

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

### 2.—ANALISIS CUALITATIVO. \*

Elsa Sevillano C. y Juana María Cocha G.

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

#### S U M A R I O

En 64 muestras (1,152 especímenes) del molusco *Aulacomya ater* "choro" de los mercados de Lima y Callao, se aislaron especies más representativas de tres principales grupos bacterianos: Entéricos, Enterococos y, además, Micrococos.

El porcentaje elevado de *Escherichia coli* en choros crudos (etapa a) y "cebiche" (etapa c) reafirman, como en el Estudio Cuantitativo, contaminación fecal humana; en menor cuantía, especies de Enterococos, únicamente en choros crudos.

Es notable la desigualdad de frecuencia de *E. coli*, Streptococcus del grupo D de Lancenfield y *Staphylococcus aureus* entre las etapas a y c; en el que este último microorganismo se manifiesta con mayor densidad en la etapa de "cebiche", como consecuencia de la manipulación de los aditivos.

#### S U M M A R Y

In 64 samples (1,152 specimens) from the mollusk *Aulacomya ater* "choro" gotten from Lima and Callao markets, It was isolated three main bacterial groups: Enteric, Streptococci and Micrococci. The high average of *E. coli*; from "choro" uncooked (part a) and "cebiche" (part c), show us, human fecal contamination as in the Quantitative Analysis. On the other hand occurs that the group Enterococci is only in "choro" uncooked.

It is important to remark the relationship between *E. coli*, Streptococcus Lancenfield group D, in each part of fixing "cebiche", besides the latter microorganisms occurs with high frequency in "cebiche" (part a) as a result of using condiments and manipulation.

#### INTRODUCCION

Esta parte del estudio corresponde a la investigación de especies más representativas de los grupos bacterianos: Entéricos, Enterococos y Micrococos, que contaminan al molusco *Aulacomya ater* "choro", en las mismas muestras estudiadas cuantitativamente en el primer reporte. Especial interés se tuvo en la búsqueda de representantes patógenos.

Referencias nacionales en este campo, tampoco son muchos, como se ha expresado en el reporte anterior. Sin embargo, Hoces (1966), reporta el hallazgo en *Mytilus magallanicus* "choro" 92% de Salmonella, cifra muy significativa si se toma en cuenta el tipo de habitat de este molusco; Uehara (1968), informa el descubrimiento del 1% de Salmonella en el estudio realizado en el molusco *Aequipecten purpuratus* "concha de aba-

nico"; y Taboada (1974), reporta 1% de *Salmonella enteritidis* serotipo Derby en el molusco *Gari sp.* "almeja".

El análisis de la frecuencia específica de microorganismos que nosotros presentamos detalladamente en este trabajo, lo hemos realizado con criterio de poder conocer en qué medida participa la microflora en cada etapa de preparación de las fracciones frescas hasta cebiche y reafirmar la influencia de los factores externos que condicionan su implantación, ya citados en el estudio Cuantitativo. Por otro lado, determinar que la densidad específica microbiana (de origen fecal) presente en la etapa final del procesamiento, si bien no es indicativa de presencia de enteropatógenos tampoco garantiza ideales condiciones de sanidad del marisco, para que su consumo en esta forma, sea el más adecuado.

\* Este trabajo forma parte de la Tesis de Bachiller de la Srta. Sevillano C.

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras analizadas fueron las mismas que las indicadas en el Estudio Cuantitativo.

Los métodos de obtención y procesamiento previos al análisis microbiológico respectivo, están detallados en el trabajo anterior.

La metodología para el aislamiento e identificación de organismos entéricos se basó en la utilidad de medios selectivos y diferenciales recomendados por Edwards y Ewing (1968); considerándose, además, los de enriquecimiento para la búsqueda de entéricos patógenos.

Para el análisis específico de Enterococos, se siguieron los recomendados por Mossel y Quevedo (1967). Y en cuanto a Micrococos se emplearon para el aislamiento primario, el medio hipertónico Staphylococcus Medium 110 (Difco). La diferenciación específica entre cepas patógenas y saprofíticas del género Staphylococcus se basó en el estudio del poder hemolítico, fermentación del manitol, coagulación del plasma sanguíneo, producción de pigmento y de gelatinasa.

## RESULTADOS

La TABLA 1, ilustra porcentajes globales del número total de cepas aisladas en 64 muestras de choros (1,152 especímenes) de los mercados de Lima y Callao, cuya proporcionalidad para los tres grupos microbianos, están referidos por separado en las etapas a y c.

