

# DINAMICA DE LA MICROFLORA CONTAMINANTE EN EL MOLUSCO AULACOMYA ATER "CHORO" CRUDO Y PROCESADO EN CEBICHE.

## 1.—ANALISIS CUANTITATIVO.

Juana María Cocha G. y Elsa Sevillano C.

Departamento de Microbiología y Parasitología.  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

### S U M A R I O

Se ha determinado, cuantitativamente, presencia de organismos Coliformes y Enterococos en el molusco *Aulacomya ater* "choro", como índice de contaminación entérica humana, en cada etapa de su preparación hasta "cebiche".

Se han procesado 1,152 especímenes de mercados de Lima y Callao. Los resultados reportan mayores promedios de contaminación para ambos grupos microbianos, en choros crudos (etapa a), de mercados ubicados en zonas de menor higiene y mayor población.

La temperatura ambiental en meses de verano, demuestra gran incremento de esta microflora. La temperatura de cocción de la fracción previa al "cebiche" (etapa b), elimina totalmente los contaminantes, reapareciendo Coliformes en éste (etapa c), por los aditivos. El jugo de limón no actuó como bactericida eficaz.

### S U M M A R Y

We have determined quantitatively Coliforms and Enterococcus organisms in the mollusk *Aulacomya ater* "choro", as an index of human enteric contamination in each part of preparing "cebiche". There have been processed 1,152 specimens from Lima and Callao markets. We have found the highest average of contamination for both microbial groups, in choros uncooked (part a), from markets situated in places with little hygiene conditions and more population.

The environmental temperature in Summer months show us an increase of this kind of microbial organisms. The temperature of cooking from specimens before preparing "cebiche" (part b), gets to kill all the microbial forms, reappearing Coliforms (part c), as a result of the addition of condiments. The limon juice did not actuate as effective bactericid.

### INTRODUCCION

Parte de nuestra dieta alimenticia la conforma los mariscos, que como potaje favorito se consumen en "cebiche". Su demanda así preparados, ha incrementado su expendio ambulatorio sin adecuado control sanitario que garantice elementales condiciones de conservación e higiene. La contaminación microbiana va en aumento en las diferentes etapas de su manipulación, hasta llegar al consumidor; lo que implicaría peligro potencial para infecciones gastrointestinales e intoxicaciones alimenticias, de gran significado socio-económico.

Investigaciones en este sentido, son escasas en nuestro medio. Hoces (1966), en un estudio de *Mytilus magallanicus* "choro", informa el hallazgo de entéricos

patógenos. Uehara (1968), en *Aequipecten purpuratus* "concha de abanico", encuentra *Salmonella* y otros organismos de contaminación fecal. Taboada (1974), reporta la presencia de organismos Coliformes en un estudio microbiológico cuantitativo en los moluscos *Aulacomya ater* "choro", *Mesodesma donacium* "machas", *Thais chocolata* "caracol negro" y *Gari sp.* "almeja".

Nuestro estudio, está referido a determinar frecuencia de la microflora contaminante entérica en el bivalvo *Aulacomya ater* "choro" en cada etapa de su procesamiento, a través de un año de muestreo en especímenes de mercados de Lima y Callao. En esta oportunidad, sólo se realiza el análisis cuantitativo de los grupos Coliformes y Enterococos, como índice de contaminación fecal.

Se reporta que los mayores promedios de contaminación por Coliformes, se registran en choros crudos, de mercados de zonas densamente pobladas y con poca higiene, con aumento considerable de las cifras, en épocas calurosas, si las consideramos con las halladas en "cebiche"; en tanto que, las representadas para el grupo Enterococo en especímenes crudos, desaparecen en el potaje.

## MATERIAL Y METODOS

**Muestras.**—Se colectaron 1,152 especímenes frescos de choros distribuidos en 64 muestras, de los principales mercados de Lima y Callao, elegidos por Distritos. Las muestras fueron adquiridas periódicamente durante un año, en las primeras horas de la mañana, en bolsas nuevas de polietileno e inmediatamente transportadas al laboratorio, para su procesamiento. En fichas estandar, se consideró además: lugares de extracción, medios de transporte, manipuladores intermediarios, condiciones higiénicas de los mercados de expendio y del comerciante.

