

## Calidad microbiológica de la masa de cobo (*Lobatus gigas*) procesada por industrias pesqueras cubanas

### *Microbiological quality of the queen conch dough (Lobatus gigas) processed by Cuban fishing industries*

WHITNEY SIXELA RODRÍGUEZ-FUERTES, MARÍA CARIDAD VALLADARES-BÁEZ, YENISSET FUMERO-ACOSTA, RAQUEL SILVEIRA-COFFIGNY Y OXALIS RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ

Centro de Investigaciones Pesqueras. Calle 246 No. 503 entre Sta. Avenida y Mar, Rpto. Barlovento, Municipio Playa, CP 19100, La Habana, Cuba, E-mail: whitney.rodriguez@cip.alinet.cu

#### RESUMEN

El cobo (*Lobatus gigas*) es un importante recurso pesquero para Cuba y el Caribe debido a su relevancia económica. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de la masa de cobo procesada por industrias pesqueras cubanas durante el período 2017-2019. Para ello se determinaron por cada año los microorganismos indicadores: microorganismos a 30 °C (NC ISO 4833-1: 2014), *E. coli* (NC ISO 7251: 2011) y microorganismos patógenos: *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* (UNE-EN ISO 21872: 2018) y *Salmonella* spp. (NC ISO 6579-1: 2019). Los resultados se compararon con los criterios microbiológicos establecidos en la NC 585: 2017. En los años 2017, 2018 y 2019 se analizaron 40, 35 y 45 muestras respectivamente. Durante el período analizado el indicador con mayores resultados no conformes de acuerdo con la norma cubana NC 585: 2017 fue el de microorganismos a 30 °C. Los conteos de *E. coli* estuvieron dentro de los límites establecidos por la Norma. Las muestras analizadas en los tres años dieron ausencia de microorganismos patógenos.

Palabras clave: masa de cobo, microorganismos a 30 °C, microorganismos patógenos, calidad microbiológica.

#### ABSTRACT

The queen conch (*Lobatus gigas*) is an important fishery resource for Cuba and the Caribbean due to its economic relevance. The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of the queen conch processed by Cuban fishing industries during the 2017-2019 period. For this, the indicator microorganisms were determined for each year: microorganisms at 30 °C (NC ISO 4833-1: 2014), *E. coli* (NC ISO 7251: 2011) and pathogenic microorganisms: *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* (UNE-EN ISO 21872: 2018) and *Salmonella* spp. (NC ISO 6579-1: 2019). The results were compared with the microbiological criteria established in NC 585: 2017. In the years 2017, 2018 and 2019, 40, 35 and 45 samples were analyzed, respectively. During the analyzed period, the indicator with the highest non-compliant results according to the Cuban standard NC 585: 2017 was that of microorganisms at 30 °C. The *E. coli* counts were within the limits established by the Standard. The samples analysed in the three years gave absence of pathogenic microorganisms.

Keywords: cobo dough, microorganisms at 30 °C, pathogenic microorganisms, microbiological quality.

## INTRODUCCIÓN

El cobo (*Lobatus gigas*) es un molusco gasterópodo de la familia Strombidae, que tiene una concha gruesa y pesada. Su coloración varía desde blanco a marrón claro (Pérez, 2012). Es uno de los principales recursos pesqueros en la región del Caribe en términos de niveles de capturas anuales. Su distribución geográfica abarca el golfo de México, el mar Caribe insular y continental, la Florida, las Bahamas y más al norte hasta las islas Bermudas (Formoso, 2015).

Económicamente, el cobo ha sido uno de los recursos pesqueros más importantes del Caribe durante muchos años y objeto de explotación a gran escala. El comercio internacional está encaminado a satisfacer la demanda de carne y en menor medida existen mercados para sus conchas y perlas naturales (Álvarez-León *et al.*, 2007).

La microbiología de productos pesqueros se enfoca al ámbito del producto y su biota propia relacionada especialmente con la del agua, la que adquiere del medio ambiente y por efecto del procesamiento aplicado. Luego de su captura, en los productos pesqueros se producen desequilibrios metabólicos, entre otros, la diferencia de temperatura entre el hábitat y el medio ambiente externo, cambios sucedidos por el deterioro enzimático, el cual precede el ablandamiento e hidrólisis de tejidos facilitando el sustrato para el desarrollo microbiano (Ayala, 2016).