En los choros crudos (etapa a) observamos que, de 265 cepas aisladas (100%), los tres grupos microbianos están bien representados, siendo los organismos entéricos, los que se hallan en mayor cifra (81.13%). En tanto que, en "cebiche" (etapa c), de 86 cepas aisladas (100%), sólo están presentes los grupos entéricos y micrococos, correspondiendo, también, la mayor proporción (82.55%) al grupo entérico. En choros cocinados (etapa b), se sabe, por el estudio Cuantitativo, que la temperatura de ebullición elimina totalmente la microflora contaminante. Su representación en ésta y demás tablas, permite mantener la secuencia de resultados de apreciación comparativa, en cada etapa de procesamiento.

En la TABLA 2 y Fig. 1, observamos notoria variedad de frecuencia de especies del grupo Entérico en las etapas a y c, considerando que sus fuentes de origen son diferentes. *Escherichia coli*, como índice de contaminación fecal, está representada en ambas etapas.

Las cepas de *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus zymogenes* y *Streptococcus* sp. del Grupo D de Lancefield (TABLA 4 y Fig. 2) se hacen presentes en las etapas de choros crudos, cuya mayor cifra (55.55%) corresponde a la primera de las nombradas.

Importante es el hallazgo de *Staphylococcus aureus* (grupo Micrococo) en las etapas a y c (TABLA 5 y Fig. 3), que, conjuntamente con *Staphylococcus albus*, registran igual proporción (34.3%) sólo en la etapa a.

La frecuencia comparativa, tal como aparecen las especies de los grupos Entérico y Micrococo entre las etapas a y c, se indican en las TABLAS 3 y 6, respectivamente. Marcada desigualdad de valores registran *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morganii* y *Proteus rettgerii* (TABLA 3), como también es el caso de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus albus* (TABLA 6).

La TABLA 7 y Fig. 4, ilustran resultados de los microorganismos de mayor significado en salud pública que contaminan las fracciones de choros crudos (etapa a) y procesados en cebiche (etapa c). Mientras que en la etapa a, *E. coli* está presente en 65.33%, en la etapa c, sólo alcanza el 25%. Lo contrario sucede con las cepas de *Staphylococcus aureus*, donde el mayor porcentaje está representado en la etapa de "cebiche".

## DISCUSION

De los tres grupos microbianos elegidos en este estudio, los Entéricos expresan los máximos valores, tanto en la etapa a (81.13%) como en la etapa c (82.55%) (TABLA 1). Su presencia muestra claramente la participación de diversos factores de contaminación fecal. Le sigue en frecuencia el grupo Micrococo, en ambas etapas; mientras que Enterococo se expresa, exclusivamente, en la etapa a, alcanzando cifras menores, Sevillano (1972).

Especies del grupo Entérico (TABLA 3), que alcanzan mayores porcentajes son: **Escherichia coli** (98%), **Enterobacter** sp. (65.7%), **Proteus vulgaris** (80%), **Proteus mirabilis** (85.71%), **Proteus morgani** (100%), **Proteus rettgerii** (100%) y **Klebsiella** sp. (55.55%). Taboada (1974), en un estudio realizado en **Aulacomya ater** "choro", refiere, igualmente, el hallazgo de **Escherichia coli**, **Proteus**, **Klebsiella**, **Enterobacter**, **Citrobacter** y **Serratia**; sin embargo, no precisa porcentajes que nos permitan establecer comparaciones. De todos modos, hay marcada evidencia de contaminaciones accidentales de este molusco.

En choros cocinados (etapa b), la microflora contaminante se elimina totalmente por acción de la temperatura de ebullición. Vilcapoma (1965), sostiene que los microorganismos no esporulados en general, cualquiera sea su origen, se destruyen al someter los alimentos a altas temperaturas.

En "cebiche" (etapa c) varía considerablemente la frecuencia específica de los Entéricos, con aumento, disminución o desaparición de algunas. Las cifras, en este caso, están en relación directa con el grado de contaminación de los aditivos, ya discutidos en el estudio cuantitativo. Por otro lado, si estas especies no son de gran significado patógeno, en determinadas circunstancias, pueden desencadenar cuadros intestinales diarreicos en el hombre y animales, como lo sostienen Hagan y Brunner (1967) y Guillén (1968).

