

UNIVERSIDAD DE CUENCA



Facultad de Ciencias Químicas Carrera de Bioquímica y Farmacia

Evaluación de la calidad microbiológica de ceviches y encebollados de pescado vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador"

Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Bioquímica/o Farmacéutica/o

AUTORES:

Erika Estefanía Merchán Pesántez

CI: 0105298293

Christian Paúl Mocha Morocho

CI: 0106628720

DIRECTORA:

Dra. Diana de Lourdes Astudillo Neira, Mgt.

CI: 0101613255

ASERORA:

Dra. Mariana Elizabeth Saá Cruz, Mgt.

CI: 0102654522

BQF. Silvia Johana Ortiz Ulloa, PhD.

CI: 0301082897

CUENCA-ECUADOR

2018



RESUMEN

En el presente estudio se llevó a cabo la evaluación de la calidad microbiológica de ceviches y encebollados de pescado expendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador, por vendedores no registrados en el catastro del GAD Municipal, en el período comprendido entre diciembre 2017-enero 2018. En total, se analizaron 6 encebollados y 32 ceviches mediante placas Compact Dry® para aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, mientras que *Salmonella* spp se determinó mediante el test Reveal 2.0. El cumplimiento o no de los parámetros microbiológicos se verificó según la norma peruana NTS No-071 MINSA/DIGESA-V-01. De las muestras analizadas se determinó que el 83,4% de los encebollados y el 90,6% de ceviches incumplieron con los criterios microbiológicos establecidos por la norma de referencia. Estos resultados sugieren un alto índice de contaminación microbiana, incluso se determinó la presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* y *V. parahaemolyticus* que podrían afectar la inocuidad del alimento y por ende, constituye un problema de salud para los consumidores.

Como complemento del trabajo de titulación se realizó una capacitación conjunta con el Control Municipal de la ciudad de Cuenca dirigida a los vendedores ambulantes de ceviches y encebollados sobre buenas prácticas de manipulación de estos alimentos con el objetivo de reforzar sus conocimientos, concientizar sobre los riesgos involucrados en la preparación de los alimentos, y consecuentemente minimizar la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos en el medio.

PALABRAS CLAVE

CALIDAD MICROBIOLÓGICA; CEVICHES; ENCEBOLLADOS; COMIDA AMBULANTE.



ABSTRACT

This study carried out the evaluation of the microbiological quality of *ceviches* and *encebollado* sold on the street informally, in Cuenca, Ecuador by vendors did not register in the GAD Municipal in the period from December 2017 to January 2018. Six *encebollados* and 32 *ceviches* were analyzed using Compact Dry® plates for aerobes mesophylls, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, while *Salmonella spp.* was determined by the Reveal 2.0 test. The compliance of the microbiological parameters was verified according to the Peruvian norm NTS No-071 MINSa / DIGESA-V-01. Among the samples of *encebollado* and *ceviches* analyzed, the 83,4% and 90,6%, respectively do not conform to the microbiological criteria established in the regulations. These results showed that the food has a high index of microbial contamination; even the presence of pathogenic microorganisms as *Salmonella spp* and *V. parahaemolyticus* that affect the safety of the food was found; therefore, it constitutes a health problem for the consumers.

As part of this project, a joint training was carried out with the “*Control Municipal*”, a public office, from Cuenca it was addressed to the street vendors of *ceviches* and *encebollados*, so it was about good practices of handling food with the aim of reinforcing their knowledge, raising awareness about the risks involved in food preparation; consequently, the idea is to minimize the occurrence of foodborne diseases in the environment.

KEYWORDS

MICROBIOLOGICAL QUALITY; *CEVICHES*; *ENCEBOLLADOS*; STREET FOOD.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	15
1. CONTENIDO TEÓRICO.....	17
1.1 Inocuidad alimentaria.....	17
1.2 Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)	17
1.2.1 Infecciones alimentarias	17
1.2.2 Intoxicaciones alimentarias.....	18
1.2.3 Toxicoinfecciones	18
1.3 Factores de riesgo de contaminación	18
1.4 Comida ambulante y su comercio en países en vía de desarrollo.....	19
1.5 Ceviche y encebollados	21
1.5.1 Ceviche de pescado	21
1.5.2 Encebollado	22
1.6 Calidad microbiológica.....	23
1.6.1 Microorganismos indicadores	23
1.6.1.1 Aerobios mesófilos.....	23
1.6.1.2 Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	24
1.6.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	24
1.6.2 Microorganismos patógenos.....	24
1.6.2.1 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	25
1.6.2.2 <i>Salmonella spp</i>	25
1.7 Buenas prácticas en los alimentos.....	25
2. METODOLOGÍA.....	27
2.1 Tipo de estudio	27
2.2 Área de estudio.....	27
2.2.1 Muestreo y tamaño de la muestra	27
2.2.2 Toma de muestra	27
2.3 Equipos, materiales y reactivos.....	28
2.4 Métodos y técnicas de análisis	28
2.4.1 Método de recuento de microorganismos en placas Compact Dry.....	28
2.4.1.1 Aerobios mesófilos.....	29



2.4.1.2 <i>Escherichia coli</i> / coliformes.....	29
2.4.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	29
2.4.1.4 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	30
2.4.2 Método Reveal 2.0 para <i>Salmonella spp</i>	30
2.5 Proceso analítico	31
2.6 Plan de capacitación.....	31
2.7 Análisis estadístico	31
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1 Encebollados	32
3.2 Ceviches.....	34
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
4.1 Conclusiones	39
4.2 Recomendaciones	39
BIBLIOGRAFÍA	40
ANEXOS.....	46
Anexo 1.....	47
Anexo 2.....	51
Anexo 3.....	63



Lista de figuras

Figura 1. Vendedor ambulante de ceviche.	22
Figura 2. Vendedor de encebollados.	23

Lista de tablas

Tabla 1. Criterios microbiológicos para alimentos hidrobiológicos precocidos y cocidos de consumo directo	26
Tabla 2. Nivel de cumplimiento de las muestras de encebollados	32
Tabla 3. Resultados de los criterios microbiológicos analizados en encebollados y su nivel de cumplimiento.....	32
Tabla 4. Nivel de cumplimiento de las muestras de ceviches	34
Tabla 5. Resultados de los criterios microbiológicos analizados para ceviches de pescado y su nivel de cumplimiento.	34



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL



Universidad de Cuenca
Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Christian Paúl Mocha Morocho en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CEVICHES Y ENCEBOLLADOS DE PESCADO VENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 06 de junio de 2018

A handwritten signature in blue ink, reading "Christian Mocha".

Christian Paúl Mocha Morocho

C.I: 0106628720



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL



Universidad de Cuenca Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Erika Estefanía Merchan Pesantez en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CEVICHE Y ENCEBOLLADOS DE PESCADO VENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 06 de junio de 2018

Erika Estefanía Merchán Pesántez

C.I: 0105298293



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca
Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo Christian Paúl Mocha Morocho autor del trabajo de titulación “**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CEVICHES Y ENCEBOLLADOS DE PESCADO VENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 06 de Junio del 2018

A handwritten signature in blue ink, reading "Christian Mocha".

Christian Paúl Mocha Morocho

C.I: 0106628720



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo Erika Estefanía Merchán Pesántez autora del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CEVICHE Y ENCEBOLLADOS DE PESCADO VENDIDOS DE FORMA AMBULANTE EN LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 06 de Junio del 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Erika", written over a horizontal line.

Erika Estefanía Merchán Pesántez

C.I.: 0105298293



Lista de abreviaturas

GAD	Gobierno Autónomo Descentralizado
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ETA	Enfermedades transmitidas por los alimentos
BPM	Buenas prácticas de manufactura
BPH	Buenas prácticas de higiene
BPA	Buenas prácticas agrícolas
n	Número de muestras
UFC	Unidad formadora de colonias
TDH	Hemolisina termoestable directa
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ESR	Instituto de Ciencia e Investigación Ambiental



AGRADECIMIENTO

Hoy se cumple una de las metas que más satisfacción y alegría nos produce, el ser bioquímicos farmacéuticos, finalizando una más de las etapas de la vida. Cabe recalcar que esto no hubiese sido posible sin la ayuda de Dios, docentes y familiares, por lo mismo, en primer lugar queremos dar gracias a Dios por darnos la oportunidad de poder formarnos profesionalmente y como seres humanos.

Agradecemos por la valiosa guía de la Dra. Diana Astudillo en nuestro trabajo de titulación, por el tiempo compartido para la realización del mismo. También damos gracias a nuestras asesoras Dra. Mariana Saá y Dra. Johana Ortiz que con su experiencia y conocimiento supieron aportar con las herramientas necesarias para lograr el desarrollo del proyecto.

Al GAD Municipal de Cuenca, gracias por el apoyo brindado al presente proyecto, a la Dra. María Augusta Idrovo por la paciencia y por las gestiones realizadas.

A nuestros familiares, por su apoyo en el día a día, por ser el empuje que nos lleva a luchar por nuestros sueños, de todo corazón gracias, esto es por ustedes.

En fin, agradecemos a todas aquellas personas que de alguna u otra manera aportaron para que se cumpliera con este proyecto de titulación y así, servir a la sociedad para el desarrollo de la misma. Que Dios los bendiga!

Erika y Christian



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a:

Dios, por darme salud y la oportunidad de vivir y poder cumplir las metas que me he propuesto, por estar conmigo en cada paso, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi mami Raquel, por su amor incondicional, por darme lo mejor de ella, por querer siempre sacar la mejor la mejor versión de mí.

A mi papi Luis, por todos sus sacrificios y esfuerzos para que yo me pueda formar como ser humano y académicamente, por creer en mí, por ser mi apoyo incondicional, por enseñarme que mis sueños son más grandes que mis miedos.

A mi Mathi, aun siendo tan pequeño eres la persona más valiente que conozco, esto es por ti peque, lo logramos. Gracias por creer en mí, y por mostrarme lo bonita que es la vida a tu lado.

A mis abuelos, Guillermo, Sabina, Rubén y Rosario que han estado conmigo siempre apoyándome y guiándome en el camino de la vida, siempre les estaré agradecida por todo lo que han hecho por mí.

A mis tíos, tías gracias por todo el apoyo brindado.

Erika



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a:

A Dios, por permitirme cumplir una meta muy importante en mi vida, crecer profesionalmente y como persona, por otorgarme las fuerzas necesarias todos los días de mi existencia, pues sin su presencia no hubiese sido posible.