Actualmente se usa la detección de microorganismos indicadores para: revelar contaminaciones excesivas en alimentos, métodos antihigiénicos de fabricación, contaminación de origen fecal, nasofaríngea o supurativa, condiciones incorrectas de almacenamiento en lo relativo al tiempo o a la temperatura y fallas en el procesamiento de los alimentos (Acosta *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de la masa de cobo procesada por industrias pesqueras cubanas durante el período 2017-2019.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo durante el período 2017-2019 evaluando muestras de masa de cobo procedentes de dos industrias pesqueras cubanas. En los años 2017, 2018 y 2019 se analizaron 40 muestras (25 de la industria 1 y 15 de la industria 2), 35 muestras (20 de la industria 1 y 15 de la industria 2) y 45 muestras (30 de la industria 1 y 15 de la industria 2) respectivamente. Los productos fueron conservados en congelación hasta el momento de la ejecución de los análisis.

A cada muestra se le determinaron los indicadores microbiológicos establecidos en la NC 585: 2017:

1. Microorganismos a 30 °C según la NC ISO 4833-1: 2014.  
Se pesaron 11 g de muestra y se le añadieron 99 mL de solución salina peptonada. Se utilizó el método de siem-

bra a profundidad y se le añadió el medio de cultivo Agar para Conteo en Placa. Las placas se incubaron durante 72 h.

2. *Escherichia coli* según la NC ISO 7251: 2011.

Se preparó una serie de nueve tubos (tres con caldo lactosado doble y seis con caldo lactosado simple). A partir de la suspensión inicial, se realizó la transferencia de las alícuotas a los tubos. Después de incubados a  $37 \pm 1$  °C por  $48 \pm 2$  h se seleccionaron los tubos fermentados y fueron tomadas dos asadas para su confirmación en medio selectivo EC. Transcurridas las 48 h de incubación, de los tubos fermentados se transfirieron dos asadas a tubos con medio de Agua de Triptona y se incubaron a  $44 \pm 1$  °C por  $24 \pm 2$  h. Posterior a la incubación se realizó el revelado de los resultados positivos con el reactivo de Kovacs.

3. *Salmonella* spp. según la norma NC ISO 6579-1: 2019.

Se realizó un pool de 25 g de muestra por industria y se le añadieron 225 mL de Agua de Peptona Bufferada. Se sembró por agotamiento en placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y CromoCen SC y se incubaron durante 24 h a 37 °C. Las colonias presuntivas se identificaron mediante pruebas bioquímicas y serológicas descritas en la norma.

4. *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* según UNE-EN ISO 21872: 2018.

Se realizó un pool de 25 g de muestra por industria y se le añadieron 225 mL de Agua de Peptona Alcalina. Se sembró por agotamiento en placa de con medio Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), que fueron incubadas a  $37 \pm 1$  °C por  $24 \pm 3$  h. Se seleccionaron las colonias típicas para *V. parahaemolyticus* y para *V. cholerae*. La identificación se realizó mediante las pruebas bioquímicas descritas en la norma.

Los resultados obtenidos de microorganismos fueron procesados en el programa estadístico Microsoft Excel.

## RESULTADOS

La figura 1 muestra la media de los conteos de microorganismos a 30 °C obtenidos durante el procesamiento de las 40 muestras de masa de cobo en el año 2017. El 100 % de las muestras procesadas por ambas industrias arrojaron resultados no conformes ya que sobrepasaron el rango establecido por la NC 585: 2017 ( $n = 5$   $c = 2$  entre  $10^5$ - $10^6$  ufc/g).

En la figura 2 se muestran las medias de los conteos de microorganismos a 30 °C en el año 2018. De las 35 muestras analizadas solo 19 no cumplieron con lo establecido en la NC 585: 2017 para dicho parámetro. Esto correspondió a un 54,3 % de inconformidad en dicho año, perteneciendo un 40 % a la industria 2, la cual obtuvo valores en los órdenes de  $10^5$  y  $10^6$  ufc/g.