En nuestro estudio, no se logra aislamiento de entéricos patógenos (**Salmonella** y **Shigella**). En este aspecto, nuestros resultados coinciden con Morales (1970); sin embargo, Hoces (1966), refiere el hallazgo de 92% de **Salmonella** en choros crudos del molusco **Mytilus magallanicus** "choro"; no obstante ser una cifra alarmante, su explicación radica en que esta especie, en nuestro litoral, habita en zonas rocosas próximas a desembocaduras de desagües. Uehara (1968), también refiere haber encontrado **Salmonella** 1% en el molusco **Aequipecten purpuratus** "concha de abanico". Taboada (1974),

reporta el hallazgo de 1% de **Salmonella enteritidis** serotipo Derby en el molusco **Gari** sp. "almeja".

Respecto al grupo Enterococo, las especies **Streptococcus faecalis**, **Streptococcus durans** y **Streptococcus zymogenes** (TABLA 4 y Fig. 7), sólo aparecen en choros crudos (etapa a); quiere decir, que la sensibilidad de estas especies a los efectos de cocción y encurtido es manifiesta, comparada con la de los otros microorganismos aislados. Wannamaker (1954) y Zinsser (1972), sostienen que el grupo Enterococo puede desencadenar dolencias intestinales y, en ciertos casos, endocarditis bacteriana subaguda. Según nuestro estudio, este tipo de riesgo no se alcanzaría al consumo de "cebiche" de choros, por las razones antes expuestas.

La presencia de **Staphylococcus aureus**, coagulasa positiva en choros crudos (78.66%) y en el "cebiche" (21.4%), nos indican precarias condiciones de higiene de los que manipulan el molusco durante su expendio y, por igual motivo, los aditivos agregados en el "cebiche"; Tager (1954) y Echevarría (1967), refieren que este organismo como parte de la microflora contaminante de alimentos frescos, podría tener significado patógeno y, en consecuencia, desencadenar intoxicaciones alimenticias en el hombre y animales.

En la TABLA 7, es importante remarcar que, si bien **E. coli** expresa cifras de 65.33% en choros crudos (etapa a), en "cebiche" (etapa c) la cifra baja a 25%; lo contrario sucede con **Staphylococcus aureus** que registra 75% en "cebiche" (etapa c) y 14.66% en choros crudos (etapa a). Clara evidencia que la mayor contaminación de aditivos es consecuencia de los manipuladores de su expendio. Del Aguila (1962) y Gambini (1968), en estudios realizados en Aditivos, reportan la presencia de éstos y otros microorganismos de gran significado patógeno.

**Streptococcus** del grupo D de Lancefield que registra 20% en choros crudos (etapa a), su ausencia en etapas b y c es resultado de apreciaciones anteriormente fundamentadas.

## 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

- DEL AGUILA ACOSTA, C. - 1962. Aditivos de los alimentos bajo la forma de condimentos. Tesis de Bachiller. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- EDWARDS, P. R. and EWING, W. H. - 1969. Identification of Enterobacteriaceae. Burges Publishing Company. Minneapolis 15, Minnesota.
- ECHEVARRIA, Q. V. - 1967. Estudio Comparativo de cinco Métodos para recuento de Staphylococcus patógenos en Alimentos. Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- GUILLEN ZAVALA, Z. - 1966. Investigación de Staphylococcus patógenos y gérmenes de la familia Enterobacteriaceae en Harina de pescado. 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 chorros (*Mytilus magallanicus*). Tesis de Bachiller en Oceanografía y Pesquería. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.
- MORALES DE NAVAS, L. - 1970. Estudio Microbiológico de los cebiches de expendio público en Guayaquil. Revista Ecuatoriana de Higiene y Medicina Tropical. 27:19-66.
- MOSSEL, D. A. y QUEVEDO, G. F. - 1967. Control Microbiológico de los alimentos. Métodos recomendados. Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria. (CLEIBA).
- SEVILLANO, E. - 1972. Análisis comparativo de la flora microbiana patógena en charos crudos y procesados en cebiche. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- 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.
- TAGER, M. - 1954. Staphylococcus coagulasa. Bull. N. Y. Acad. Med. 30:475.
- 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.
- VILCAPOMA SEGOVIA, A. - 1965. Análisis Bacteriológico de la Harina de Pescado durante los procesos de elaboración y de Almacenamiento. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- WANNAMAKER, L. W. - 1954. Streptococcal Infections. New York, Columbia University Press, P. 157.
- ZINSSER, - 1970. Bacteriología. 14th. Edition.

