepas purificadas en medio TSA a fin de verificar si fueron Gram positivas o Gram negativas (Figura 10).

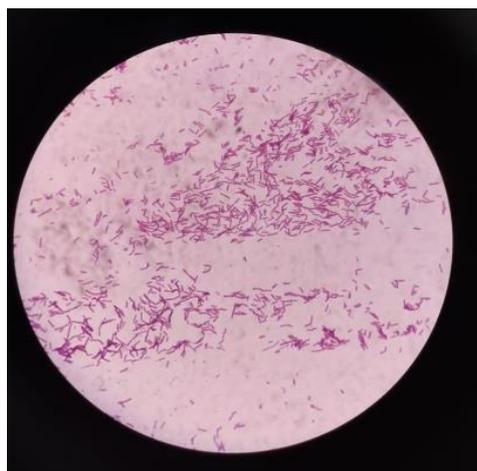


Figura 10. Observación microscópica (1000 X) de bacterias coliformes teñidas con tinción de Gram.

3.14. Extracción de ADN de las cepas bacterianas

Las cepas puras fueron descongeladas y cultivadas por 24 h en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml conteniendo 1 ml de TSB. Se procedió a centrifugar los cultivos de los tubos de microcentrífuga a 10 000 rpm por 5 min, se descartó el sobrenadante y se colectó el *pellet*, el cual fue lavado agregándole 1 ml de agua estéril grado HPLC (H₂O-HPLC), se disolvió el *pellet* usando un vórtex por un periodo de 30 segundos, a continuación se centrifugó a 10 000 rpm por 5 min para luego eliminar el sobrenadante repitiendo este paso una vez más. Luego se le añadió 20 µl de H₂O-HPLC, se homogenizó en un agitador vórtex y se incubó a 95 °C por 10 min en un bloque térmico para luego centrifugarse a 10 000 rpm por 5 min.

Finalmente se recuperó 150 µl del sobrenadante, el que se transfirió a un nuevo tubo de 1,5 ml y fue almacenado a -30 °C.

3.15. Amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr de las cepas bacterianas

Se realizó siguiendo el método de Peralta et al. (2021) para amplificar un fragmento del gen 16S ARNr; la reacción se realizó en un microtubo de 200 µl, en el que se añadió el *mix* para la reacción de la PCR preparado como se indica en la tabla 2, y 2 µl de ADN de la cepa bacteriana.

Tabla 2. Volumen de reactivos para preparar el *mix* necesario para la reacción de la PCR

Reactivo	Volumen (µl)
Tampón para PCR 10X (50 mM de KCl)	2,5
Solución 25 mM de MgCl ₂	1,5
Solución 10 mM de desoxiribonucleótidos trifosfato (dNTPs)	0,5
Agua ultrapura (AUP)	17,4
<i>Primer forward</i> 27F	0,5
<i>Primer reverse</i> 1492R	0,5
Taq ADN polimerasa platinum	0,1
ADN	2,0

La amplificación del fragmento del gen 16S ARNr se realizó en un termociclador programado como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Programación del termociclador.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo	Número de ciclos
Pre desnaturalización	94	5 min	1
Amplificación			35
Desnaturalización	94	30 s	
Hibridación	55	30 s	
Polimerización	72	1 min y 45 s	
Extensión final	72	2 min	1

3.16. Confirmación de la amplificación del fragmento del gen 16S ARNr

El producto amplificado fue migrado en un equipo de electroforesis horizontal para visualizar las bandas fluorescentes de aproximadamente 1500 pb que indicaron la presencia del fragmento del gen 16S ARNr.

3.17. Secuenciamiento

Se envió 30 µl de cada amplicón en su respectivo microtubo de 200 µl, éstos se empacaron en una caja de tecnopor con *gelpack*, luego fueron enviados a la empresa BTS S.A.C. en la ciudad de Lima para que ésta a su vez tramitara su secuenciamiento en Canadá. Los resultados del secuenciamiento de los fragmentos del gen 16S ARNr fueron recibidos como archivos en los formatos abi y fasta (el primero de los cuales incluye la calidad de secuenciamiento y el segundo la secuencia cruda).

3.18. Depuración de las secuencias

Los archivos abi fueron abiertos con el software Chromas 2.6.6 con el cual se generaron archivos fastaq. La calidad global de la secuencia fue visualizada a partir de los archivos fastaq usando el software FastQC 0.11.9. Los extremos izquierdo y derecho de las secuencias fueron recortadas con Chromas 2.6.6, cuando su nivel de calidad fue menor de 30. Se usó Mega 11 para alinear las secuencias recortadas, las que fueron combinadas en una secuencia única depurada que fue grabada como archivo fasta.