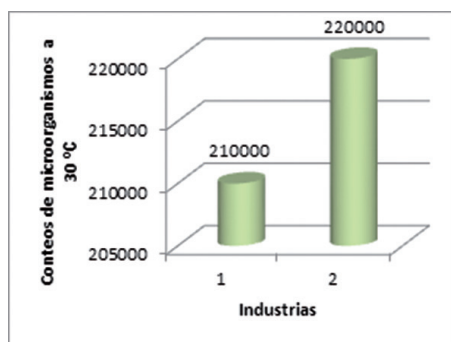


Fig. 1. Comparación de los valores medios de los conteos de microorganismos a 30 °C en dos industrias procesadoras de cobo en el año 2017.

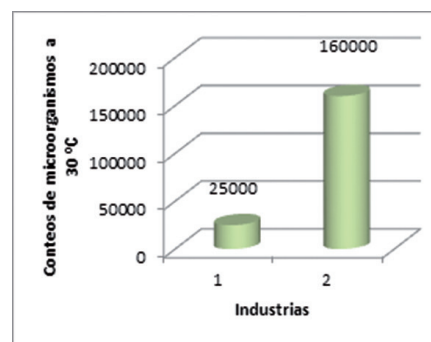


Fig. 2. Comparación de los valores medios de los conteos de microorganismos a 30 °C en dos industrias procesadoras de cobo en el año 2018.

En el año 2019 se analizaron 45 muestras de masa de cobo. El 65,7 % de las muestras no cumplieron con lo especificado para dicho indicador de higiene. Todas las muestras

con resultados superiores a los establecidos por la NC 585 pertenecieron a la industria 1, la cual obtuvo valores en el rango de  $10^5$  ufc/g, como se muestra en la figura 3.

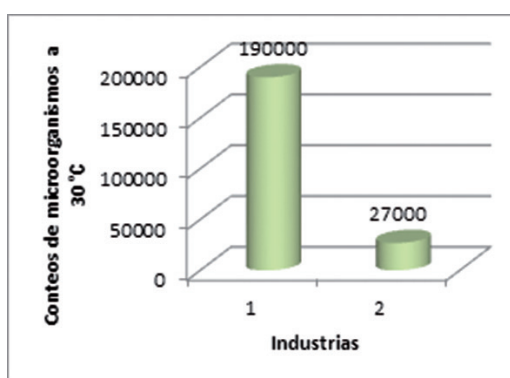


Fig. 3. Comparación de los valores medios de los conteos de microorganismos a 30 °C en dos industrias procesadoras de cobo en el año 2019.

La tabla 1 muestra los resultados de las determinaciones de *E. coli*, *Salmonella* y *Vibrios* de ambas industrias durante los años 2017, 2018 y 2019.

Tabla 1. Conteos de *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Vibrios* spp. en dos industrias procesadoras de cobo durante el período 2017-2019

Año	Industria	<i>E. coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Vibrios</i> spp.
2017	1	0	Ausencia	Ausencia
	2	0	Ausencia	Ausencia
2018	1	0	Ausencia	Ausencia
	2	0,2	Ausencia	Ausencia
2019	1	0,2	Ausencia	Ausencia
	2	0,18	Ausencia	Ausencia

Como se puede observar los resultados de los análisis de *E. coli* se encontraron dentro del rango establecido por la norma ( $n = 5$   $c = 2$  entre 2,3 y 7 NMP/g). Todas las muestras analizadas dieron ausencia de *Salmonella* y *Vibrio*, lo que demuestra que el producto está libre de microorganismos patógenos.

## DISCUSIÓN

Durante los 3 años la industria 1 presentó un comportamiento irregular en los conteos obtenidos de microorganismos a 30 °C. En el año 2017 obtuvo resultados elevados en correspondencia con los límites especificados por la NC 585; sin embargo, en el año 2018 se observó una mejoría con respecto al año anterior, obteniéndose valores de un orden logarítmico menor. Este resultado refleja que hubo una mejor calidad sanitaria en el producto analizado, y en la forma de manipulación durante el proceso de obtención. En este sentido, resulta notable que durante el año 2019 hubo un aumento significativo con respecto al año anterior. Estos niveles relativamente elevados de aerobios mesófilos en los moluscos están constituidos principalmente por la biota natural ambiental, que depende de la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la calidad del agua donde se desarrollan (López-Mendoza et al., 2016).