TABLA 2

PORCENTAJES DE ESPECIES DE ORGANISMOS ENTERICOS AISLADOS POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES(\*) DE *AULACOMYA ATER* "CHORO" DE LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO.

ESPECIE Y GENERO	a		b		c	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	49	22.79	0	0	1	1.40
<i>Escherichia</i> sp.	8	3.72	0	0	0	0.40
<i>Citrobacter</i> sp.	36	16.74	0	0	26	36.62
<i>Enterobacter</i> sp.	11	5.11	0	0	6	8.45
<i>Enterobacter hafniae</i>	9	4.18	0	0	13	18.31
<i>Klebsiella</i> sp.	5	2.32	0	0	4	5.63
<i>Proteus vulgaris</i>	52	24.18	0	0	13	18.31
<i>Proteus mirabilis</i>	30	13.95	0	0	5	7.04
<i>Proteus morgani</i>	12	5.58	0	0	0	0.00
<i>Proteus rettgerii</i>	1	0.46	0	0	0	0.00
<i>Serratia</i> sp.	2	0.93	0	0	3	4.22
<b>T O T A L</b>	<b>215</b>	<b>100.00</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>71</b>	<b>100.00</b>

(\*) Distribuidos en 64 muestras.

TABLA 3

PORCENTAJE PROMEDIO DE LA DENSIDAD DE ESPECIES DE ORGANISMOS ENTERICOS AISLADOS POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES(\*) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" CRUDOS EN RELACION CON LOS PROCESADOS EN CEBICHE.

MICROORGANISMOS (Géneros y especies)	Nº de cepas	a	b	c
<b>Escherichia coli</b>	50	98.00	0	2.00
<b>Escherichia sp.</b>	8	100.00	0	0.00
<b>Citrobacter sp.</b>	62	58.06	0	41.00
<b>Enterobacter sp.</b>	17	64.70	0	35.70
<b>Enterobacter hafniae</b>	22	40.90	0	59.10
<b>Klebsiella sp.</b>	9	55.55	0	44.45
<b>Proteus vulgaris</b>	65	80.00	0	20.00
<b>Proteus mirabilis</b>	35	85.71	0	14.29
<b>Proteus morgani</b>	12	100.00	0	0.00
<b>Proteus rettgerii</b>	1	100.00	0	0.00
<b>Serratia sp.</b>	5	40.00	0	60.00

(\*) Distribuidos en 64 muestras.

TABLA 4

PORCENTAJE DE ESPECIES DE ORGANISMOS ENTEROCOCOS(\*) AISLADOS POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES (\*\*) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" DE LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO.

ORGANISMOS	a		b		c	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Streptococcus faecalis</b>	10	55.5	0	0	0	0
<b>Streptococcus durans</b>	3	16.6	0	0	0	0
<b>Streptococcus zymogenes</b>	2	11.1	0	0	0	0
<b>Streptococcus sp.</b>	3	16.6	0	0	0	0
<b>T O T A L</b>	<b>18</b>	<b>100.0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

(\*) Streptococcus del Grupo D de Lancefield.

(\*\*) Distribuidos en 64 muestras.

TABLA 5

PORCENTAJE DE ESPECIES DE LA FAMILIA MICROCOCCACEAE AISLADAS POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES(\*) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" DE LOS MERCADOS DE LIMA Y CALLAO.

ORGANISMOS	a		b		c	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Staphylococcus aureus</b>	11	34.3	0	0	3	20.0
<b>Staphylococcus albus</b> (alfa hemolítico)	3	9.3	0	0	0	0.0
<b>Staphylococcus albus</b> (no hemolítico)	11	34.3	0	0	10	66.6
<b>Sarcina</b> sp.	7	21.9	0	0	2	13.3
<b>T O T A L</b>	<b>32</b>	<b>100.0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>100.0</b>

(\*) Distribuidos en 64 muestras.

TABLA 6

PORCENTAJE PROMEDIO DE LA DENSIDAD DE ESPECIES DE LA FAMILIA MICROCOCCACEAE AISLADAS POR ETAPA EN 1,152 ESPECIMENES(\*) DE **AULACOMYA ATER** "CHORO" CRUDOS (ETAPA A) EN RELACION CON LOS PROCESADOS EN CEBICHE (ETAPA C).