**Procesamiento de las muestras.**—Cada muestra de 18 especímenes, se lavó primero con agua corriente y luego con agua destilada estéril. Se separaron equitativamente 3 fracciones, como etapas de procesamiento: choros crudos (etapa a), choros cocinados (etapa b) y choros en "cebiche" (etapa c). El peso promedio de cada fracción sin valvas, correspondió a 71.25 gr.

La fracción blanda de la **etapa a**, fue asépticamente licuada en 100 ml. de solución salina peptonada (SSP) y luego analizada. Las dos fracciones restantes, fueron hervidas en agua corriente en tiempo promedio de 10 minutos; la fracción de la **etapa b**, luego licuada en 100 ml. de SSP y después analizada; mientras que fracción de la **etapa c**, fue preparada en "cebiche", antes de su licuación y tratamiento microbiológico. El encurtido "cebiche", se preparó de acuerdo a las costumbres caseras, con los aditivos (cebolla, ají verde, pimienta y limón), previamente lavados con agua estéril. En la mixtura, además sazonada con sal, se observó gran asepsia.

**Análisis Microbiológico.**—De cada una de las **etapas**, se hicieron diluciones

$10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  con SSP, Mossel y Quevedo (1967), a partir de las cuales se realizaron los cultivos.

Para cuantificación de Coliformes, se utilizaron 2 tipos de medios como métodos comparativos: Caldo Lactosado Verde Brillante Sales Biliares (CLVB) y Agar Mac Conkey (AMC) en placas petri. El primero, para determinar índice del Número Más Probable por gramo de muestra (NMP/gr), mediante el sistema de fermentación de los tubos múltiples y el segundo, para Cuentas Viables celulares por gramo de muestra (CV/gr.).

Para el análisis de Enterococos (*Streptococcus D* de Lancefield), se emplearon los medios Caldo Glucosado Azida de Sodio (CAzNA) y Caldo Etil Violeta Azida de Sodio (EVA), también, para hallar índice del Número Más Probable por Gramo de muestra (NMP/gr.). La metodología e interpretación del análisis cuantitativo para ambos grupos bacterianos, se hicieron de acuerdo a los Standard Methods for the Examination of Water and Sewage (1956) y Mossel y Quevedo (1967).

## RESULTADOS

Los resultados totales de muestras positivas por Organismos Coliformes y Enterococos en 64 muestras estudiadas (1,152 especímenes), se consignan en la **Tabla 1**.

Se observa que, en choros crudos (etapa a), el medio AMC revela Coliformes en 100% de muestras estudiadas, sobre el medio CLVB, que sólo registra positividad en 78% de las muestras. La ausencia total de estos microorganismos en choros cocinados (etapa b), es resultado de la temperatura de ebullición. No obstante, en 68.7% de las muestras en "cebiche" (etapa c), observamos reimplantación de Coliformes, cuyo origen en todo caso, sería producto de las condiciones higiénicas de agregados y preparación del encurtido. La contaminación por Enterococos, sólo se hace presente en la **etapa c**, en 12% de las muestras.

Resultados del número promedio de Coliformes en 64 muestras de choros (1,152 especímenes), en relación con los mercados de muestreo, se indican en la **Tabla 2**. Los valores registrados, varían en

función de las **etapas** de procesamiento y ubicación de los centros de expendio, de donde proceden los especímenes; en concordancia con la influencia de factores externos de contaminación. En choros crudos (etapa a), se ve que mercados de los Distritos: Rímac, El Agustino y Breña, zonas densamente pobladas, las cifras son muy elevadas; siendo el Rímac, lugar que mayor promedio registra, por ambos métodos de cuantificación. Lo contrario sucede en especial, con los centros de expendio de Jesús María y Magdalena, cuyos valores bajos, indicarían mejor salubridad. En cambio, el bajísimo promedio de mercados de Comas, no es representativo de la zona.