En la industria 2 durante los años 2017 y 2018 los conteos obtenidos arrojaron resultados no conformes, no obstante, en los resultados obtenidos en el año 2018 se vio una disminución en un 27 % con respecto al año anterior. De modo particular los valores obtenidos en el año 2019 estuvieron en el orden de  $10^4$  ufc/g, lo que demostró que, evidentemente, con el transcurso de los años los conteos de microorganismos a 30 °C tendieron a disminuir, lo que pudo haber estado influenciado por la puesta en marcha de las buenas prácticas de manufactura.

Algunos estudios han caracterizado la diversidad microbiana del *Lobatus gigas* asociados con caracoles silvestres, en cautiverio, además de la diversidad presente en algunos tejidos del caracol (Acosta et al., 2009; Pérez, 2012; Higuera-Valencia et al., 2018). Los resultados obtenidos en este estudio no coinciden con Acosta et al. (2009) quienes obtuvieron valores del orden  $10^7$  ufc/g para muestras de cobos silvestres.

Los criterios microbiológicos que implican *E. coli* son útiles para aquellos casos donde es aconsejable determinar una posible contaminación fecal, ya que esta bacteria forma parte de la biota intestinal normal del ser humano y de otros animales. Los resultados del análisis de *E. coli* estuvieron dentro del rango establecido por la NC 585 ( $n = 5$ ,  $c = 2$  entre 2,3-7 NMP/g). Son pocos los estudios que reflejan la presencia de *E. coli* en moluscos gasterópodos. Sin embargo, Téllez et al. (1999), López-Mendoza et al. (2016) y Márquez (2017)

determinaron la calidad microbiológica en otros moluscos marinos donde reportaron valores de *E. coli*. de 14 NMP/mL, 1 NMP/g 2,3 NMP/g respectivamente. Estos valores son superiores a los encontrados en las muestras de cobo evaluadas en este estudio.

En cuanto al género *Salmonella*, no se detectó su presencia en ninguna de las muestras analizadas cumpliendo de esta forma con lo establecido por la NC 585: 2017. Estos resultados fueron similares a los reportados por Téllez et al. (1999) y Márquez (2017), quienes obtuvieron ausencia total de este microorganismo en las muestras analizadas de moluscos congelados, resultado que difiere con lo obtenido por López-Mendoza et al. (2016), quienes detectaron la presencia de *Salmonella* en diez muestras de moluscos bivalvos. El género *Salmonella* es uno de los patógenos más temidos en alimentos marinos, dada su virulencia y habilidad para sobrevivir en gran variedad de condiciones de estrés por largos períodos de tiempo (González et al., 2009). Según Martínez et al. (2003) la presencia de *Salmonella* en sistemas acuáticos se atribuye a las descargas de aguas en zonas costeras, las cuales representan un foco de contaminación permanente.

El género *Vibrio* podría tener un rol como componente de la microbiota asociada al caracol Pala (Vandenberghe et al., 2003). Ejemplo de esto fueron los resultados obtenidos por Acosta et al. (2009) en muestras de caracoles silvestres, las cuales presentaron crecimiento en el medio TCBS, indicando que las bacterias pertenecientes a la familia Vibronacea fueron dominantes, resultado que se confirmó por el análisis molecular de las colonias analizadas. Por otra parte López-Mendoza et al. (2016) detectaron la presencia de *Vibrio* spp. en siete de los lotes de los moluscos analizados. Aunque debido a la posibilidad de ocurrencia, la determinación de la presencia de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* está establecida para la mayoría de los productos pesqueros en la NC 585: 2017, en las muestras de cobo estudiadas no se detectaron ninguna de las dos especies de *Vibrios* cumpliendo con la normativa vigente para este tipo de producto.

## CONCLUSIONES

- Las muestras de masa de cobo procesadas por la industria 1 y la industria 2 presentaron resultados conformes para microorganismos a 30 °C en los años 2018 y 2019 respectivamente.
- El comportamiento de los valores obtenidos del análisis de *E. coli* estuvo dentro del rango establecido por la NC 585 para este tipo de producto.
- Se observó la ausencia de microorganismos patógenos en las muestras analizadas en los tres años.