ORGANISMOS	Nº de cepas	a	b	c
<b>Staphylococcus aureus</b>	14	78.6	0	21.4
<b>Staphylococcus albus</b> (alfa hemolítico)	3	100.0	0	0.0
<b>Staphylococcus albus</b> (no hemolítico)	21	52.4	0	47.6
<b>Sarcina</b> sp.	9	77.7	0	22.3

(\*) Distribuidos en 64 muestras.

TABLA 7

PORCENTAJE PROMEDIO COMPARATIVO DE ESPECIES MAS REPRESENTATIVAS DE ORIGEN HUMANO QUE CONTAMINAN AL MOLUSCO **AULACOMYA ATER** EN LAS ETAPAS a y c.

GENERO O ESPECIE	a		b		c	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Escherichia coli</b>	49	65.33	0	0	1	25.00
<b>Streptococcus</b> Grupo D de Lancefield	15	20.00	0	0	0	0.00
<b>Staphylococcus aureus</b>	11	14.66	0	0	3	75.00
<b>T O T A L</b>	<b>75</b>	<b>100.00</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>100.00</b>

(Nº) Número de cepas.

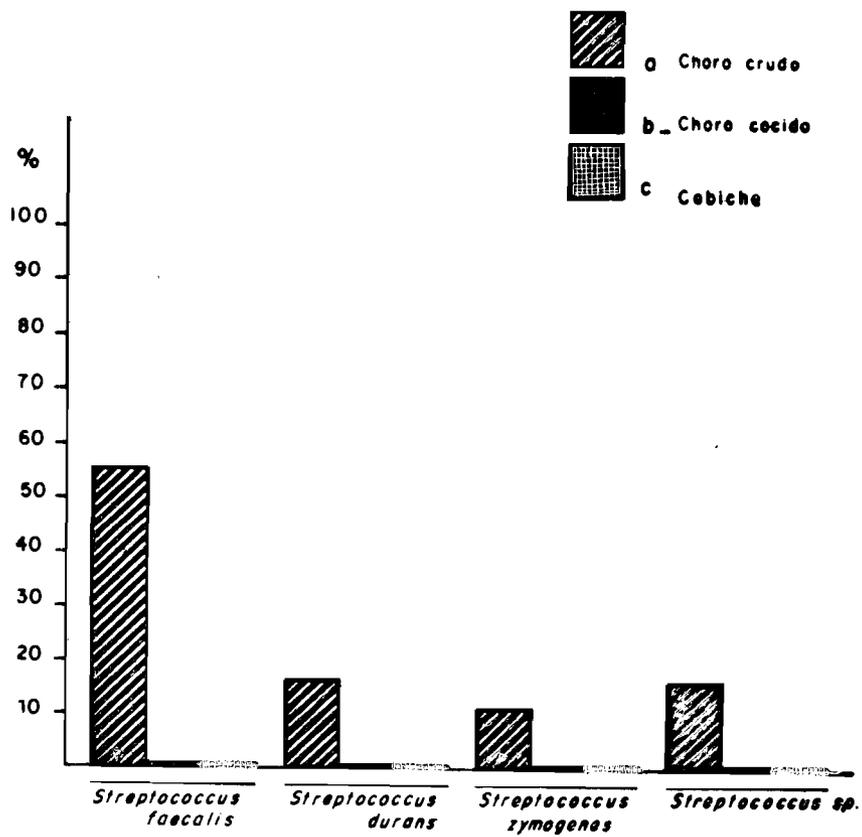


Fig. 2.- Porcentajes de especies de Enterococos aislados en 64 muestras de choros