En choros cocinados (etapa b), se presenta resultados negativos en el total de muestras; en tanto que, en la de "cebiche" (etapa c), se reimplantan Coliformes en bajos promedios, sin relación alguna con la microflora inicialmente establecida, en choros crudos (etapa a).

Tomando en cuenta, resultados del número promedio de Coliformes en las 64 muestras estudiadas (1,152 especímenes), en función del muestreo en diferentes épocas del año (Tabla 3), observamos que en la **etapa a**, los promedios se incrementan en forma significativa en meses de verano, si comparamos con los que corresponden a meses de más baja temperatura ambiental. Cifras que aparecen mejor representadas, por Estaciones. Los Coliformes reimplantados en la **etapa de "cebiche"**, también con valores inferiores a los registrados en la **etapa de choros crudos**, no expresan tener correlación directa con la influencia de variaciones de temperatura ambiental, a través del año.

Resultados del número promedio de organismos Enterococos, en relación a mercados y a meses y estaciones del año, se ilustran en las Tablas 4 y 5, respectivamente. La dinámica de contaminación por mercados, en choros crudos (etapa a), se repite, en cuanto al Distrito Rímac, con valores idénticos a los que esta zona reporta para organismos Coliformes, por el método NMP/gr. Mercados del Callao y San Martín de Porres, expresan también promedios representativos. Sin embargo, muestras de los demás mercados de procedencia, registran

valores sin correlación con las condiciones consideradas fuentes de contaminación. La ausencia de Enterococos en la **etapa b**, también es resultado de la temperatura de cocción. No se detecta Enterococos tampoco en la **etapa c**, en el total de muestras estudiadas.

Considerando promedios de Enterococos en relación a influencia de temperatura a través del año (Tabla 5), también se observa, como en Coliformes, aumento elevado de cifras, en Enero, Febrero y Marzo (Verano). En cambio, en los meses de Otoño e Invierno, los resultados son negativos.

## DISCUSION

El estudio microbiológico realizado en **Aulacomya ater** "choro", durante las etapas de elaboración del "cebiche", en 64 muestras (1,152 especímenes) de mercados de Lima y Callao, proporciona valiosos resultados sobre dinámica de la microflora fecal contaminante de origen humano, accidentalmente implantada.

**Aulacomya ater** "choro", molusco de mayor consumo en nuestro medio, es una especie marina que habita en fondos rocosos, entre 4 y 40 metros de profundidad, a distancias entre 1 ó 4 millas de la costa. Alamo (1972). Su alimentación a base de plancton y compuestos de carbono y nitrógeno disueltos en el mar, Ageitos de Castellanos (1962), sumado al hábito de vida anterior, sirven de argumento para no considerar a este molusco como fuente natural de microorganismos de origen humano, desde sus bancos de origen.

Condiciones deficientes de extracción, transporte, almacenamiento, distribución en mercados, en los que participa directa e indirectamente el hombre, animales y medio ambiente, son vehículos importantes de implantación y difusión microbiana contaminante, como lo demuestran nuestros resultados.

La falta de estudios con el enfoque dado al nuestro, nos impide hacer comparaciones. Los pocos que se conocen, sólo refieren análisis microbiológicos en mariscos frescos, no procesados.

Organismos Coliformes y Enterococos que inicialmente se establecen en choros

frescos (etapa a) de nuestra investigación, quedan eliminados, cuando en la fase previa al encurtido (etapa b) los especímenes son sometidos a temperatura de ebullición en tiempo promedio de 10 minutos (Tablas 1 al 5). Recontaminaciones por Coliformes en el "cebiche" (etapa c), es producto de los condimentos agregados. Mossel y Quevedo (1963), Gambini (1968), sostienen que los aditivos, por efecto del transporte, almacenamiento y expendio, también acarrear microorganismos contaminantes, siendo ésta la explicación de nuestro hallazgo. Sin embargo, los promedios por debajo de los registrados en la **etapa a** y en forma fluctuante, parecen indicar que estos valores, son dependientes del tiempo de encurtido de las muestras. El jugo de limón, no actúa como bactericida eficaz, cuyo efecto fue estimado en tiempo promedio de 60 minutos. Las cifras de organismos coliformes en la **etapa de "cebiche"**, así lo demuestran.