A mi esposa Araceli, por ser el apoyo incondicional en la búsqueda de mis sueños y en cada acción que realizo, te agradezco por ser la compañera de mi vida con la cual puedo compartir estos momentos que me llenan de alegría y espero que sean muchos más.

A mi nena, mi pequeña Jamileth que desde que llegó a mi vida se convirtió en la luz que ilumina mi ser en cada momento difícil, a pesar de su corta edad es quien me hace optar por las mejores decisiones.

A mis cuatro padres: mami Rosa, mami Bertha, papi Julio y papi Carlos por ser mis guías y personas luchadoras, hoy les dedico este logro, más que mío es de ustedes que nunca desmayaron y dejaron de apoyarme en todas las etapas de mi vida. Mil gracias.

A mis hermanos, Marco, Diego y Valeria que han sido pilares fundamentales en todo momento desde que fuimos unos pequeños hasta ahora.

A toda mi familia, esto es nuestra meta cumplida.

Christian



INTRODUCCIÓN

Actualmente a nivel mundial existe un aumento considerable en el comercio ambulante de alimentos listos para consumir, sobre todo en países en desarrollo como Ecuador. Son varias las causas que generan dicho incremento tales como: la migración de la gente de la zona rural a la urbana, desempleo, urbanización intensa, ritmo de vida acelerado, entre otras (Food and Agriculture Organization, 2001; Rane, 2011; Moutz, Suliman & Abdalla, 2012). El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) estima que en el 2017 a nivel mundial 48 millones de personas se enfermaron por la ingesta de alimentos contaminados, y de estos 128.000 son hospitalizados y 3.000 mueren (CDC, 2018). Estas intoxicaciones producidas por la ingesta de alimentos de venta ambulante debido a la presencia de microorganismos, principalmente por bacterias de las especies de *Staphylococcus aureus*, patógenos como *Salmonella spp*, *Pseudomonas* y *Vibrio spp*, este último sobre todo en alimentos derivados del mar, afectan a la inocuidad del alimento por lo que son consideradas un riesgo para la salud de los consumidores (Eromo, Tassew, Daka, & Kibru, 2016; OMS, 2007, Kopper, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud en América, cada año 77 millones de personas enferman y más de 9.000 mueren a causa de enfermedades de transmisión alimentaria (OMS, 2018a). En países en vías de desarrollo de Asia y África se han llevado a cabo diversos estudios, en los cuales se ha evaluado la inocuidad, calidad microbiológica y manejo de los alimentos; con el objetivo de conocer la situación actual del expendio de alimentos en la calle y normalizar o regular esta actividad. En estos estudios se concluye que, no existe un buen manejo de los alimentos por parte de los vendedores, pues la mayoría de los alimentos analizados sobrepasaban los parámetros microbiológicos establecidos en las normativas vigentes para cada alimento o grupo de alimento específico (Moutz, Suliman & Abdalla, 2012; Alves da Silva et al., 2014; Sharma & Mazumdar, 2014).

Según la Secretaría de Salud del Ecuador, tras una evaluación de los alimentos de venta ambulante en la ciudad de Quito (2016), el 47% de las muestras presentaron contaminación y, de este porcentaje, el 12% presentaron un nivel alarmante, debido a la presencia de bacterias coliformes fecales e incluso *Salmonella*, lo que se traduce en un riesgo para la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos denominadas ETA (El Comercio, 2017).



El objetivo principal de este estudio fue obtener una visión general acerca de la calidad microbiológica de estos alimentos que son vendidos de forma ambulante en los lugares públicos de la ciudad de Cuenca y así buscar fortalecer las prácticas correctas de manejo de los alimentos mediante una capacitación y consecutivamente disminuir el riesgo de adquirir una ETA.

Hipótesis

Los ceviches y encebollados vendidos en la ciudad de Cuenca cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos por la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria de Perú (DIGESA) NTS No-071 MINSA/DIGESA-V-01 para productos hidrobiológicos precocidos-cocidos.

Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica de ceviches y encebollados expendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador

Objetivos específicos

- Evaluar la calidad microbiológica de ceviches y encebollados de pescado vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador empleando placas Compact Dry® y el método Reveal 2.0 aplicando la norma NTS No-071 MINSA/DIGESA-V-01 para productos hidrobiológicos precocidos y cocidos.
- Realizar una capacitación a los vendedores ambulantes de ceviches y encebollados de pescado de la ciudad de Cuenca sobre la correcta manipulación de los alimentos.



1. CONTENIDO TEÓRICO

1.1 Inocuidad alimentaria

La inocuidad alimentaria abarca acciones que tienen como objetivo primordial garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos, es decir, que no cause daño al consumidor. Constituye uno de los cuatro grupos básicos de características que junto con las nutricionales, organolépticas y comerciales componen la calidad de los alimentos. Las políticas y actividades que buscan lograr la inocuidad alimentaria involucran a toda la cadena alimenticia, desde la producción hasta que el alimento llega al consumidor (OMS, 2018).

Las posibles causas del daño al consumidor pueden ser debido a factores biológicos (patógenos) o contaminantes fisicoquímicos con características peligrosas que a su vez, representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones (Instituto de Salud Pública de Chile, 2012).

1.2 Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)

Las ETA engloban un gran espectro de dolencias y son consideradas un problema de salud pública creciente a nivel mundial. Se produce cuando se ingiere alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas que se encuentren en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor. La manifestación clínica más frecuente de una ETA es la aparición de síntomas gastrointestinales, pero también pueden dar lugar a síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos e incluso pueden ser fatales (OMS, 2018; Kopper, 2009). Las ETA pueden presentarse como infecciones, intoxicaciones y toxicoinfecciones.

1.2.1 Infecciones alimentarias

Enfermedades originadas por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales en cantidades suficientes en las que pueden causar una alteración en el consumidor, por ejemplo, dentro de estas infecciones alimentarias se encuentran: salmonelosis, listeriosis, hepatitis A, entre otras (Kopper, 2009).



1.2.2 Intoxicaciones alimentarias

"Son enfermedades originadas al ingerir un alimento en el que se encuentra la toxina o veneno formado en tejidos de plantas o animales o como metabolito de los microorganismos" (Kopper, 2009, página 15). Ejemplos de intoxicaciones son botulismo, intoxicación estafilocócica o por toxinas producidas por especies marinas como la (OMS, 2018; Jay, Loessner, & Golden, 2005b).

1.2.3 Toxicoinfecciones

Resultantes de la ingesta de alimentos con cierta cantidad de microorganismos patógenos que presentan la capacidad de producir toxinas una vez que han sido ingeridos. El período de duración de las toxicoinfecciones es menor al de las infecciones, pero mayor al de las intoxicaciones. Ejemplo de este tipo de ETA, es la diarrea por *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Yersinia enterocolitica* (Kopper, 2009).

1.3 Factores de riesgo de contaminación

Es importante conocer la forma en que se transmiten las ETA y sobre todo saber cómo prevenirlas, de manera que se asegure el expendio de un alimento inocuo para el consumidor (Kopper, 2009; Martínez & Romero, 2015).

La contaminación del alimento puede darse a lo largo de la cadena de proceso desde la producción hasta el que llegue al consumidor del mismo, por ello es importante conocer los riesgos presentes, detallados a continuación:

- **Productos agrícolas:** Exceso o residuos de agentes químicos como pesticidas y metales pesados como aluminio, mercurio, plomo, etc., que pueden tener efectos perjudiciales para salud del consumidor (Alimi, 2016, Kopper, 2009).
- **Fuentes y calidad de ingredientes crudos** El problema principal es que los vendedores ambulantes buscan maximizar los gastos para ofrecer un alimento asequible al consumidor, por mencionar el uso de ingredientes sin etiqueta (Alimi, 2016; Kopper, 2009).
- **Preparación, manipulación y venta de alimentos** La temperatura en los alimentos debe ser mayor a 65 °C, de esta manera se garantiza la eliminación de los microorganismos. Por otro lado, es necesario evitar mantener a los alimentos en la zona de peligro (5-60 °C) (OMS, 2007).



- En la venta ambulante el tiempo y la temperatura constituyen puntos de control por la posible re-contaminación, debido a varias horas de exposición a temperatura ambiente (hasta 6 horas). Otros factores que influyen son el transporte, exposición al ambiente y la contaminación cruzada (entre cuchillos, agua de lavado) (Alimi, 2016; Kopper, 2009).
- **Entornos de venta** Al ocupar espacios públicos se favorece la re-contaminación y contaminación cruzada con polvo, microorganismos del aire, humo de escapes de vehículos. Además, no tienen la disponibilidad de sistemas de eliminación de residuos (Alimi, 2016; Kopper, 2009).
- **Higiene del vendedor:** algunas de las recomendaciones de la OMS en cuanto a la higiene del manipulador de los alimentos son:
 - Lavado de manos frecuente, enjabonarse las manos por un tiempo mínimo de 20 segundos, posteriormente se enjuaga con agua corriente y se seca completamente.
 - Uso de guantes para la manipulación de los alimentos (deben ser cambiados frecuentemente). El uso de guantes no excluye la etapa de lavado de manos
 - Uniforme, se recomienda el uso de un uniforme exclusivo para la preparación y venta de alimentos, el mismo que debe ser de un color claro y debe estar siempre limpio. Además, se recomienda usar mascarilla y protectores de cabello.
 - Evitar el uso de accesorios, joyas y maquillaje. (Alimi, 2016; OMS/OPS, 2015).
- **Conocimiento y actitud de los vendedores ambulantes de alimentos con las prácticas de seguridad alimentaria** La búsqueda de satisfacer las necesidades gustativas pesan más que la calidad del alimento a la hora de alimentarse, por ello es necesario crear conciencia en los vendedores y lograr el cumplimiento de las prácticas de seguridad alimentaria (Alimi, 2016; Kopper, 2009).

1.4 Comida ambulante y su comercio en países en vía de desarrollo

La Organización Mundial de la Salud define a la comida de venta ambulante como *“Comidas y bebidas preparadas y/o vendidas por vendedores en las calles y otros lugares públicos para su consumo inmediato o su posterior consumo sin ningún procesamiento o preparación”* (OMS, 1996, página 2).



En la mayoría de países en vías de desarrollo como el Ecuador es común la venta de comida de forma ambulante. Diversos estudios han demostrado que el gasto en dicha comida oscila alrededor del 20-25% de los ingresos familiares; por dicha razón, la venta ambulante, es constituida una importante actividad económica en la mayoría de los países de Latinoamérica al ser una fuente potencial de trabajo. A esto se suman características ventajosas como bajo costo, fácil accesibilidad, conveniencia y sobre todo, apetecibles. Los lugares públicos convenientes para la venta ambulante son escuelas, hospitales, estaciones de tren y terminales de autobuses (Alimi, 2016; FAO, 2003).