## REFERENCIAS

- Acosta, E., Gómez, E., Romero, M., Cadavid, G. & Moreno, C. (2009). Identificación molecular de poblaciones bacterianas asociadas al caracol pala (*Strombus gigas*) del Caribe colombiano. *Acta biológica colombiana*, 14(2), 69-84.
- Álvarez, R., Gutiérrez, F., Ospina, J. & Chiquillo, E. (2007). El caracol de pala (*Strombus gigas* Linnaeus, 1758) en el Caribe colombiano: revisión monográfica. *Boletín científico de la Universidad de Bogotá*, 11, 301-332.
- Ayala, M. (2016). *Microbiología de productos pesqueros (I)*. Tecnológico Pesquero del Perú. Disponible en: <http://www.oannes.org.pdf>
- Formoso, M. (2015). Manejo pesquero sostenible del cobo *Strombus gigas* (Linnaeus, 1758, Mollusca, Caenogastropoda) en Cuba. *Rev. Cub. Inv. Pesq.*, 32(1), 1-5.
- González, M., Grau, C., Villalobos, L., Gil, H. & Vásques-Suárez, A. (2009). Calidad microbiológica de la ostra *crassostrea rhizophorae* y aguas de extracción. *Maracaibo*, 19(6).
- Higueta-Valencia, M., Montoya, O., Márquez, E. & Moreno, C. (2018). Estructura de la comunidad bacteriana en diferentes tejidos de *Lobatus gigas* silvestres (Linnaeus, 1758) de la Reserva de Biosfera Seaflower del Caribe. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 47(2), 37-62.
- López-Mendoza, M., Alonso-Sousa, S. & Alapont-Gutiérrez, C. (2016). Evaluación de la calidad microbiológica de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) depurado. *Revista Científica, FCV-LUZ, España*, 26(6), 351-358.
- Márquez, J. (2017). Determinación de la calidad microbiológica en moluscos bivalvos y agua de mar en la bahía de Sechura-Piura. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria, Lima, Perú.
- Martínez, J., Saco, M., Hernández, G., Lozano, A., García, O. & Espinosa, J. (2003). Identification of *Salmonella* serovars isolated from live molluscan shellfish and their significance in the marine environment. *Food Protectc.*, 66, 226-232.
- NC 585 (2017). Contaminantes microbianos. Requisitos Sanitarios.
- NC ISO 4833-1 (2014). Microbiología de la cadena alimentaria-método horizontal para la enumeración de microorganismos-parte 1: conteo de colonias a 30 °C por la técnica de placa vertida (ISO 4833-1: 2013).
- NC ISO 6579-1 (2019). Microbiología de la cadena alimentaria-método horizontal para la detección, enumeración y serotipificación de *Salmonella*-parte 1: detección de *Salmonella* spp. (Método de referencia) (ISO 6579-1: 2017, IDT).
- NC ISO 7251 (2011). Microbiología de alimentos de consumo humano y animal-método horizontal para la detección y enumeración de *Escherichia coli* presuntiva-técnica de número más probable (ISO 7251: 2005).
- Pérez, O. (2012). Análisis molecular de la microbiota bacteriana presente en muestras asociadas al caracol pala (*Strombus gigas*) y determinación de las actividades antibacterianas y enzimáticas de bacterias aisladas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia.
- Resolución de dirección ejecutiva No. 057 (2016). Organismo Nacional de Sanidad Pesquera. República del Perú.
- Téllez, S., Olivia, M., Ramírez de León, J. & Vázquez, M. (1999). *Revista de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, México, 3(2), 152-157.
- UNE-EN ISO 21872 (2018). Microbiología de la cadena alimentaria-método horizontal para la detección de especies potencialmente enteropatógenas *Vibrio* spp.-parte 1: detección de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* (ISO 21872-1: 2017).
- Vandenbergh, J., Thompson, F., Gómez-Gil, B. & Swings, J. (2003). Phenotypic diversity amongst *Vibrio* isolates from marine aquaculture systems. *Aquaculture*, 219, 9-2.