Es remarcable el hallazgo de mayor contaminación de Coliformes en el procesamiento inicial de muestras (etapa a), que procedieron de mercados de higiene deficiente y ubicados en Distritos densamente poblados. Mercados del Rímac. El Agustino y Breña (Tabla 2), son fiel reflejo de estos resultados. Similar promedio de Coliformes debió registrar los del Distrito de Comas. La baja cifra que expresa por C. V. ( $10 \times 10^3/\text{gr.}$ ), podría ser resultado de escasas muestras, tomadas de mercados periféricos de la zona, no muy concurridos.

El estudio microbiológico en muestras tomadas periódicamente a través del año, permite establecer que la temperatura ambiental, ha sido determinante en favorecer mayor proliferación de organismos Coliformes y Enterococos, en choros crudos (etapa a), durante los meses de verano (Tablas 3 y 5). Es importante observar luego, el descenso gradual de las cuentas de Coliformes/gr., a medida que desciende la temperatura ambiental, en el año.

Uehara (1968), en el estudio que realiza en **Aequipecten purpuratus** "concha de abanico", de algunos mercados de Lima y Callao, reporta el hallazgo en casi el total de muestras, de **Escherichia coli** y **Streptococcus faecalis**, como microorga-

nismos testigos de contaminación fecal de origen humano. Sin embargo, el reducido número de muestras que estudia, con resultados no claramente ilustrados, no ayudan a establecer comparaciones. Taboada (1974), encuentra promedios bajos de Coliformes, en 5 especies de moluscos de nuestro litoral, en muestras adquiridas del Mercado Central de Lima y Terminal pesquero del Callao. El que reporta para **Aulacomya ater** "choro" de muestras de mercado ( $1,566 \text{ cél./gr.}$ ) es bastante reducido que el obtenido por nosotros ( $35 \times 10^3 \text{ cél./gr.}$ ), siguiendo igual método de cuantificación (CV/gr.). Esta diferencia puede ser producto del ajuste de promedios obtenidos por nosotros, durante el año de estudio.

En cuanto a organismos Enterococos, mayores cifras en choros crudos (Etapa a) que expresan mercados del Rímac, San Martín de Porres y Callao, son también indicativos de deficiente higiene en estas zonas. La ausencia de Enterococos en "cebiche" (etapa c), nos indica que los aditivos, no los conllevan o los albergan en forma no demostrable.

En nuestro Código sanitario de Alimentos (1963), no figuran normas microbiológicas en mariscos para el consumo humano, que refieran cifras estandar tolerables de microorganismos de contaminación fecal. Sin embargo, en otros países, como Holanda, consideran para **Escherichia coli**, cifras menor que  $10/\text{gr.}$  y para **Streptococcus del grupo D de Lancefield**, cifras menor que  $10^2/\text{gr.}$  En cuanto a Enterobacterias, el estandar tolerable equivale a menor que  $10^2/\text{gr.}$  de muestra. Buttiaux y al. (1955), refieren como valores tolerables en mariscos, para Francia, poblaciones celulares menor que  $10/\text{gr.}$ , tanto para **E. coli**, como para **Streptococcus del grupo D de Lancefield**, como testigos de contaminación fecal.

Nuestro hallazgo en choros crudos, que reporta cifras considerablemente superiores a las antes referidas, es clara evidencia de las pésimas condiciones de sanidad a que está sujeto este recurso marino, por las causas ampliamente fundamentadas. Si los especímenes procesados experimentalmente en condiciones ideales de higiene, en la etapa de "cebiche", también registran cifras de Coliformes, mayores al rango de los Es-

tándares extranjeros, no habría suficiente confianza para considerar al alimento, exento de entéricos patógenos. Más aún, si el potaje se consume de expendios ambulatorios.