En Ecuador, según el reporte del Instituto Nacional de Estadística y Censos del 2015, 2,7 millones de personas trabajan en la informalidad. En Quito se calcula que alrededor de 100000 personas son informales (Revista Líderes, 2015). En Cuenca esta situación se observa en distintos puntos de la ciudad porque aproximadamente 1.300 vendedores que están catastrados por la Municipalidad están a la espera de la construcción de una plataforma o la apertura de puestos en los mercados. Así como en Quito y Cuenca también existe un aumento de personas que se dedican al expendio en la calle en todas las ciudades del país (El Tiempo, 2017).

El consumo de alimentos de venta ambulante, es considerado un riesgo para la salud pública debido a su falta de infraestructura, servicios básicos como agua potable, medios para la eliminación de desechos, manejo inapropiado de los alimentos, además de la dificultad que existe en el control de las ventas ambulantes debido a su movilidad y carácter temporal (FAO, 2001; INFOSAN, 2010). La falta de conocimiento por parte de los vendedores sobre la importancia epidemiológica de muchos alimentos comercializados en la calle, el desconocimiento de las medidas básicas de inocuidad de los alimentos y la conciencia de los consumidores de los peligros que se plantean con el consumo de alguno de estos alimentos, estas son algunas de las causas que agravan la situación actual de la venta ambulante de los alimentos (Alves da Silva et al., 2014).

Existen varios casos documentados de brotes de intoxicación alimentaria causada por alimentos de venta callejera, por ejemplo, en Shangdong, provincia de China, estos alimentos fueron responsables de 691 intoxicaciones alimentarias y 49 muertes entre 1983 y 1992 (Rane, 2011).



Estudios epidemiológicos recientes realizados por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos afirmaron que desde 1973 hasta el 2006 se identificaron 118 brotes de los cuales el (76.1%) fueron bacterianos, 21.3% virales y 2.6% eran parasitarias (Elbashir et al., 2018). Entre los patógenos bacterianos transmitidos por los alimentos vendidos en las calles tenemos: *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Vibrio parahaemolyticus*, este último en productos hidrobiológicos (Alimi, 2016; (Kopper, 2009; Martinez & Romero, 2015).

1.5 Ceviche y encebollados

Los ceviches y encebollados están dentro del grupo de alimentos hidrobiológicos listos para consumir. Se considera que tienen alto riesgo de contaminación, principalmente por la inapropiada manipulación por parte de los vendedores (MINSA/DIGESA, 2015; Guerrero, Arteaga, & Ruiz-Cabello, 2013).

El método de curtido empleado en la preparación de los ceviches puede ser una posible causa de aparición de ETA, ya que no se realiza un proceso de cocción, tan solo de acidificación del pescado. Este procedimiento puede no asegurar la correcta eliminación de los microorganismos, lo que lo convierte en un factor de riesgo en la salud pública (FAO, 1999).

En el encebollado el proceso de cocción disminuye la probabilidad de contaminación microbiológica en comparación con el ceviche, sin embargo la presencia de microorganismos se relaciona principalmente por la incorrecta manipulación de los alimentos posterior al tratamiento térmico (Marcillo, 2013).

1.5.1 Ceviche de pescado

Plato propio de algunos países latinoamericanos como Perú, Costa Rica, Ecuador, entre otros. Para la preparación de este plato se colocan los pedazos de pescado crudo en un recipiente, se añade jugo de limón hasta cubrir al mismo, se deja reposar durante 3 a 4 horas hasta que se curta el pescado. Posteriormente, se añade jugo de limón a los vegetales como cebolla, tomate, culantro y se deja reposar por una hora.

Luego se une el pescado curtido con la mezcla de cebolla, pimienta, tomate y culantro y finalmente, se añade sal y aceite al gusto. Se acompaña con chifles, maíz tostado, canguil, etc.

Los ceviches son parte del gusto culinario de los cuencanos, a los vendedores se los identifica por tener un balde metálico de color blanco en una mano y un canasto en el otro (El Espectador, 2017; Lujol, 2008). Al ser un alimento que contiene múltiples ingredientes constituye un gran aporte nutritivo de proteínas, lípidos, entre otros (Real Academia de la Lengua, 2018; El Universo, 2014).

Figura 1. Vendedor ambulante de ceviche.



Fuente: Los Autores

1.5.2 Encebollado

Plato típico ecuatoriano de bajo costo, preparado a pase de pescado, también conocido como ceviche caliente. Presenta un sabor peculiar que lo brinda la albacora, aunque actualmente ha sido sustituido por derivados del atún. Los ingredientes del encebollado son: yuca cocinada, culantro, cebolla, ají, tomate y el limón. También se le puede adicionar tostado, chifle y canguil, que son complementos de este alimento (El Diario, 2010; El Comercio, 2015).

Los medios empleados para el expendio ambulante son triciclos, carritos de madera adecuados para este fin, cada vez es más frecuente encontrarlos en las calles de la ciudad (El Diario, 2010).

Para su preparación el pescado es cocinado con suficiente agua, cebolla, sal, ajo, comino y pimienta. Aparte se cocina la yuca. El agua del pescado y de la cocción de la yuca se cierne, este líquido se usará como el caldo del encebollado.

Para servir, se coloca la yuca en trozos, se deshojan los trozos de albacora y se añade vegetales como; cebolla, tomate, culantro picado y luego se baña con el caldo caliente. Se acompaña con maíz tostado, chifles, etc. (El Universo, 2014).

Figura 2. Vendedor de encebollados.



Fuente: Los autores

1.6 Calidad microbiológica

La calidad microbiológica hace referencia a dos aspectos: calidad higiénico-sanitaria y calidad comercial. La primera es importante ya que representa un riesgo para la salud, puesto que estos pueden ser un vehículo de microorganismos patógenos. La segunda se refiere a que, aunque existen microorganismos que carecen de significado sanitario, estos podrían alterar las características físicas del alimento, como son; el color, aroma, sabor, textura (FAO, 2003; Jay, Loessner, & Golden, 2005).

La calidad microbiológica se mide por los microorganismos que están presentes en los alimentos, ya que estos pueden contener hasta un límite de microorganismos establecidos en las normativas vigentes y esta carga microbiana varía dependiendo del tipo de alimento (Jay et al., 2005).

1.6.1 Microorganismos indicadores de calidad

1.6.1.1 Aerobios mesófilos

Indican el nivel global de la higiene del producto y su historia desde la manufactura hasta la distribución, también puede ser un indicador del nivel de contaminación proveniente de materias primas crudas.



A este grupo pertenecen bacterias, mohos o levaduras tanto saprófitas como patógenas, por lo tanto, un conteo alto no indica la presencia de patógenos y un conteo bajo no excluye la presencia de los mismos (Tortorello, 2003).

1.6.1.2 Familia *Enterobacteriaceae*

Bacterias Gram-negativas presentes en el ambiente, habitantes normales del intestino de todos los animales y algunas cepas son capaces de producir enfermedades en el hombre. A este grupo forman parte los coliformes (fermentadores de lactosa), coliformes fecales y *E. coli*, usadas como indicador de:

- Contaminación fecal de origen animal y humano.
- Contaminación ambiental (suelo, polvo, agua, insectos) y de equipos (inadecuada limpieza o sanitización) (Baylis, Uyttendaele, Joosten, & Davies, 2011).

Esta familia es el indicador más utilizado porque es relativamente sensible a los tratamientos estándar implementados para inactivar microorganismos en los alimentos (calor, radiaciones ionizantes, congelación, secado, extremos del pH y actividad del agua) y en el medio ambiente (destruido por la mayoría de los desinfectantes) (Baylis et al., 2011).

1.6.1.3 *Staphylococcus aureus*

Bacteria Gram positiva, coagulasa positiva. Esta es indicadora del manejo inadecuado de los alimentos y contaminación por parte de los manipuladores (por ejemplo, manos sucias, infecciones de la piel, nariz o garganta). Se debe a una contaminación post elaboración, ya que *S. aureus* es eliminado en el proceso de cocción (INNOCUA, 2014; NSW Food Authority, 2009).

1.6.2 Microorganismos patógenos

Algunos microorganismos son capaces de penetrar y multiplicarse en otros seres vivos, a los que perjudican, produciendo una infección. Las complicaciones que causen la infección dependen del tipo de patógeno, el modo de transmisión, dosis, resistencia del organismo infectado, entre otros. Dentro de estos agentes se encuentran parásitos, hongos, bacterias y virus (Iglesias, Zhurbenko, Claudio, & Martínez, 2015.)



1.6.2.1 *Vibrio parahaemolyticus*

Bacteria halófila autóctona del ambiente marino, por lo que puede encontrarse en los pescados y mariscos. En estos productos de mar crudos es común que exista *V. parahaemolyticus* en niveles bajos, pero una buena cocción asegura la ausencia de este microorganismo por lo que su hallazgo indicaría una contaminación post cocción o un tratamiento térmico insuficiente (NSW Food Authority, 2009). Uno de los factores más importantes para el crecimiento y desarrollo de este microorganismo es la temperatura del agua, pues en temperaturas de hasta 15 °C (Su & Liu, 2007).

1.6.2.2 *Salmonella spp*

Bacteria Gram negativa, se encuentra comúnmente en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, raramente en peces y mariscos. Ejemplares de esta especie como: *S. typhi* y *S. paratyphi* A, B y C generalmente causan bacteremia y producen fiebre tifoidea y fiebre entérica en el hombre. La presencia de esta bacteria en comida de venta ambulante es indicativa de una cocción deficiente, malas prácticas de manejo, uso de aguas contaminadas y contaminación cruzada, en la preparación de las distintas recetas. Ocasionalmente puede ser aislado de frutas y vegetales frescos y estos pueden ser una fuente de contaminación (NSW Food Authority, 2012).

1.7 Buenas prácticas en los alimentos

Las medidas para evitar la contaminación de los alimentos deben ser cumplidas por los manipuladores para garantizar la salud del consumidor y evitar el riesgo de contraer ETA. Estas medidas incluyen buenas prácticas agrícolas (BPA), buenas prácticas de manufactura (BPM) y buenas prácticas de higiene (BPH) aplicables en todas las etapas de la cadena alimentaria.