Cada secuencia fasta depurada fue utilizada para realizar una búsqueda en Genbank así como en la base de datos Silva (una base de datos curada especializada en secuencias de ARN ribosómico).

La identificación de la especie bacteriana en Genbank se declaró cuando su porcentaje de identidad evaluado por Nucleotide Blast fue $\geq 99\%$, así también la identificación en Silva fue considerada correcta cuando su porcentaje de identidad y de calidad fueron respectivamente $\geq 99\%$.

3.19. Procesamiento y análisis de datos

Los datos de peso y longitud valvar de las conchas negras fueron registrados en una hoja de Excel, se obtuvo su media y desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza con $\alpha=0,05$ para determinar la existencia de diferencia estadística significativa entre el peso y longitud de los ejemplares obtenidos en los muestreos en los dos centros de acopio. También se realizó una prueba t-Student para la media con $\alpha=0,05$, a fin de determinar si la longitud valvar de las conchas negras era mayor o igual a la longitud valvar mínima de extracción, de igual manera se hizo con el peso de las conchas negras, aunque en este caso se comparó su promedio con el peso estimado por Ordinola et al. (2020) para conchas con la longitud valvar mínima de extracción.

Respecto a las otras variables (conteo de coliformes fecales y de *E. coli*), debido a que fueron pocos datos, solo se compararon de manera descriptiva con los LMP correspondientes en la normatividad nacional o internacional.

De igual manera en el caso del conteo de coliformes totales, se compararon de manera descriptiva con otros datos obtenidos en investigaciones similares a esta.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Peso y longitud valvar de *Anadara tuberculosa*

Se obtuvieron 116 ejemplares de *A. tuberculosa* los mismos que presentaron pesos y longitudes valvares promedio estadísticamente similares ($p > 0,05$), excepto en el caso de los ejemplares obtenidos en el primer muestreo realizado en el exterior del Coliseo Tumpis, que mostraron tallas y longitudes menores (peso: $22,96 \pm 9,44$ g y longitud valvar: $39,55 \pm 6,10$ mm) ($p < 0,05$) (tabla 4).

Tabla 4. Peso y longitud valvar (Media \pm DE) de *Anadara tuberculosa* adquiridas según centro de acopio

Centro de acopio	Muestreo	N° de ejemplares	Peso (g) (Media \pm DE)	Longitud valvar (mm) (Media \pm DE)
Exterior del Coliseo Tumpis	1	26	$22,96 \pm 9,44$	$39,55 \pm 6,10$
	2	30	$36,04 \pm 15,84$	$49,92 \pm 6,31$
Mercado Modelo de Tumbes	1	30	$33,82 \pm 12,07$	$48,11 \pm 5,73$
	2	30	$37,40 \pm 16,04$	$50,62 \pm 6,52$

Las longitudes valvares de los ejemplares recolectados en casi todos los muestreos de ambos centros de acopio tuvieron una longitud valvar que fue estadísticamente superior ($p < 0,05$) a la longitud valvar mínima de extracción establecida para *A. tuberculosa* que es de 45 mm según Resolución Ministerial N° 209-2001/PE (Ministerio de Pesquería, 2001); a excepción del primer muestreo realizado en exteriores del Coliseo Tumpis, cuya longitud valvar promedio fue inferior ($p < 0,05$) a la longitud valvar mínima de extracción, esto indica que la mayor parte de las conchas negras obtenidas de dichos centros de acopio mostraron estar acordes a la normatividad vigente que autoriza la explotación de este bivalvo solo cuando tenga una longitud valvar igual o superior a la mínima establecida; por otro lado, si bien no existe un peso mínimo de captura en la reglamentación, Ordinola et al. (2020) ha estimado que el peso correspondiente a la longitud valvar mínima de extracción de conchas negras de ambos sexos es de 26,4 g; así de manera similar a lo encontrado respecto a las longitudes valvares, también la mayoría de los muestreos realizados en ambos centros de acopio tuvieron pesos promedios estadísticamente superiores ($p > 0,05$) a los correspondientes a la de la longitud valvar mínima de extracción, mientras que

solo el primer muestreo realizado en exteriores del Coliseo Tumpis tuvo un peso promedio menor ($p < 0,05$); indicando que en la mayoría de los casos fue posible obtenerse conchas negras que cumplieran con la normatividad referida a su longitud valvar mínima para extracción y comercialización.