En referencia a la metodología de cuantificación seguida en el estudio, se comprueba que el método de Cuentas Viables por gramo (CV/gr.) en Mac Conkey, fue más eficaz y práctico que el de Caldo Lactosado Verde Brillante (CLVB), ambos recomendados por los Standard Methods de A.P.H.A. (1963) y (1971), respectivamente. Se encuentra que, mediante el sistema de los tubos múltiples (CLVB), no siempre se forma gas, como indicativo de la presencia de Coliformes, Sevillano (1972). Por otro lado, llama la atención, la falta de correlación de resultados entre ambos métodos. Mientras que el de CV/gr. registra cifras proporcionalmente regulares, el de NMP/gr. da índices fluctuantes.

#### AGRADECIMIENTO

A la Srta. Biólogo Bertha Cisneros Gamio, docente del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su gentileza en la revisión de traducción al inglés, del sumario de este estudio.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALAMO VASQUEZ, V. - 1972. Datos Ecológicos de Moluscos de Importancia Económica en el Perú. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- AGEITOS DE CASTELLANOS, Z. - 1962. Contribución al Estudio Biológico del *Mytilus platensis*. Bouchard 722, 5c P. Buenos Aires. Argentina.
- MOSEL, D. A. y QUEVEDO, G. F. - 1967. Control Microbiológico de los Alimentos. Métodos recomendados. Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria. (CLEIBA).
- EDWARDS, P. R. and EWING, W. H. - 1969. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publishing Company, Minneapolis 15, Minnesota.
- GAMBINI BADARACCO, C. - 1968. Contribución al estudio de la flora bacteriológica en oditivos alimentarios. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- HAGAN, W. H. and BRUNNER, D. W. - 1957. The infection Disease of Domestic Animals. Comstock Publishing. Associates, Ithaca, New York. Pág. 177-180.
- HOCES ASTETE, S. - 1966. Salmonellas en choros (*Mytilus magallanicus*). Tesis de Bachiller en Oceanografía y Pesquería. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.
- SEVILLANO, Elsa - 1972. Análisis comparativo de la flora microbiana patógena en choros crudos y procesados en cebiche. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND SEWAGE. - 1956. 10th. Edition. 193.
- TABOADA, P., DORA A. - 1974. Aislamiento de Enterobacterias en Algunos Moluscos del Mar Peruano. Tesis de Bachiller en Biología. Universidad Part. "Ricardo Palma". Lima, Perú.
- UEHARA UEHARA, J. - 1968. Investigación del grupo Salmonella y Gérmenes testigo de contaminación fecal en *Aequipecten purpuratus* "concha de abanico". Tesis de Bachiller en Oceanografía y Pesquería. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.

TABLA 1

RESULTADOS GLOBALES DEL ANALISIS CUANTITATIVO MICROBIANO POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES(\*) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO".

CULTIVO	COLIFORMES						ENTEROCOCOS					
	a	%	b	%	c	%	a	%	b	%	c	%
CLVB.	50	78	0	0	0	0.0						
A.M.C.	60	100	0	0	44	68.7						
E.V.A.							18	20.12	0	0	0	0

(\*) Distribuidos en 64 muestras.

- a. Choros crudos.  
b. Choros cocinados.  
c. Choros en cebiche.

CLVB. Caldo Lactosa Verde Brillante.

A.M.C. Agar MacConkey.

E.V.A. Caldo Etil Violeta Azida de Na.

TABLA 2

NUMERO PROMEDIO DE ORGANISMOS COLIFORMES POR ETAPA EN 64 MUESTRAS (1,152 ESPECIMENES) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" EN RELACION CON LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO.