Al tratarse de alimentos de venta ambulante se prioriza las BPH por parte del manipulador, sin desmerecer el resto. Las BPH engloban diferentes variables relacionadas al manipulador, las que se detallan a continuación:

- Salud del manipulador: Debe ser óptima, sin enfermedades respiratorias, gastrointestinales, heridas.
- Higiene: Se debe destacar el correcto lavado de manos con agua y jabón en situaciones en las que se puede dar algún tipo de contaminación como al iniciar la manipulación o después de haber estado en contacto con el dinero.

El manipulador debe ducharse antes de ir a trabajar, haciendo de esta actividad una rutina. Además, debe mantener las uñas cortas y limpias, cara afeitada, pelo lavado y recogido con gorro o pañuelo, sin olvidar el uso de un uniforme o vestimenta apropiada que minimice al máximo la contaminación en los alimentos.

- Limpieza y desinfección de sus instrumentos de venta: Involucra las instalaciones, recipientes empleados para la venta del alimento. El uso de agua potable y desinfectantes como el hipoclorito de sodio aseguran una disminución de la contaminación. Es aconsejable desinfectar más de una ocasión al día.
- Otro factor influyente importante es el medio ambiente, se debe minimizar estas condiciones para reducir al mínimo la proliferación de los microorganismos (Guerrero, del Mar Arteaga, & Ruiz-Cabello, 2013).

1.8 Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01

Tabla 1. Criterios microbiológicos para alimentos hidrobiológicos precocidos y cocidos de consumo directo

XI.2 Producto hidrobiológico precocido y cocido (congelados o refrigerados), de consumo directo (producto final).						
Agente microbiano	Categoría	Clases	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30° C)	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-----

Fuente: MINSA/ DIGESA, 2015

Esta norma sanitaria establece en el Artículo N° 10 el número de unidades de muestra para la vigilancia sanitaria de alimentos preparados, para el caso de alimentos y bebidas preparados provenientes de establecimientos de comercialización, preparación y expendio, se tomará al menos una muestra por cada tipo de alimento y deberán ser calificadas con los límites más exigentes (m), indicados en la tabla anterior.



2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

Estudio observacional de corte transversal tipo descriptivo.

2.2 Área de estudio

El presente estudio microbiológico se realizó en ceviches y encebollados de pescado expendidos en los espacios públicos de la ciudad de Cuenca, en el periodo comprendido entre diciembre 2017-enero 2018. Inicialmente se contaba con un catastro de los vendedores registrados en el GAD municipal, sin embargo, no se pudo localizar a los mismos, ya que esta información fue recolectada en el año 2016. Por lo que se tomaron las muestras del número de vendedores que indicaba el catastro inicialmente (19 vendedores). El análisis fue realizado en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

2.2.1 Muestreo y tamaño de la muestra

Se aplicó un muestreo no probabilístico manteniendo el mismo número de vendedores registrados en el GAD Municipal (19), 16 de ellos fueron vendedores de ceviches y 3 de encebollados de pescado. Las muestras fueron tomadas en diferentes lugares de la ciudad de Cuenca que tiene gran afluencia como parques, paradas de bus, alrededores de mercados. Se consideró solo a aquellos vendedores que ocupaban espacios públicos

2.2.2 Toma de muestra

El muestreo se llevó a cabo en dos ocasiones con un intervalo de tiempo de 15 días. Las muestras se tomaron en horas similares (antes del mediodía) y recolectadas de la misma manera como eran expendidas (tarrinas plásticas) y transportadas en un contenedor específico con bolsas refrigerantes (Cooler) al laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca de forma inmediata para su análisis.



2.3 Equipos, materiales y reactivos

Equipos

- Autoclave N° serie 91997, marca All American.
- Balanza analítica N° serie 14952, marca Ohaus.
- Estufa 91974, marca Fanem
- Refrigerador N° serie 91985, marca Ecasa.
- Contador de colonias N° serie 9198, marca Quebec
- Stomacher

Materiales

- Vasos de precipitación
- Lámparas de alcohol
- Vasos de precipitación
- Pipetas 1ml/ 10ml

Reactivos

- Placas Compact Dry
- Kit *Salmonella* Reveal 2.0
- Agua de peptona
- Agua destilada

2.4 Métodos y técnicas de análisis

Se emplearon placas Compact Dry, para el recuento de aerobios mesófilos, *E. coli*, *S. aureus* y *V. parahaemolyticus* y el método de Reveal 2.0 para la detección de *Salmonella spp.*

2.4.1 Método de recuento de microorganismos en placas Compact Dry

Las placas Compact Dry son un procedimiento sencillo y seguro para la determinación y cuantificación de microorganismos, la inoculación se realiza tomando 1ml de la muestra y se la coloca sobre la placa y se espera aproximadamente 5 minutos hasta que solidifique el gel, se incuba de acuerdo a las prescripciones del prospecto para cada microorganismo a ser analizado.



Gracias a los indicadores redox y a los sustratos cromógenos, las colonias bacterianas crecen en colores específicos. (HyServe, 2017).

2.4.1.1 Aerobios mesófilos.

Compact Dry TC es un medio para el recuento bacteriano total viable, que contiene agar estándar de nutrientes. La sal de tetrazolio permite medir la actividad respiratoria asociada a la cadena transportadora de electrones en condiciones aeróbicas y anaeróbicas de los microorganismos. Esta sal de tetrazolio es captada por la célula bacteriana y reducida en el sitio de las oxidaciones enzimáticas, liberando ácido formazán, compuesto altamente pigmentado (rojo) (MacFaddin, 2003; HyServe, 2017).

2.4.1.2 *Escherichia coli*/ coliformes.

Compact Dry EC emplea dos sustratos enzimáticos cromógenos para la detección de *E. coli*/ coliformes: Magenta-GAL y X-Gluc. La β -glucoronidasa es una enzima producida en el 95% de las cepas de *E. coli*, esta enzima hidroliza el complejo X-Gluc coloreando a las colonias de color azul. De la misma manera la β -galactosidasa producida por el grupo de coliformes hidroliza el complejo Magenta-GAL coloreando las colonias de una tonalidad roja (HyServe, 2017).

2.4.1.3 *Staphylococcus aureus*.

Compact Dry X-SA es un medio listo para usar, no requiere una prueba de confirmación. Este medio contiene componentes nutritivos, manitol, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) que inhibe el crecimiento de otras bacterias, mohos o levaduras. Además, contiene sustratos cromogénicos que detectan la presencia de β -glucosidasa, la cual rompe el enlace entre el sustrato específico de la reacción enzimática y un grupo cromóforo unido a dicho sustrato coloreando a las colonias de *S. aureus* con un color azul (Iglesias, Zhurbenko, D.R., Claudio, & Martínez, 2015; HyServe, 2017).



2.4.1.4 *Vibrio parahaemolyticus*.

Compact Dry VP emplea un indicador de pH (azul de bromotimol), el cual en un ambiente alcalino le otorga un color verde azulado a las colonias de *V. parahaemolyticus* que no fermentan la sacarosa a diferencia de las otras especies de *Vibrio* que si lo hacen y se presentan como colonias de color blanco o amarillo (HyServe, 2017).

2.4.2 Método Reveal 2.0 para *Salmonella spp*

Reveal 2.0 permite la recuperación rápida de *Salmonella* en 24h en alimentos crudos hasta aquellos que están listos para consumir. Presenta una sensibilidad de 1-5 UFC/25g. El test consiste en un pre enriquecimiento, enriquecimiento selectivo y una prueba inmunocromatográfica.

- Pre-enriquecimiento: el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella spp* que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo. En esta técnica se empleó el medio Revive®, el cual es un medio no selectivo, que permite recuperar células que sufrieron daños subletales. Incubación 36 ± 1 °C por 4 horas.
- Enriquecimiento selectivo: en esta etapa se estimula y favorece el crecimiento de *Salmonella spp* inhibiendo la flora acompañante. En la presente técnica se empleó el medio Rappaport Vassidialis®. El cloruro de magnesio eleva la presión osmótica en el medio. El verde malaquita inhibe los organismos diferentes de *Salmonella spp*. El pH bajo del medio ($5,1 \pm 0,2$), combinado con la presencia de verde malaquita y la alta concentración de cloruro de magnesio, tienen carácter selectivo para este microorganismo. Incubación 42 ± 1 °C por 16-24 horas
- Prueba Reveal: Se sumerge la tira reactiva en 200ul del cultivo de enriquecimiento, a temperatura ambiente por 15 minutos. La muestra pasa por acción capilar a través de una zona de reactivos que contiene anticuerpos específicos anti-*Salmonella* conjugados con oro. El complejo antígeno-anticuerpo es capturado y acumulado en la zona reactiva formando una línea visible. Esta tira contiene anticuerpos específicos para *Salmonella spp* (*entérica*) de los grupos somáticos desde A hasta E (Neogen, 2017; Pascual & Calderón, 2015).



2.5 Proceso analítico

En el anexo 1 se indica tratamiento de las muestras, siembra e interpretación de los resultados para las placas Compact Dry® y la técnica de Reveal 2.0.

Para realizar las diluciones se partió de la dilución madre (1:10), la misma que es el resultado de mezclar el alimento en un diluyente. Para calcular la cantidad del diluyente se debe multiplicar la cantidad pesada de la muestra por 9. En nuestro caso se pesó 25 gramos de muestra que multiplicado por 9 resulta 225 ml de agua peptonada (diluyente) (Pascual & Calderón, 2015).

2.5.1 Cálculos

Cálculo de número de UFC/g

Para calcular el número de microorganismos se debe multiplicar el número de colonias contadas por el respectivo factor de dilución.

$$\text{Microorganismo/g} = n \times f \quad (\text{UFC/g})$$

De donde:

n= número de colonias típicas

f= factor de dilución

UFC= Unidad formadora de colonias (HyServe, 2017).

2.6 Plan de capacitación

Se realizó un plan de capacitación (Anexo 2) en convenio con el GAD Municipal de Cuenca dirigido a los vendedores de ceviches y encebollados que realizan esta actividad en los espacios públicos. La capacitación realizada trató acerca de la manipulación correcta los alimentos. Para ello se utilizó presentaciones en Microsoft Power Point y un tríptico de manera que la capacitación sea entretenida para los asistentes (Organización Mundial de la Salud, 2007).

2.7 Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los resultados presentando mínimos, máximos y frecuencias relativas. Los análisis se realizaron en el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 20 y en Microsoft Excel 2016.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Encebollados

Posterior al análisis microbiológico de encebollados, se obtuvo los siguientes resultados. De las 6 muestras analizadas, se determinó que solamente una de ellas cumplió con todos los parámetros microbiológicos establecidos en la norma, en la Tabla 2 se indica el porcentaje de cumplimiento de los encebollados.