4.2. Nivel de coliformes totales

Los niveles de coliformes totales evaluados mediante la técnica del número más probable (tabla 5), fueron bastante variables, estando en el rango de 110 NPM/100 g a 940 NPM/100 g. En el caso de las conchas negras adquiridas en el exterior del Coliseo Tumpis, se observó que los niveles fueron más similares (330 NPM/100 g y 140 NPM/100 g), mientras que en el caso de las conchas negras adquiridas en el Mercado Modelo de Tumbes mostraron la mayor variación con valores de 940 NPM/100 g y 110 NPM/100 g.

Tabla 5. Recuento de coliformes totales por centro de acopio y muestreo.

Centro de acopio	Muestreo	Número de tubos positivos por dilución			Coliformes totales (NMP/100 g)
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Exteriores del Coliseo Tumpis	1	5	1	0	330
	2	3	2	0	140
Mercado Modelo de Tumbes	1	5	2	2	940
	2	3	1	0	110

No se ha podido localizar ningún norma nacional o internacional que fije LMP para coliformes totales en bivalvos, por lo que no es posible determinar si los niveles encontrados en esta investigación (entre 110 y 940 NPM/100 g) son altos o bajos; sin embargo al compararlos con los niveles hallados por Hidalgo (2019) quien evaluó coliformes totales en *A. tuberculosa* en la zona de Jambelí (El Oro, Ecuador) y halló niveles de coliformes entre 17 500 y 23 856 NPM/100 g, mucho mayores que los hallados en esta investigación; esto podría deberse a que Hidalgo (2019), obtuvo las muestras de una zona aledaña a un centro poblado, por lo que el nivel de contaminación fecal sería mayor en las aguas de dicha zona; en cambio las conchas obtenidas de los centros de acopio de Tumbes, podrían proceder de diferentes zonas como las que no se encuentran aledañas a poblados e incluso de Ecuador y Colombia. Por otro lado en el caso de la investigación de Delgado (2018) en el recinto El Morro (Guayas, Ecuador), el nivel

de coliformes totales estuvieron entre 8×10^3 y 9×10^8 UFC/100g; cantidades mucho más altas de las que se hallaron en esta investigación, lo cual también se justifica dado que la zona de recinto El Morro se halla en el estuario del río Guayas, a cuyas orillas se asienta Guayaquil, la ciudad más grande del Ecuador, lo que hace que exista un mayor nivel de contaminación por coliformes. Se debe precisar que tanto en el estudio de Hidalgo (2019) como de Delgado (2018), se determinó que las conchas negras de las zonas de estudio no fueron aptas para el consumo por el alto nivel de coliformes totales.

4.3. Nivel de coliformes fecales

En la tabla 6 se aprecia que las cargas de coliformes fecales fueron variadas, siendo que en los muestreos en exteriores del Coliseo Tumpis se hallaron cantidades menores comparativamente que en los muestreos en el Mercado Modelo de Tumbes (45 y 140 NMP/100 g frente a 110 y 700 NMP/100 g).

Tabla 6. Recuento de coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* por centro de acopio y muestreo.

Centro de acopio	Muestra ^o	Número de tubos positivos por dilución			Recuento de coliformes fecales (NMP/100 g)
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Exteriores del Coliseo Tumpis	1	2	0	0	45
	2	3	2	0	140
Mercado Modelo de Tumbes	1	5	2	1	700
	2	3	1	0	110

Si bien es cierto que la normativa peruana para el monitoreo de coliformes en bivalvos se basa en el recuento de *Escherichia coli*; otras legislaciones tales como las de la Food and Drugs Agency (FDA) de Estados Unidos, han establecido límites máximos permisibles para coliformes fecales en bivalvos que se han sometido a depuración los cuales no deberían superar los 70 NMP/100 g (National Shellfish Sanitation Program [NSSP], 2019); teniendo en cuenta dicho límite se observa que 75% de las muestras de los centros de acopio han tenido niveles de coliformes fecales por encima del límite máximo establecido por la FDA; lo cual implica que sería necesario un proceso de depuración a fin de disminuir tales niveles de coliformes fecales.

4.4. Nivel de *Escherichia coli*

Los niveles de *E. coli* en cada muestra (tabla 7) fueron bastante disímiles, variando entre 0 y 140 NPM/100 g; siendo la variación mayor en el caso de las muestras del Mercado Modelo de Tumbes.

Tabla 7. Recuento de *Escherichia coli* en *Anadara tuberculosa* por centro de acopio y muestreo

Centro de acopio	Muestreo	Número de tubos positivos por dilución			Recuento de <i>E. coli</i> (NMP/100 g)
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Exteriores del Coliseo Tumpis	1	1	0	0	20
	2	1	2	0	61
Mercado Modelo de Tumbes	1	3	2	1	140
	2	0	0	0	0

El nivel de *E. coli* es el parámetro más importante para determinar la contaminación microbiológica de los bivalvos según se tiene establecido en la normatividad nacional indicada por Sanipes (2012) en el documento llamado: Control oficial de zonas y áreas de producción clasificadas de moluscos bivalvos, el cual establece como límite máximo permisible en el caso de bivalvos procedentes de un área tipo A (un área aprobada para extracción del recurso y consumo): 230 NMP/100 g.