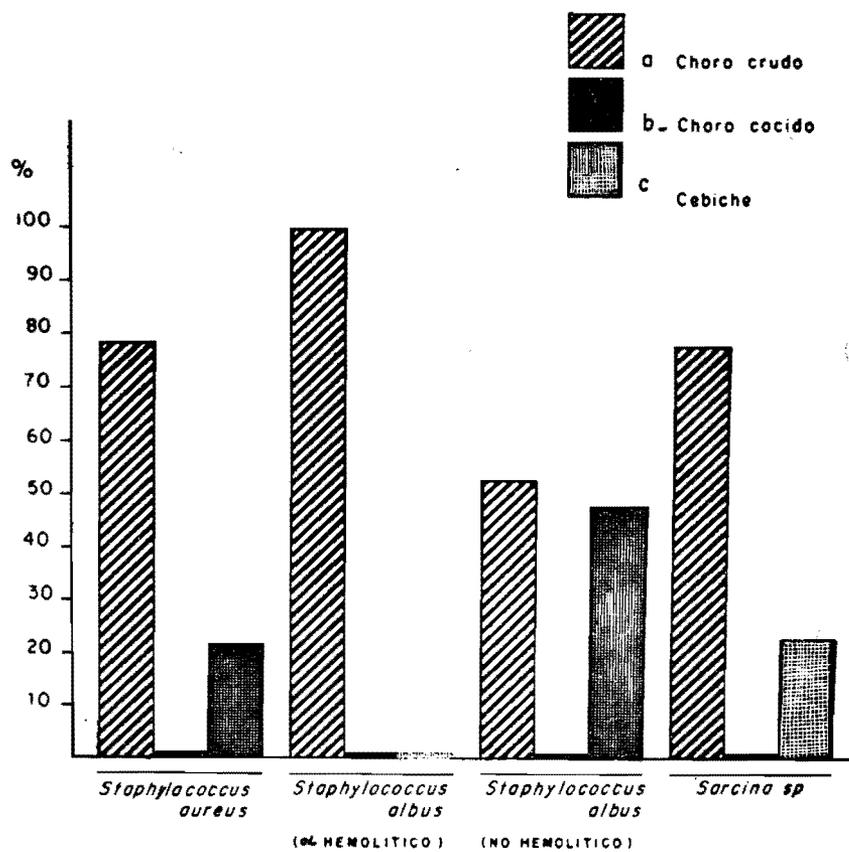


Fig. 3.— Porcentajes individuales de especies de la Familia Micrococcaceae aislados en 64 muestras de choros

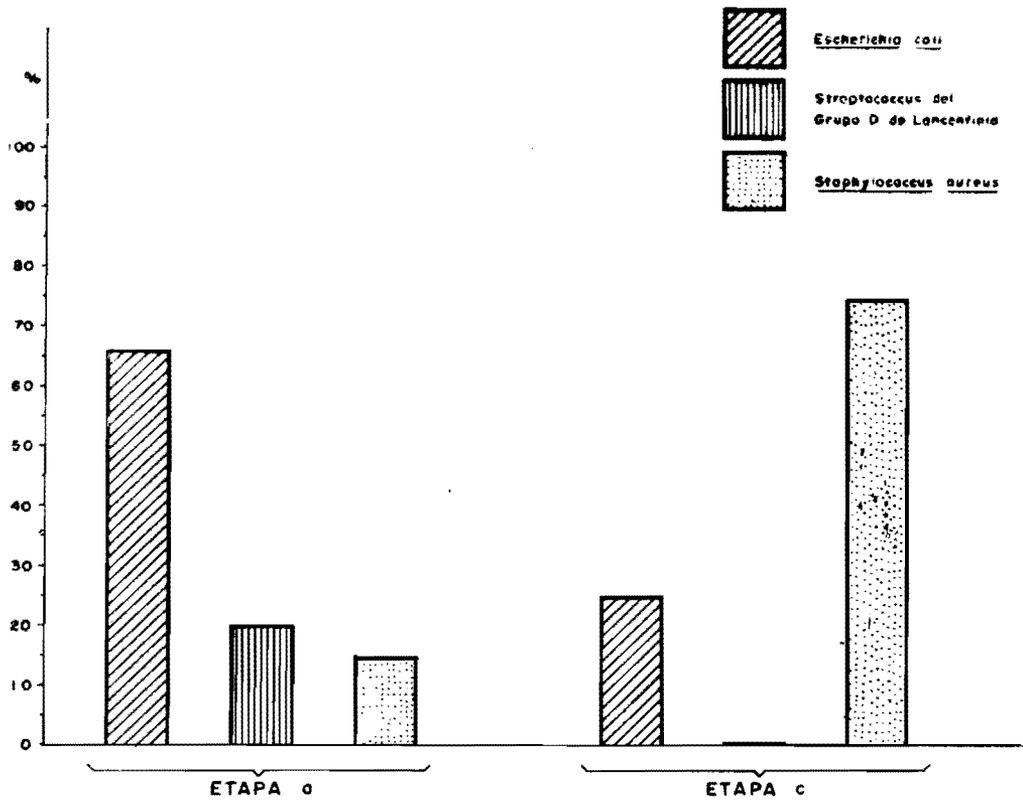


FIG. 4 PORCENTAJE PROMEDIO COMPARATIVO DE CONTAMINACION POR GENERO Y ESPECIES MAS REPRESENTATIVAS DE ORIGEN HUMANO EN CHOROS CRUDOS (ETAPA a) Y CEBICHE (ETAPA c)