Tabla 2. Nivel de cumplimiento de las muestras de encebollados

Nivel de cumplimiento de las muestras de encebollado		
Cumplimiento	n	Frecuencia relativa %
Cumple	1	16,6
No cumple	5	83,4
Total	6	100,00

A continuación, en la Tabla 3 se indican los criterios microbiológicos, rango de recuento, porcentaje de muestras positivas, límites máximos permitidos y el porcentaje de cumplimiento de acuerdo a la norma de referencia para encebollados.

Tabla 3. Resultados de los criterios microbiológicos analizados en encebollados y su nivel de cumplimiento.

Microorganismo	n	Rango (mínimo-máximo) UFC/g	Muestras positivas (%)	Límite máximo permitido	Cumplimiento normativa (%)
Aerobios mesófilos	6	$1 \times 10^3 - 1 \times 10^5$	66,6	$\leq 10^4$ UFC/g	33,4
<i>E. coli</i>	6	$1,0 \times 10^1 - 6 \times 10^2$	33,3	≤ 10 UFC/g	66,7
<i>S. aureus</i>	6	-	0%	$\leq 10^2$ UFC/g	100
<i>Salmonella spp</i>	6	NA	33,3	Ausencia/25g	66,7
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6	NA	33,3	Ausencia/25g	66,7



De los parámetros analizados en encebollados, se encontró que los límites permitidos se excedieron para aerobios mesófilos y *E. coli* en un 66.6% y 33,3%, respectivamente. Además, se detectó la presencia de *Salmonella* y *Vibrio parahaemolyticus* en el 33.3% de las muestras. Estos resultados son alarmantes por tratarse de microorganismos patógenos que representan un potencial riesgo para la salud del consumidor. Por otro lado, *S. aureus* cumplió con la normativa en el 100% de las muestras.

Los recuentos elevados de aerobios mesófilos podrían reflejar el contenido microbiano de los ingredientes crudos empleados, la condición de higiene de los utensilios, el tiempo y temperatura prolongada de conservación hasta la venta. En lo que refiere a *E. coli*, *Salmonella spp*, *V. parahaemolyticus*, se conoce que estos microorganismos son eliminados por tratamiento térmico, por lo que su presencia indica contaminación post proceso de cocción (Marcillo, 2013).

Cabe mencionar que los encebollados pasan por un proceso de cocción, en el cual debería disminuir considerablemente el número de microorganismos. Sin embargo, los resultados obtenidos indicaron que aun así existe contaminación, la cual puede ser post cocción. La principal causa de esta contaminación podría ser la inadecuada conservación del alimento. En este estudio se observó que la mayoría de vendedores ambulantes no disponen de las condiciones adecuadas para mantener el alimento a una temperatura segura (mayor a 70 °C), por lo que durante la venta, la temperatura del encebollado disminuye, propiciando condiciones que favorecen el desarrollo microbiano. Otra posible causa de contaminación posterior al proceso térmico podría deberse a la contaminación cruzada, que puede darse por el uso de utensilios y por los ingredientes crudos (vegetales) y cocidos (maíz tostado, chifles, yuca, pescado) que se encuentran separados, expuestos al ambiente y que al momento de servir se juntan al caldo (Marcillo, 2013).

Al revisar la literatura no se encontró información de análisis de la calidad microbiológica de encebollados, por lo que no hay un referente para contrastar con este estudio. Además, cabe indicar que los resultados obtenidos no son representativos debido a que el tamaño de muestra es relativamente pequeño, sin embargo, a este trabajo se le puede considerar como una alerta acerca de la calidad microbiológica de este plato que tiene gran demanda en la ciudad de Cuenca.

3.2 Ceviches

Después de llevar a cabo el análisis de las 32 muestras de ceviches de pescado, se determinó que 3 muestras cumplieron con todos los parámetros microbiológicos establecidos en la normativa de referencia, en la Tabla 4 se indica el nivel de cumplimiento de los ceviches.

Tabla 4. Nivel de cumplimiento de las muestras de ceviches

Nivel de cumplimiento de las muestras de ceviche		
Cumplimiento	n	Frecuencia relativa %
Cumple	3	9,4
No cumple	29	90,6
Total	32	100,00

En la Tabla 5 se indican los criterios microbiológicos, rango de recuento, porcentaje de muestras positivas, límites máximos permitidos y el porcentaje de cumplimiento de acuerdo con la norma de referencia para ceviches.

Tabla 5. Resultados de los criterios microbiológicos analizados para ceviches de pescado y su nivel de cumplimiento.

Microorganismo	n	Rango (mínimo-máximo) UFC/g	Muestras positivas (%)	Límite máximo permitido	Cumplimiento normativa (%)
Aerobios mesófilos	32	1×10^4 - $7,8 \times 10^7$	87,5	$\leq 10^4$ UFC/g	12,5
<i>E. coli</i>	32	$1,0 \times 10^1$ - $8,5 \times 10^4$	56,2	≤ 10 UFC/g	43,8
<i>S. aureus</i>	32	$1,0 \times 10^2$ - $3,8 \times 10^2$	19	$\leq 10^2$ UFC/g	81
<i>Salmonella spp</i>	32	NA	21,86	Ausencia/ 25g	78,14
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	32	NA	56,2	Ausencia/ 25g	43,8



Para aerobios mesófilos, 28 muestras (87.5%) sobrepasaron los límites de cumplimiento.

Estudios realizados en Perú en el año 2015 en muestras de ceviches de pescado cuyos ingredientes, forma de preparación y expendio son similares a los ceviches analizados en este estudio, determinaron que en la localidad de Florencia de Mora el 62,5% de las muestras de ceviches superaron los límites permisibles para aerobios mesófilos, lo que guarda concordancia con los resultados de este estudio que indica la misma tendencia de incumplimiento. No así, en otro estudio realizado en locales de cevicherías en la ciudad de Arequipa se mostró que el 100% cumplió con la norma microbiológica establecida. Esta diferencia podría deberse a las condiciones que involucra al tipo de venta (ambulante y ventas con locales establecidos), la infraestructura, acceso a agua potable, refrigeración para la conservación, un mejor control de temperatura y humedad del ambiente, entre otros; todos estos factores afectarían a la calidad final de los alimentos. Además, se debe tener presente que en la preparación de este alimento no se sigue ningún tratamiento térmico, pues el proceso de curtido en los ceviches puede resultar insuficiente para asegurar la ausencia de microorganismos, así como la diversidad de ingredientes crudos, si no cuentan con una correcta manipulación puede conducir a una contaminación cruzada posterior al curtido (Rodríguez, 2015; Coguila, N & Concha, A, 2015).

Recuentos elevados de aerobios mesófilos, además de indicar la calidad microbiológica global de los alimentos, puede sugerir la presencia de un peligro potencial para la salud, pues en este grupo pueden encontrarse patógenos como *Salmonella spp* y *V. parahaemolyticus* como se evidencia más adelante en este estudio.

En el análisis de *E. coli* 18 muestras incumplieron con este parámetro lo que representa el 56,2%.

Estudios similares en Trujillo y Florencia de Mora (ciudades del Perú), analizaron *E.coli* en ceviches de venta ambulante y los resultados indicaron el 46,7 y 100% de incumplimiento respectivamente (Morillo, 2014; Rodríguez, 2015). Estos resultados presentan similitud con el presente estudio en el incumplimiento, posiblemente por la falta de higiene en la preparación por parte del manipulador (contaminación fecal).

Además, por tratarse de alimentos cuyos ingredientes no tienen un tratamiento térmico y pasan por un proceso de curtido con zumo de limón, el cual puede ser insuficiente



para evitar el desarrollo de *E. coli* (incluso a un pH menor a 4) (Arias & Chaves Ulate, 2012).

En otro estudio realizado en Ecuador en la ciudad de Pasaje se analizaron 60 ceviches de venta ambulante y se determinó que el 20% fueron positivas para *E. coli* O:157 o enterohemorrágica. Este resultado es preocupante debido a que este serotipo es causante de ETA que en algunos casos han sido fatales (Carión, 2015). Al tratarse de alimentos semejantes al de este estudio tanto en la preparación y venta, se debe tomar en cuenta el posible riesgo que puede implicar el consumo de este alimento.

En el caso de *S. aureus*, 6 muestras (19%) sobrepasaron los límites establecidos en la normativa. *S. aureus* está presente en el microbiota de la piel y mucosas del hombre. Estudios realizados en la ciudad de Trujillo y en Florencia de Mora analizaron *S. aureus* en ceviches de pescado y se obtuvo el 20% y 100% de niveles no aceptables, respectivamente. En el presente estudio, al igual que en los estudios mencionados se observó que existe variación en los resultados, sin embargo, los mismos denotan que hubo contaminación con *S. aureus* en algún momento de la preparación y expendio por manipulación inadecuada por parte del vendedor (Morillo, 2014; Rodríguez, 2015). *S. aureus* podría considerarse un potencial riesgo para la salud por la producción de toxinas termorresistentes causantes de ETA, especialmente en alimentos sin tratamiento térmico, que tengan excesiva manipulación y además cuando no exista un control adecuado de la temperatura.

En el caso de *Salmonella spp* se determinó que, de las 32 muestras analizadas, en 7 de ellas (21,9%) se detectó su presencia. La normativa establece que este debe estar ausente en los alimentos.

En estudios realizados en ceviches de pescado en Costa Rica y Perú en el 2012 y 2009 respectivamente, indicaron la ausencia de *Salmonella spp* en el 100% de las muestras analizadas. Estos resultados difieren del presente estudio, posiblemente por las malas prácticas de manipulación (higiene del vendedor) y contaminación cruzada (vegetales crudos, utensilios) que se puede dar en la preparación y en el expendio. Además, el pH del curtido no podría ser el adecuado para evitar el desarrollo de este microorganismo (pH mayor a 3,7) (Arias & Chaves Ulate, 2012; Quispe & Sánchez, 2009).



La presencia de *Salmonella spp* en los alimentos refleja un grave riesgo para la salud del consumidor porque es un microorganismo patógeno y se asocian a ETA que pueden ser graves, pudiendo causar Salmonelosis que es considerado un problema de salud pública.

Al analizar el *Vibrio parahaemolyticus*, se detectó su presencia en 18 muestras (56,2%).