De lo antes indicado se observa que el recuento de *E. coli* en los centros de acopio estuvieron dentro del límite especificado para bivalvos procedentes de un área tipo A, aprobada para extracción.

Las normas internacionales más importantes como la establecida por la FDA (NSSP, 2019) y la Comisión Europea (2019) han establecido el mismo límite máximo permisible (230 NMP/100 g) para *E. coli* en bivalvos en áreas aprobadas para explotación, lo que indica que de acuerdo a la normatividad nacional e internacional, los ejemplares de *A. tuberculosa* comercializadas en los centros de acopio de Tumbes procederían de zonas que estarían aprobadas para explotación.

4.5. Identificación de cepas de coliformes fecales

Se lograron caracterizar morfológicamente las colonias correspondientes a 54 cepas de coliformes fecales que crecieron en agar MacConkey (Tabla 10 del

anexo), las que se observaron como colonias de colores fucsia o crema, de forma circular o puntiformes, con elevación convexa, superficie lisa y consistencia cremosa; cabe resaltar que todas las colonias tuvieron bordes lisos. Adicionalmente se identificaron molecularmente 10 cepas representativas (tabla 8), las que correspondieron a *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella variicola*, *Enterobacter hormaechei*, que son especies del grupo de coliformes fecales como lo ha indicado Beltran & Galvez (2022); Mishra et al. (2018) y OPS (2015), quienes precisan que los coliformes fecales abarcan 4 grandes géneros que son: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter*; en el caso de *Shigella*, este género está estrechamente emparentado con *Escherichia* y según Sepúlveda (2023) también forman parte de los coliformes.

Tabla 8. Morfología de las colonias e identificación molecular de cepas de coliformes fecales aisladas de *A. tuberculosis*.

Medios de cultivo	Cepa	Morfología de colonias			Identificación molecular		
		Forma	Tamaño (mm)	Color	Especie	%Identidad	
						Genbank	SILVA
MacConkey	2T1	Redonda	1,0	Crema	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100,00	100,00
	10MM	Redonda	2,0	Fucsia	<i>Klebsiella variicola</i>	100,00	99,39
	10TM	Redonda	2,0	Fucsia cremosa	<i>Escherichia coli</i>	99,42	99,28
	14TM	Redonda	1,0	Crema	<i>Escherichia coli</i>	100,00	99,92
	1MM	Puntiforme	0,5	Fucsia	<i>Enterobacter hormaechei</i>	99,40	99,39
	8MM	Puntiforme	3,0	Fucsia	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100,00	100,00
Eosina	2T12	Puntiforme	0,5	Negras azuladas	<i>Escherichia coli</i>	100,00	99,92
	2T13	Puntiforme	0,5	Negras azuladas	<i>Shigella flexneri</i>	100,00	100,00
	12MP	Puntiforme	0,5	Negras azuladas	<i>Escherichia coli</i>	99,42	99,27
	14MP	Puntiforme	0,4	Negras azuladas	<i>Escherichia coli</i>	100,00	99,92