Nº de Muestras	a		b		c		D I S T R I T O S (MERCADOS)
	NMP/gr. x 10 <sup>3</sup>	CV/gr. x 10 <sup>3</sup>	NMP/gr. x 10 <sup>3</sup>	CV/gr. x 10 <sup>3</sup>	NMP/gr. x 10 <sup>3</sup>	CV/gr. x 10 <sup>3</sup>	
3	0	10	0	0	0	0.42	Comas
2	0	15	0	0	0	0.42	Jesús María
1	32	28	0	0	0	0.01	Magdalena
14	14	35	0	0	0	0.56	Lima
9	24	40	0	0	0	0.56	Callao
10	6	55	0	0	0	1.40	San Martín de Porres
2	81	66	0	0	0	0.00	Pueblo Libre
3	28	98	0	0	0	0.00	Breña
4	35	102	0	0	0	0.56	El Agustino
16	83	218	0	0	0	1.40	Rímac

NMP/gr. Número Más Probable por gramo.

CV/gr. Cuentas Viables por gramo

**TABLA 3**  
 NUMERO PROMEDIO DE ORGANISMOS COLIFORMES POR ETAPA EN 64 MUESTRAS (1,152 ESPECIMENES) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" DE LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO EN RELACION CON LOS MESES Y ESTACIONES DEL AÑO.

Nº de Muestras	a		b		c		M E S E S	ESTA- CIONES
	NMP/gr.	CV/gr. × 10 <sup>3</sup>	NMP/gr.	CV/gr. × 10 <sup>3</sup>	NMP/gr.	CV/gr. × 10 <sup>3</sup>		
2	7	31	0	0	0	4.2	Mayo	1971
2	17	77	0	0	0	2.8	Junio	"
1	0	15	0	0	0	1.4	Julio	"
3	21	24	0	0	0	1.4	Agosto	"
4	17	70	0	0	0	0.8	Setbre.	"
19	27	39	0	0	0	0.6	Octubre	"
15	31	63	0	0	0	0.7	Novbre.	"
3	48	35	0	0	0	0.7	Dicbre.	"
4	22	87	0	0	0	0.3	Enero	1972
4	55	257	0	0	0	1.4	Febrero	"
4	59	107	0	0	0	0.7	Marzo	"
3	20	20	0	0	0	0.8	Abril	"
7	13	63	0	0	0	2.7		Otoño.
8	13	37	0	0	0	1.4		Invierno
37	35	45	0	0	0	0.7		Verano
12	45	150	0	0	0	1.0		Primavera

TABLA 4

NUMERO PROMEDIO DE ORGANISMOS ENTEROCOCOS POR ETAPA EN 64 MUESTRAS (1,152 ESPECIMENES) DE *AULACOMYA ATER* "CHORO" EN RELACION CON LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO.

Nº de Muestras	N M P / g r .			D I S T R I T O S (MERCADOS)
	a	b	c	
1	0	0	0	Magdalena
3	0	0	0	Breña
4	0	0	0	El Agustino
14	3	0	0	Lima
3	4	0	0	Comas
2	7	0	0	Jesús María
9	13	0	0	Callao
10	18	0	0	San Martín de Porres
2	29	0	0	Pueblo Libre
16	74	0	0	Rímac

TABLA 5

NUMERO PROMEDIO DE ORGANISMOS ENTEROCOCOS POR ETAPA EN 64 MUESTRAS (1,152 ESPECIMENES) DE *AULACOMYA ATER* "CHORO" DE LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO EN RELACION CON LOS MESES Y ESTACIONES DEL AÑO.

Nº de Muestras	N M P / g r .			M E S E S	ESTA- CIONES
	a	b	c		
2	0	0	0	Mayo	1971
2	0	0	0	Junio	"
1	0	0	0	Julio	"
3	0	0	0	Agosto	"
4	0	0	0	Setbre.	"
19	1	0	0	Octubre	"
15	6	0	0	Novbre.	"
3	4	0	0	Dicbre.	"
4	178	0		Enero	1972
4	108	0	0	Febrero	"
4	74	0	0	Marzo	"
3	0	0	0	Abril	"
7	0	0	0		Otoño
8	0	0	0		Invierno
37	1	0	0		Primavera
12	120	0	0		Verano