En estudios realizados en Perú y Costa Rica en ceviches de pescado y mariscos de venta ambulante, los resultados reflejaron la presencia de este microorganismo en 5.9% y en 8% de las muestras respectivamente (Aliaga, Miranda, & Zevallos, 2011; Arias & Chaves, 2012). Estos resultados sugieren la heterogénea distribución de este microorganismo dependiendo de la región. Según el instituto de Ciencia e Investigación Ambiental de Nueva Zelanda, *V. parahaemolyticus* no resiste un pH menor a 5, por lo que su presencia posterior al curtido con limón podría indicar que este proceso es insuficiente para eliminar/inhibir el desarrollo de este microorganismo que pudiese estar en el pescado empleado en la preparación de ceviche, ya sea como flora o por contaminación cruzada con otros mariscos o utensilios utilizados.

Si bien es cierto la mayoría de las especies de *Vibrio* aisladas del ambiente y mariscos no son patógenas, pero al menos el 1% de las cepas aisladas de alimentos y del ambiente presentan la hemolisina termoestable directa (TDH) principal factor de virulencia. En el estudio realizado en Perú (Aliaga et al., 2011) se determinó que tres (20%) de los aislamientos presentaron fenómeno de Kanagawa positivo; este hallazgo es significativo dado que las cepas TDH positivas son las que se asocian a cuadros de gastroenteritis más severos. En el presente estudio se determinó la presencia de *V. parahaemolyticus* en más del 50% de las muestras, por lo que podría existir la probabilidad de que dentro de este porcentaje se encuentren cepas productoras de TDH.

Los resultados muestran que tanto los ceviches como encebollados analizados en este trabajo no presentan una calidad sanitaria aceptable, posiblemente debido a una manipulación inadecuada y a la falta de condiciones higiénicas tanto en el expendio como en la preparación. Además, se debe considerar que por la naturaleza de los alimentos podrían representar un riesgo para la salud del consumidor, debido a que se han encontrado porcentajes altos de niveles no permisibles e incluso microorganismos patógenos asociados a ETA.



Con los resultados obtenidos se realizó una capacitación el día 29 de mayo de 2018, en la Universidad de Cuenca a los vendedores ambulantes de ceviches y encebollados sobre buenas prácticas de manipulación, basadas en el Manual sobre las Cinco Claves para la Inocuidad de los alimentos realizado por la OMS (OMS, 2007). A este encuentro asistieron 31 vendedores ambulantes convocados por la Dirección del GAD Municipal de Cuenca. Además, se entregó trípticos informativos a y se resolvieron preguntas e inquietudes de los asistentes.



4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Al realizar el estudio microbiológico en ceviches y encebollados se concluye que, el 90,6% de los ceviches y el 83,4% de los encebollados analizados incumplieron con los criterios establecidos en la norma de referencia, estos resultados reflejan la falta de calidad microbiológica que estos alimentos presentan.

Se realizó una capacitación sobre buenas prácticas de manipulación e higiene para la preparación y expendio de estos alimentos con el fin de proporcionar herramientas a los expendedores de ceviches y encebollados de venta ambulante para mejorar la calidad microbiológica de sus alimentos.

4.2 Recomendaciones

Luego de realizar este trabajo de titulación y de la interacción en la capacitación entre los asistentes y capacitadores.

Se sugiere realizar estudios posteriores en los alimentos implicados para:

- *E. coli* O157 y *V. parahaemolyticus* productoras de TDH, ya que son los serotipos que mayoritariamente se asocian a ETA de moderadas a severas.
- Determinar la calidad microbiológica de los ceviches y encebollados y de esta manera verificar el cumplimiento por parte de los expendedores y la influencia de la presente capacitación.
- Realizar estudios similares en encebollados con un número mayor de muestras, de modo que la muestra sea representativa.
- Analizar la eficacia del curtido en la calidad microbiológica final de los ceviches.

Además, se recomienda realizar capacitaciones periódicas sobre buenas prácticas de manipulación de alimentos, con el propósito de mejorar la calidad microbiológica de estos alimentos.



BIBLIOGRAFÍA

- Aliaga, R., Miranda, J & Zevallos, J. (2011). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Revista Médica Herediana*, 21(3), 139-145. <https://doi.org/10.20453/rmh.v21i3.1123>
- Alimi, B. (2016). Risk factors in street food practices in developing countries: A review - ScienceDirect. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453016300441>
- Alves da Silva, S., Cardoso, R., Góes, J., Santos, J., Ramos, F., Bispo de Jesus, R., Teles da Silva, P. (2014). Street food on the coast of Salvador, Bahia, Brazil: A study from the socioeconomic and food safety perspectives. *Food Control*, 40, 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.022>
- Arias, M., & Chaves, C. (2012). Calidad microbiológica de la materia prima y el producto final del ceviche de tilapia y de camarón expendidos en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica. *UNED Research Journal*, 4. <https://doi.org/10.22458/urj.v4i1.136>
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., & Davies, A. (2011). *The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry*. Recuperado de <http://ilsa.org/publication/the-enterobacteriaceae-and-their-significance-to-the-food-industry/>.
- Carrión, W, (2015). Estudio de la presencia de Escherichia coli O:157 en puestos de venta ambulantes de cebiche de pesado de la ciudad de Pasaje. Recuperado a partir de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5147/1/11578.pdf>
- Centers for Disease Control and Prevention. (16 de febrero de 2018). Foodborne Illnesses and Germs. Recuperado de <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>
- Coguila, N & Concha, A. (2015). Influencia de la Calidad Sanitaria de la Materia Prima y de las Buenas Prácticas de Manipulación sobre la Calidad Sanitaria del



producto final: Ceviche de Pescado comercializado en las Cevicherías del Cercado de Arequipa, 2015. Recuperado a partir de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3198/NUcogon.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Elbashir, S., Parveen, S., Schwarz, J., Rippen, T., Jahncke, M., & DePaola, A. (2018). Seafood pathogens and information on antimicrobial resistance: A review. *Food Microbiology*, 70, 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.011>
- El Comercio. (5 de agosto de 2015). Encebollados que se salen de la receta. *El Comercio*. Recuperado de; <http://www.elcomercio.com/video/encebollados-campeonatomundialdelencebollado-ecuador-recetas-gastronomia.html>
- El Diario. (2 de febrero de 2010). Encebollado de pescado. *El Diario Ecuador*. Recuperado de <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/142443-encebollado-de-pescado/>
- El Universo. (14 de Julio de 2014b). Receta del encebollado de Guayaquil | Gran Guayaquil. Noticias. *El Universo*. Recuperado de <https://www.eluniverso.com/noticias/2014/07/18/nota/3249261/receta-encebollado-guayaquil>
- Espinoza, R. (14 de agosto de 2014a). El cebiche, una delicia que conquistó a los guayaquileños | Gran Guayaquil. Noticias. *El Universo*. Recuperado de <https://www.eluniverso.com/noticias/2014/08/14/nota/3414931/cebiche-delicia-que-conquistó-guayaquilenos>
- Eromo, T., Tassew, H., Daka, D., & Kibru, G. (2016). Bacteriological Quality of Street Foods and Antimicrobial Resistance of Isolates in Hawassa, Ethiopia. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 26(6), 533-542.
- Food and Agriculture Organization. (2001). Alimentos sanos en la vía pública. Recuperado de <http://www.fao.org/Noticias/2001/010803-s.htm>
- Food and Agriculture Organization. (2003). Important food issues. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/y8705e/y8705e03.htm#bm03>
- Food and Agriculture Organization. (1999). Aseguramiento de la Calidad de Los Productos Pesqueros - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Hans Henrik Huss. Dinamarca. Food & Agriculture Org



- Galán, D. (30 de abril de 2017). *El Tiempo*. Ventas ambulantes se multiplican en el centro. Recuperado de <http://tinyurl.com/yb5gwqgp>
- Guerrero, A. A. S., Arteaga, M. del M., & Ruiz-Cabello, M. V. C. (2013). Sostenibilidad a lo largo de la cadena alimentaria. *Profesión veterinaria*, 18(80), 67-77.
- Gómez, M. (7 de enero de 2017). Ceviche de balde, una delicia para “matar” el hambre a media mañana. *El Espectador*. Recuperado de <http://www.elespectadorazogues.com/?p=7410>
- HyServe. (2017). Compact Dry Plates. Recuperado de https://hyserve.com/files/CompactDry_ES.pdf
- HyServe. (2017). HyServe. Aerobio Mesófilos. TC. Recuperado de <https://hyserve.com/produkt.php?lang=es&gr=1&pr=259>
- HyServe. (2017). HyServe. *Ecoli*. Recuperado de <https://hyserve.com/produkt.php?lang=es&gr=1&pr=462>
- HyServe. (2017). HyServe. *Saureus.XSA*. Recuperado de <https://hyserve.com/produkt.php?lang=es&gr=1&pr=260>
- HyServe. (2017). HyServe. *VparahaemolyticcusVP*. Recuperado de, a partir de <https://hyserve.com/produkt.php?lang=es&gr=1&pr=221>
- Iglesias, D. S., Zhurbenko, D. R., Claudio, D., & Martínez, R. (2015). Efecto de una combinación nutritiva y selectiva con sustratos cromogénicos para diagnóstico de cocos grampositivos, 15.
- Instituto de Salud Pública de Chile. (2012). Inocuidad Alimentaria. Instituto de Salud Pública de Chile. Recuperado de <http://www.ispch.cl/inocuidad-alimentaria>
- Jácome, E. (7 de febrero de 2017). 47 % de alimentos de la calle incumple normas, según Secretaría de Salud. *El Comercio*. Recuperado de; <http://www.elcomercio.com/tendencias/alimentos-calle-contaminacion-enfermedades-secretariadesalud.html>
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology* (7th ed). New York: Springer.
- Kopper, G. (2009). *Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico: estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala,*



- Honduras y Nicaragua*. Roma: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>
- Lujol, L. (2008). Ceviche de pescado ecuatoriano - Recetas de Laylita. Recuperado de <https://www.laylita.com/recetas/ceviche-de-pescado-ecuatoriano/>
- MacFaddin, J. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica (Tercera). Argentina: Ed. Médica Panamericana.
- Marcillo, M. (2013, enero). *Rediseño administrativo y operativo del Encebollado Girasol en el cantón Esmeraldas, provincia de Esmeraldas*. (Thesis). Recuperado de <http://localhost/xmlui/handle/123456789/215>
- Martinez, B. L., & Romero, M. S. D. (2015, noviembre). *Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el Muelle del Puerto de la Libertad* (Tesis de Pregrado de Licenciatura en Química y Farmacia). Universidad de El Salvador. Recuperado de <http://ri.ues.edu.sv/9326/>
- MINSA/DIGESA. (2015). NTS N° - MINSA/DIGESA-V.01. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano Recuperado de <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/03/733.pdf>
- Moutz, Elhaj; Suliman, Siham; Abdalla, Mohamed. (2012). Surveillance of food safety practices of street food-vendors in Gizan Saudi Arabia. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 58(4), 119.
- Morillo, V. (2014). *Determinacion de coliformes totales, coliformes fecales, Escherichia coli y Staphylococcus aureus en ceviches que se consumen en la ciudad de Trujillo* (Tesis de Pregrado de Químico Farmacéutico). Universidad Nacional de Trujillo. Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2331/Morrillo%20Ramos%2c%20Victoria%20Giovanna.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Neogen. (2017). Reveal® 2.0 for Salmonella | Food Safety | Neogen. Recuperado de <http://foodsafety.neogen.com/en/reveal-2-salmonella>
- NSW Food Authority. (2009). Microbiological quality guide for ready-to-eat foods. Recuperado de



http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/scienceandtechnical/microbiological_quality_guide_for_RTE_food.pdf.