V. CONCLUSIONES

1. El 75% de las conchas negras *Anadara tuberculosa* comercializadas en los dos principales centros de acopio de Tumbes (Mercado Modelo de Tumbes y exteriores del Coliseo Tumpis) en el año 2022, tuvieron niveles de coliformes fecales que variaron entre 45 y 700 NMP/100 g; siendo en su mayoría superiores al LMP establecido por la FDA que es de 70 NMP/100 g.
2. Los niveles de coliformes totales en *A. tuberculosa* estuvieron en el rango de 110 NPM/100 g a 940 NMP/100 g, siendo inferiores a los reportados en otras investigaciones realizadas en manglares altamente contaminados.
3. Los niveles de *Escherichia coli* en *A. tuberculosa* variaron entre 0 y 140 NPM/100 g, y estuvieron por debajo del límite máximo permisible establecido por la normatividad nacional e internacional (FDA y Comisión Europea) para bivalvos procedentes de áreas aprobadas para explotación de los mismos que ha sido fijada en 230 NMP/100 g; por lo que de acuerdo a la legislación peruana, las conchas negras no representarían un riesgo al consumidor.
4. Se identificaron molecularmente 10 cepas coliformes fecales presentes en los ejemplares de *A. tuberculosa* correspondientes a *Escherichia coli*, *Enterobacter hormaechei*, *Shigella flexneri* y *Klebsiella variicola*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Monitorear los niveles de coliformes fecales y de *E. coli* en el agua y sedimento de las zonas de extracción de *Anadara tuberculosa*, a fin de determinar si se hallan dentro de los límites máximos permisibles establecidos en la normatividad nacional o internacional.
2. En el caso de que en algún momento las conchas negras presenten niveles de contaminación que las haga ser un peligro para la salud del consumidor, se recomienda realizar una depuración de las mismas antes de ser comercializadas. De acuerdo a ciertas investigaciones realizadas en Ecuador, la técnica de depuración más efectiva consistiría en usar de tanques con recirculación de agua, provistos de filtros de arena y de lámparas de luz ultravioleta para la esterilización del agua.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, R. (2013). *Escherichia coli* in seafood: A brief overview. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4(3), 450-454. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.43A060>
- Cobeña, J. M. F. (2016). *Cadena productiva de Anadara tuberculosa (Sowerby 1833) extraída en el santuario nacional los manglares de Tumbes, 2015* [Trabajo de titulación de Ingeniero Pesquero, Universidad Nacional de Tumbes]. http://met.igp.gob.pe/publicaciones/2016/10Tesis_Jose_Azabache.pdf
- Barrozo, J. A., & Cruz, E. M. (2021). *Determinación de coliformes totales y E. coli en Anadara tuberculosa (concha negra) y sedimento en la Comuna Puerto del Morro* [Trabajo de titulación de Químico Farmacéutico, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/62532>
- Beltran, D. A., & Galvez, J. M. (2022). *Detección coliformes fecales, Escherichia coli y metales pesados (plomo, cadmio y mercurio) en agua y suelo en los manglares del Estero Soledad Grande en la Reserva Ecológica Manglares Churute - Ecuador* [Tesis de Ingeniera Ambiental, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/59936>
- Carreño, H. N. (2019). *Contaminación por coliformes totales y Escherichia coli en ostiones (Crassostrea columbiensis), concesión de manglares, Puerto Salinas—Golfo de Guayaquil- Ecuador* [Trabajo de titulación de Ingeniero Ambiental, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39576/1/Tesis%20Carre%c3%b1o%202019.pdf>
- Chalen, W. S. (2021). *Evaluación de la bioacumulación de metales pesados en bivalvos en provincias costeras del Ecuador por medio de recopilación bibliográfica* [Trabajo práctico para optar el título de Biólogo Marino, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/81113/1/UPSE-TBM-2022-0004.pdf>
- Comisión Europea. (2019). *Reglamento de ejecución (UE) 2019/627 de la comisión*. Diario Oficial de la Unión Europea. <https://www.boe.es/doue/2019/131/L00051-00100.pdf>

- Delgado, D. M. (2018). *Niveles de coliformes totales y Escherichia coli en Anadara tuberculosa y Anadara similis en el Recinto El Morro, provincia del Guayas*. [Tesis de Ingeniera Ambiental, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29451/1/Dayana%20Delgado.pdf>
- FAO. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018 (SOFIA): Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. FAO. <http://www.fao.org/3/I9540ES/i9540es.pdf>
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- González, T., & Solano, Y. (2019). Estudio de la biometría de *Anadara tuberculosa* (concha prieta) comercializada en el mercado. *Journal of business and entrepreneurial studie*, 3(1), 28-31. <https://doi.org/10.31876/jbes.v3i1.19>
- Hidalgo, A. P. (2019). *Contaminación por coliformes totales y Escherichia coli, en concha (Anadara tuberculosa y Anadara similis) Jambelí, Prov.- El Oro* [Tesis de Ingeniera Ambiental, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39616/1/CONTAMINACI%c3%93N%20POR%20COLIFORMES%20TOTALES%20Y%20ESCHERICHIA%20COLI%2c%20EN%20CONCHA%20%28Anadara%20tuberculosa%20y%20Anadara.pdf>
- Jeamsripong, S., Chuanchuen, R., & Atwill, E. (2018). Assessment of Bacterial Accumulation and Environmental Factors in Sentinel Oysters and Estuarine Water Quality from the Phang Nga Estuary Area in Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(9), 1970. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091970>
- Jiménez, J. D. (2021). *Cuantificación de la carga bacteriana: Escherichia coli, coliformes totales y enterobacterias en zanahorias (Daucus carota) expendidas en mercados de Arequipa (3 mercados de Arequipa, 3 mercados de Camaná, 3 mercados de la Joya), para determinar su inocuidad alimentaria, Arequipa - 2020* [Tesis de Maestro en Salud Pública, Universidad Católica de Santa María]. <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/10733>
- Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, N. M., & Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de

- contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: Revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.
- Marañón, M., Ochoa, L. M., Espigares, E., & Moreno, E. (2013). Moluscos bivalvos como agentes transmisores de infecciones víricas. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 13(2), 961-967.
- Márquez, J. C. (2017). *Determinación de la calidad microbiológica en moluscos bivalvos y agua de mar en la Bahía de Sechura – Piura* [Tesis de Ingeniero en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina]. repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2768/T01-M377-T.pdf
- Martínez, R. E., & Villalobos, L. B. (2005). *Escherichia coli* enteropatógena en moluscos crudos y cocidos. *Revista Científica*, 15(2), 163-167.
- Mendoza, O. A., & Peralta, T. (2007). Biología reproductiva de *Anadara tuberculosa*. *Manglar*, 5(1), 3-9.
- Ministerio de Pesquería. (2001). *Resolución Ministerial N° 209-2001/PE*. Ministerio de Pesquería. http://www.sanipes.gob.pe/documentos/13_R.M.209-2001-PEApruebanRelaciondeTallasMinimasdeCapturayToleranciaMaximadeEjemplaresJuvenilesdePrincipalesPecesMarinoselInvertebrados.pdf
- Miotto, M., Ossai, S. A., Meredith, J. E., Barretta, C., Kist, A., Prudencio, E. S., R. W. Vieira, C., & Parveen, S. (2019). Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolated from mollusks in Brazil and the United States. *MicrobiologyOpen*, 8(5), e738. <https://doi.org/10.1002/mbo3.738>
- Mishra, M., Arukha, A. P., Patel, A. K., Behera, N., Mohanta, T. K., & Yadav, D. (2018). Multi-drug resistant coliform: Water sanitary standards and health hazards. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 311. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00311>
- Morán, B., & Hidalgo, A. (2018). Impactos ambientales en la Bahía Puerto Pizarro. *Manglar*, 13(2), 43-51.
- Morton, B., & Machado, F. M. (2019). Predatory marine bivalves: A review. En *Advances in Marine Biology* (Vol. 84, pp. 1-98). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2019.10.001>

- National Shellfish Sanitation Program (NSSP). (2019). *Guide for the control of molluscan shellfish: 2019 revision*. FDA-ISSC. <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FederalStateFoodPrograms/ucm2006754.htm>
- OPS. (2015). *Peligros biológicos*. OPS. https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0
- Ordinola, E., Alemán, S., Inga, C., & Llanos, J. (2019). Sinopsis biológica, poblacional y pesquera de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) y *Anadara similis* (C.B. Adams, 1852) en los manglares de Tumbes: 1995 a 2015. *Boletín. Instituto del Mar del Perú*, 34(1), 223-264.
- Ordinola, E., Alemán, S., & Montero, P. (2020). Concha negra *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) y concha huequera *Anadara similis* (C.B. Adams, 1852) en los manglares de Tumbes. Setiembre 2018. *Inf Inst Mar Perú*, 47(1), 141-158.
- Ordinola, E., Montero, P., Alemán, P., & Llanos, J. (2007). *Prospección del recurso concha negra Anadara tuberculosa en los manglares de Tumbes. Tumbes, Perú: Imarpe*. Imarpe.
- Peralta, R., Peralta, T., & Ordinola-Zapata, A. (2021). Caracterización de cepas de *Vibrio* spp. Biorremediadoras de petróleo aisladas de agua marina. *Manglar*, 18(1), 21-26. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.003>
- Prado-Carpio, E., Martínez-Soto, M., Rodríguez-Monroy, C., Núñez-Guerrero, Y., Quiñonez-Cabeza, M., Nazareno-Veliz, I., Egas-Moreno, F., & Castillo-Cabeza, N. (2020). Descripción de la cadena de producción del molusco bivalvo concha prieta "*Anadara tuberculosa*". *Proceedings of the 18th LACCEI International*. The 18th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: Engineering, Integration, And Alliances for A Sustainable Development", Buenos Aires, Argentina. <https://doi.org/10.18687/LACCEI2020.1.1.504>
- Produce. (2004). *Decreto Supremo N° 07-2004-Produce. Norma sanitaria de moluscos bivalvos vivos*. Produce. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per81762.pdf>
- Sanipes. (2009). *Manual de métodos de ensayo para mariscos y agua*. Sanipes. http://www.sanipes.gob.pe/procedimientos/7_ManualSANIPESactualizada.pdf