NSW Food Authority. (2012). Microbiological quality guide for ready-to-eat-food. Recuperado de http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/scienceandtechnical/annual_food_testing_report_2013_2014.pdf.

Organización Mundial de la Salud. (2007). El Informe sobre la salud en el mundo- un porvenir más seguro Protección de la salud pública mundial en el siglo XXI. Recuperado de <http://www.who.int/whr/2007/es/>

Organización Mundial de la Salud. (2007). Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Recuperado de http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf

Organización Mundial de la Salud. (2018). OMS. Datos y cifras sobre las enfermedades de transmisión alimentaria. Recuperado de http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/ferg_infographics/es/

Organización Mundial de la Salud. (2018). OMS. Histamina y otras aminas biogénicas. Recuperado de http://www.who.int/foodsafety/areas_work/chemical-risks/histamine/es/

Organización Mundial de la Salud. (2018). OMS. Inocuidad de los alimentos. Recuperado de http://www.who.int/topics/food_safety/es/

Organización Mundial de la Salud. (1996). Essential safety requirements for street-vended foods (Revised Edition). Food Safety Unit Division of Food and Nutrition World Health Organization. Recuperado de http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/63265/WHO_FNU_FOS_96.7.pdf;jsessionid=38DA5556C36AC5338A1690B46570CDE3?sequence=1

Organización Mundial de la Salud & Organización Panamericana de Salud. (2015). Higiene personal. Recuperado de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10823%3A2015-higiene-personal&catid=7677%3Abpabpm&Itemid=42210&lang=es



- Pascual, M., & Calderón, V. (2 Ed) (2015). Microbiología alimentaria. España Editorial Díaz de Santos.
- Quispe, J & Sánchez , V (2001). Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima - Perú. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/363/36318207.pdf>
- Rane, S. (2011). Street Vended Food in Developing World: Hazard Analyses. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 100-106. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0154-x>
- Real Academia de la Lengua. (2018). cebiche. Recuperado de <http://dle.rae.es/?id=84IFXkv>
- Red Internacional de Autoridades en materia de Inocuidad de los Alimentos (INFOSAN). (2010). R Medidas básicas para mejorar la inocuidad de los alimentos de venta callejera. Recuperado de http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_03_StreetFood_Jun10_sp.pdf
- Revista Líderes. (2015). La informalidad laboral, una condición arraigada en Ecuador | Revista Líderes. Recuperado de <http://www.revistalideres.ec/lideres/informalidad-laboral-condicion-ecuador.html>
- Rodríguez, V. (2015). Microbiological quality and hygienic care in prepared food expended on public roads in the district of Florencia de Mora, january to april 2014., 6.
- Sharma, I., & Mazumdar, J. A. (2014). Assessment of bacteriological quality of ready to eat food vended in streets of Silchar city, Assam, India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 32(2), 169. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.129809>
- Su, Y. C., & Liu, C. (2007). *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. *Food Microbiology*., 24(6), 549-558. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.01.005>
- Tortorello, M. L. (2003). Indicator Organisms for Safety and Quality—Uses and Methods for Detection: Minireview, 10.

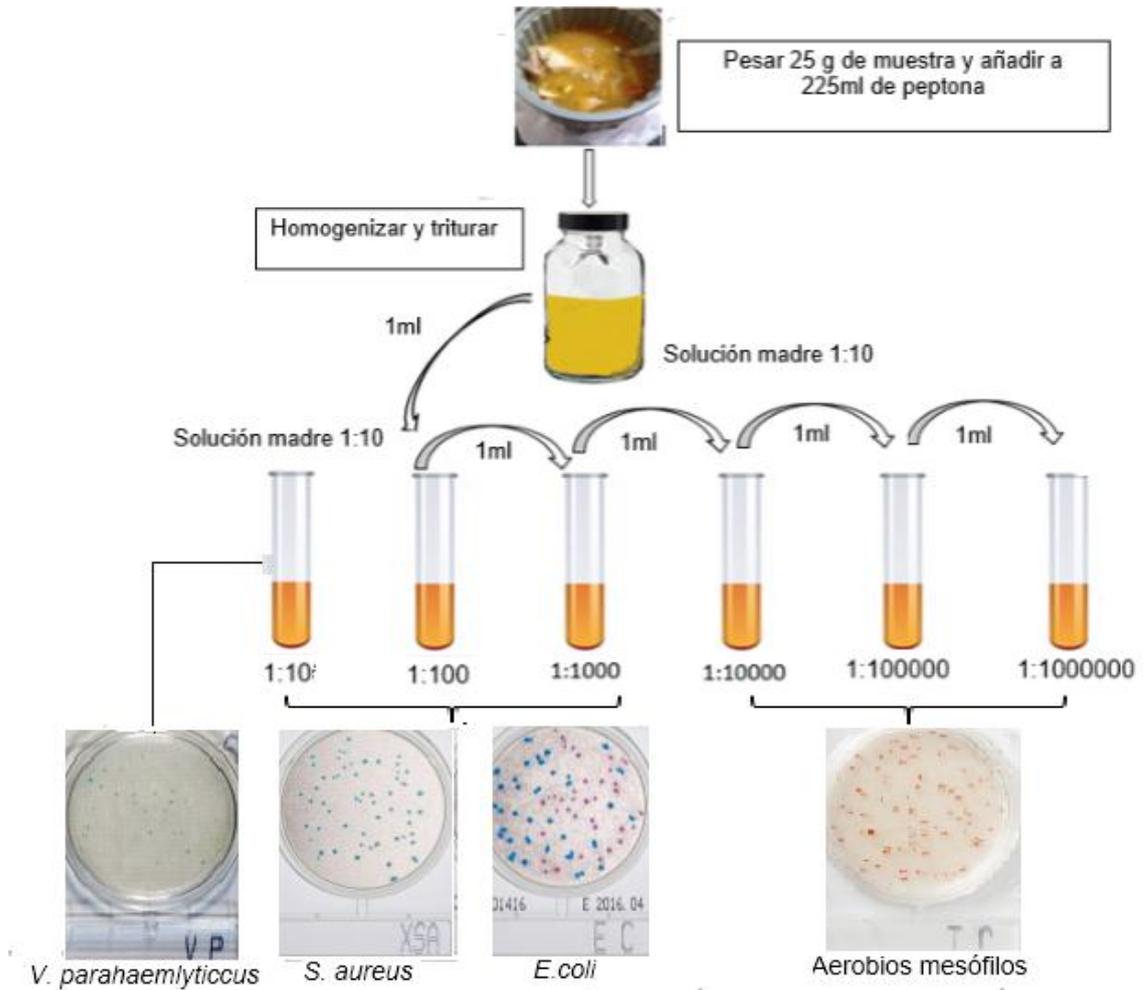


ANEXOS

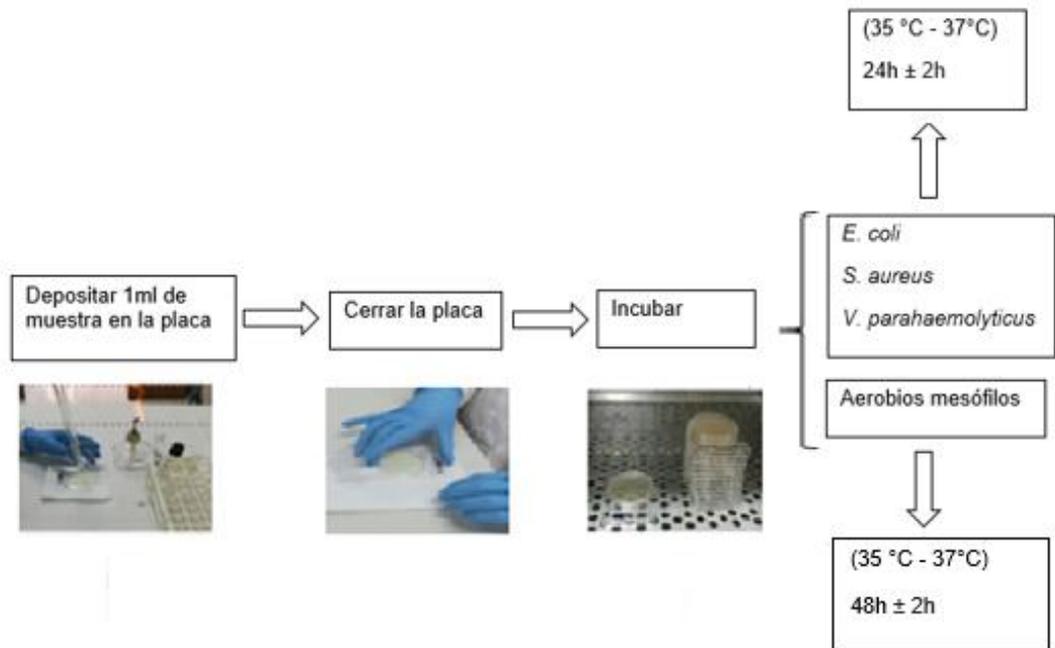
Anexo 1

Procesamiento de las muestras

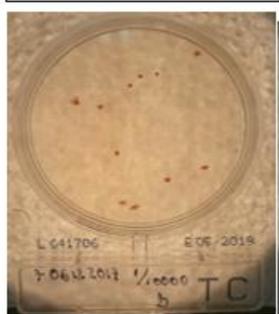
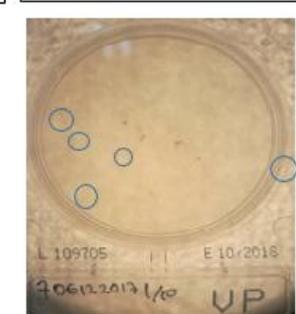
1.1 Flujoograma de preparación de muestras para la siembra en placas Compact Dry