- Sanipes. (2012). *Control oficial de zonas y áreas de producción clasificadas de moluscos bivalvos*. Sanipes. https://www.sanipes.gob.pe/procedimientos/9_Controloficialdezonasypareasdeproduccionclasificadasdemoluscosbivalvosvivos.pdf
- Sepúlveda, L. C. (2023). *Factores que inciden en la calidad microbiológica de agua lluvia de irrigación recolectada en huertas urbanas y periurbanas* [Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental, Universidad de los Andes]. <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/64648>
- Sorroza, L., Velásquez, P., Santacruz, R., Echeverría, E., Yáñez, M., & Solano, G. (2018). Disminución/reducción de la carga bacteriana en la concha negra *Anadara tuberculosa* para consumo humano. *Espacios*, 39(45), 34-39.
- Sosa, D. V. (2006). *Determinación de contaminación por bacterias coliformes fecales en Bahía de Jiquilisco, Usulután, utilizando como biomonitor Anadara similis y A. tuberculosa* [Trabajo para optar el grado de Biólogo, Universidad Nacional de El Salvador]. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/12449/1/19200603.pdf>
- Troya, M. T. (2021). *Detección de coliformes fecales y Escherichia coli, del agua que se distribuye en el cantón El Empalme, Provincia del Guayas* [Tesis de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/56820/1/TESIS%20FINAL%20FINAL-MELANIE%20TROYA.pdf>
- Vásquez, A. J., & Cabral, M. A. (2001). *La inocuidad alimentaria, realidad y reto mundial*. FAO. <http://www.fao.org/3/y0600m/y0600m01.pdf>
- Yeni, F., Yavaş, S., Alpas, H., & Soyer, Y. (2016). Most common foodborne pathogens and mycotoxins on fresh produce: A review of recent outbreaks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1532-1544. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.777021>

ANEXOS

Anexos

Tabla 9. Tabla para determinar el número más probable (NMP/g) usando tres diluciones

	N° de resultados positivos por inóculo (ml o g)			NMP	Límites de confianza al 95%	
	1	0,1	0,01		Inferior	Superior
0	0	0	0	0,00	0,00	0,66
0	1	0	0	0,18	0,03	1,34
1	0	0	0	0,20	0,03	1,47
1	0	1	0	0,40	0,10	1,65
1	1	0	0	0,40	0,10	1,66
1	2	0	0	0,61	0,19	1,96
2	0	0	0	0,45	0,11	1,86
2	0	1	0	0,68	0,21	2,18
2	1	0	0	0,68	0,21	2,20
2	1	1	0	0,92	0,33	2,55
2	2	0	0	0,93	0,34	2,58
3	0	0	0	0,78	0,24	2,54
3	0	1	0	1,10	0,38	3,00
3	1	0	0	1,10	0,38	3,02
3	1	1	0	1,40	0,54	3,48
3	2	0	0	1,40	0,54	3,53
3	2	1	0	1,70	0,72	4,02
3	3	0	0	1,70	0,73	4,09
4	0	0	0	1,30	0,44	3,72
4	0	1	0	1,70	0,62	4,40
4	1	0	0	1,70	0,63	4,50
4	1	1	0	2,10	0,85	5,28
4	2	0	0	2,20	0,86	5,41
4	2	1	0	2,60	1,10	6,31
4	3	0	0	2,70	1,10	6,50
4	4	0	0	3,40	1,40	7,80
5	0	0	0	2,30	0,76	7,00
5	0	1	0	3,10	1,00	9,40
5	1	0	0	3,30	1,10	10,00
5	1	1	0	4,60	1,50	14,00
5	1	2	0	6,30	2,10	19,00
5	2	0	0	4,90	1,50	16,00
5	2	1	0	7,00	2,30	22,00
5	2	2	0	9,40	3,40	26,00
5	3	0	0	7,90	2,50	25,00
5	3	1	0	11,00	3,90	31,00
5	3	2	0	14,00	5,50	36,00
5	3	3	0	17,00	7,40	42,00
5	4	0	0	13,00	4,40	38,00
5	4	1	0	17,00	6,40	46,00
5	4	2	0	22,00	8,80	56,00
5	4	3	0	28,00	12,00	67,00
5	4	4	0	35,00	15,00	81,00
5	5	0	0	24,00	7,80	74,00
5	5	1	0	35,00	11,00	110,00
5	5	2	0	54,00	16,00	190,00
5	5	3	0	92,00	28,00	300,00
5	5	4	0	160,00	53,00	490,00
5	5	5	0	∞	65,00	∞

Tabla 10. Caracterización de colonias de coliformes aisladas de *Anadara tuberculosa* obtenidas de exteriores del Coliseo Tumpis.

Centro de acopio	Muestreo	Código de la cepa	Color	Tamaño (mm)	Forma
Exteriores del Coliseo Tumpis	1	10 TM (10)	fucsia	2,0	Circular
		11 TM (10)	fucsia	1,0	Circular
		12 TM (10)	fucsia	1,0	Circular
		13 TM (11)	fucsia	2,0	Circular
		14 TM (10)	crema	1,0	Circular
		15 TM (10)	crema	0,5	Puntiforme
		16 TM (11)	crema	1,0	Circular
	2	2T-1	crema	1,0	Circular
		2T-2	crema	0,5	Puntiforme
		2T-3	crema	3,0	Circular
		2T-4	fucsia	3,0	Circular
		2T-5	fucsia	0,5	Puntiforme
		2T-6	fucsia	2,0	Circular
		2T-7	fucsia y halo crema	0,5	Puntiforme
		2T-8	fucsia y halo crema	1,0	Circular
		2T-9	fucsia y halo crema	2,0	Circular
		2T-10	fucsia	3,0	Circular
2T-11	fucsia	0,5	Puntiforme		
Mercado Modelo de Tumbes	1	1	fucsia	2,0	Circular
		2	fucsia	1,0	Circular
		3	fucsia	3,0	Circular
		4	crema	0,5	Circular
		5	crema	2,0	Circular
		6	crema	1,0	Puntiforme
		7	crema	0,5	Circular
		8	fucsia	3,0	Circular
		9	fucsia	2,0	Circular
		10	fucsia	1,0	Circular
		11	fucsia	0,5	Puntiforme
		12	fucsia	1,0	Circular
		13	crema	1,0	Circular
		14	crema	2,0	Circular
		15	crema	3,0	Circular
		16	fucsia	0,5	Puntiforme
		17	fucsia	0,5	Circular
		18	fucsia	1,0	Circular
2	1 MM	fucsia y halo crema	0,5	Circular	
	2 MM	crema	2,0	Puntiforme	
	3 MM	fucsia	3,0	Circular	
	4 MM	fucsia	3,0	Circular	
	5 MM	fucsia	0,5	Puntiforme	
	6 MM	fucsia	2,0	Circular	
	7 MM	fucsia y halo crema	0,5	Puntiforme	
	8 MM	fucsia y halo crema	1,0	Circular	

* Se precisa que todas las colonias tuvieron borde entero, elevación convexa, consistencia cremosa y superficie lisa



FORMATO

**AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS EN EL REPOSITORIO
INSTITUCIONAL DIGITAL**

1.- IDENTIFICACIÓN PERSONAL (datos de cada uno de los autores)

Apellidos y Nombres: Vergara Alfaro, Nicole Alessandra

DNI: 75052443

Correo Electrónico: 180364161@untumbes.edu.pe

Código del alumno: 180266142 Teléfono: 941880224

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS

Escuela Académico Profesional: Ingeniería Industrial Pesquera

Título Profesional o Grado obtenido: Ingeniera Industrial Pesquera

Autor: Vergara Alfaro, Nicole Alessandra

Asesores:

Asesora: Dra. Tessy Peralta Ortiz

Co-Asesor: Dr. Alberto Ordinola Zapata

DNI de Asesores:

Dra. Tessy Peralta Ortiz. DNI: 00239540

Dr. Alberto Ordinola Zapata. DNI: 00326333

Código ORCID de Asesores:

Dra. Tessy Peralta Ortiz. ORCID: 0000-0001-5907-7713

Dr. Alberto Ordinola Zapata. ORCID: 0000-0002-9644-0531

Título de la Tesis: Coliformes fecales en *Anadara tuberculosa* comercializada en los centros de acopio de la región Tumbes 2022.



2. TIPO DE ACCESO

- Acceso abierto*
 Acceso restringido**

Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de Tumbes una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglos de forma en la obra y difundir en el Repositorio Institucional Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso de que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

3. ORIGINALIDAD DEL ARCHIVO DIGITAL DE LA TESIS

Por el presente dejo constancia de que el CD-ROM (Archivo Word y Archivo PDF) que entrego a la Universidad, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

4. AREAS DEL CONOCIMIENTO - OCDE (Metadato Obligatorio - Repositorio Institucional)

Área: Ciencias Naturales

Sub área: Ciencias biológicas

Disciplina: Biología celular y microbiología

Fecha de Firma de Autorización: 16/05 /2023


Firma del autor que autoriza
DNI: 75052443



(*) Acceso abierto: uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

(**) Acceso restringido: el documento no se visualizará en el Repositorio.