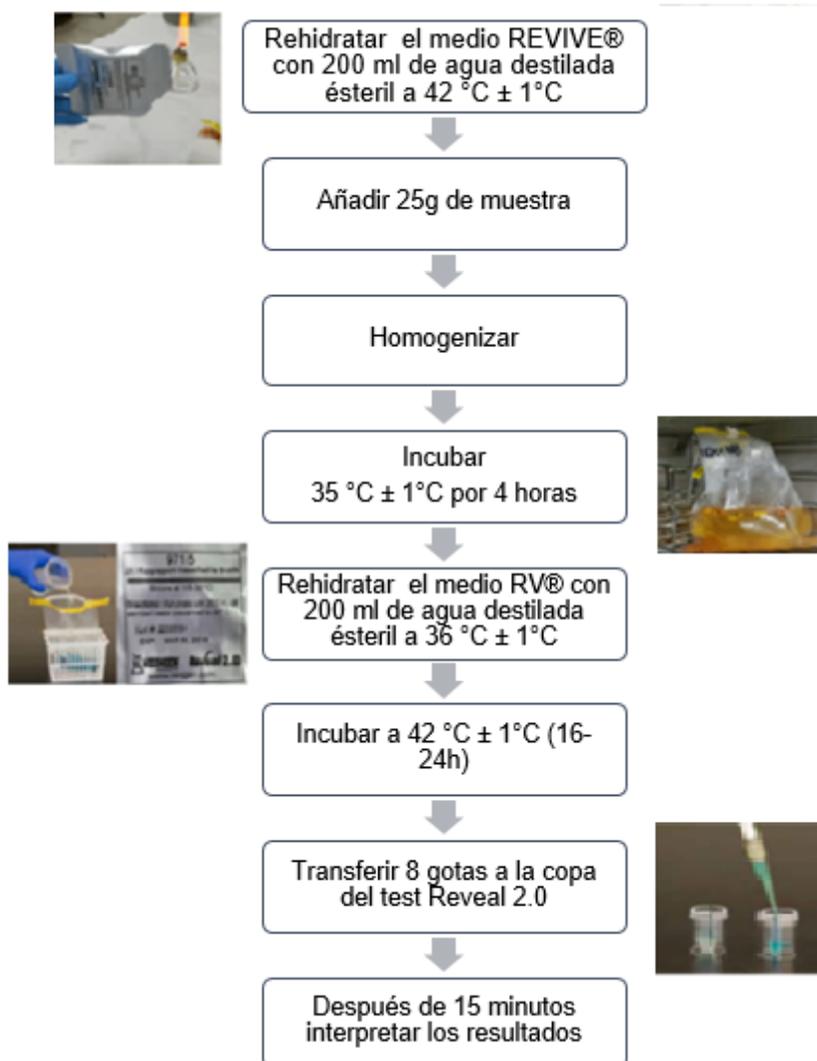
1.2 Esquema de siembra en las placas Compact Dry



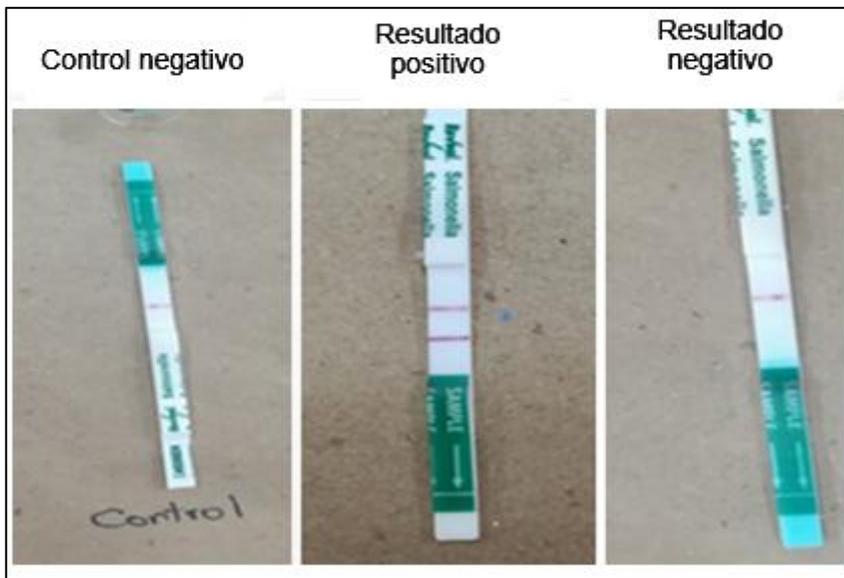
1.3 Interpretación de los resultados

<p>Aerobios mesófilos TC Todas las colonias presentan color rojo</p>	<p>E.coli/Coliformes EC Colonias presentan coloración: Roja=Coliformes, AZUL= <i>E. coli</i></p>	<p>V. parahaemolyticus VP Se presentan como colonias azules verdosas</p>	<p>S. aureus XSA Presenta colonias color azul claro.</p>
			

1.4 Esquema de siembra de *Salmonella* spp mediante la técnica Reveal 2.0



1.5 Interpretación resultados técnica Reveal 2.0





Anexo 2

2.1 PROYECTO DE CAPACITACIÓN

BUENAS PRÁCTICAS DE MANIPULACION DE LOS ALIMENTOS DIRIGIDO A VENDEDORES AMBULANTES DE CEVICHES Y ENCEBOLLADOS DE PESCADO DE LA CIUDAD DE CUENCA-ECUADOR.

2.1.1 Introducción

Actualmente a nivel mundial existe un aumento considerable en el comercio ambulante de alimentos listos para consumir, sobre todo en países en desarrollo como Ecuador (Rane, 2011); (FAO, 2001) (Moutz, Suliman, & Abdalla, 2012). Hoy en día, los hábitos alimentarios han cambiado, la población ha incrementado el consumo de alimentos fuera del hogar, lo que conlleva a un mayor riesgo de contraer enfermedades transmitidas de los alimentos (ETA).

Las ETA engloban un gran espectro de dolencias y son consideradas un problema de salud pública creciente a nivel mundial. Se produce cuando se ingiere alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas que se encuentren en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor. La manifestación clínica más frecuente de una ETA es la aparición de síntomas gastrointestinales, pero también pueden dar lugar a síntomas neurológicos, ginecológicos, inmunológicos (OMS, 2017) (Kopper, 2009).

La contaminación del alimento puede darse a lo largo de la cadena de proceso del mismo, por ello es importante conocer los riesgos que implica la mala manipulación de alimentos.

Las medidas para evitar la contaminación de los alimentos son muy sencillas y pueden ser realizadas por quien quiera que los manipule. Estas medidas son: buenas prácticas agrícolas (BPA), buenas prácticas de Manufactura (BPM) o buenas prácticas de fabricación (BPF), y buenas prácticas de higiene (BPH); todas estas aplicables en todas las etapas de la cadena alimentaria.

En el presente proyecto se describirán las Buenas prácticas de Manipulación de los Alimentos aplicables para los vendedores ambulantes de ceviches y encebollados de pescado, esto con el objetivo de que los alimentos preparados sean inocuos y de



provecho para el consumidor; consecutivamente generando una mejor aceptación del alimento y un mayor ingreso para la persona dedicada a la venta ambulante.

2.1.2 Propósito

Brindar la información necesaria sobre las Buenas prácticas de Manipulación a los vendedores de ceviches y encebollados de pescado; de esta manera lograr la inocuidad de los alimentos implicados.

2.1.3 Objetivos

Los principales objetivos de la capacitación son:

- Mejorar las condiciones de venta de ceviches y encebollados de pescado, en cuanto a higiene e inocuidad; mediante la incorporación de las Buenas prácticas de Manipulación en el expendio de los alimentos implicados.
- Disminuir la aparición de ETA en los consumidores.

2.1.4 Metodología

Se llevará a cabo una charla en la cual se pueda interaccionar con los participantes, para ello se empleará imágenes, videos, animaciones para llamar la atención de los participantes.

Además, se entregará un tríptico que contenga la información de la charla.

2.1.4.1 Dirigido a. Vendedores ambulantes de ceviches y encebollados que consten en el registro del GAD Municipal de la ciudad de Cuenca y personas involucradas en la venta ambulante.

2.1.4.2 Contenido

- Breve introducción sobre la venta ambulante.
- Descripción de las ETA.
- Buenas Prácticas de Manipulación

2.1.4.3 Duración de la capacitación. La capacitación durará alrededor de 2 horas.

2.1.4.4 Responsabilidades

De la capacitación

- Estudiantes de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca, responsables del Control Microbiológico en desarrollo de su proyecto de Titulación.



- Departamento de Control Urbano del GAD Municipal de la Ciudad de Cuenca Ecuador

Del director(a) de la Capacitación

- Verificación del cumplimiento del horario y la aprobación de la capacitación a desarrollarse por parte de la Dra. María Augusta Idrovo

Del director(a) del Proyecto de Titulación.

- Verificación y aprobación de los temas a tratarse en la capacitación por parte de la directora del proyecto de titulación, Dra. Diana Astudillo

De los Facilitadores

- Apoyar al coordinador en la organización de las sesiones de apertura y clausura del proceso de la capacitación.
- Informar a los participantes el programa de actividades a realizar.
- Rendir informes sobre los avances, decisiones que se tomen durante el proceso y finalización de la capacitación.

De los Participantes

- Participar en la capacitación completa y cumplir con el horario establecido.
- Participar activamente en el desarrollo de la capacitación, discutiendo, y analizando el material sometido a estudio.
- Aplicar los conocimientos en sus áreas de trabajo y estar dispuesto a compartirlos con el personal que no ha tenido la oportunidad de participar en la capacitación.

2.2 Invitación entregada a los vendedores



2.3 Certificado entregado a los participantes de la capacitación





2.4 Registro de asistencia de los vendedores que acudieron a la capacitación




**ASISTENCIA A LA CAPACITACIÓN SOBRE MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS:
CEVICHE Y ENCEBOLLADOS
29 MAYO 2018**

NUM	Nombres y apellidos	CEDULA	FIRMAS
1	Sonia Maldonado	0302496898	<i>[Signature]</i>
2	Jorge Sanchez	050240300	<i>Jorge Sanchez</i>
4	Gloria Sanchez	0102399573	<i>[Signature]</i>
5	Lidia Paída	0302178223	<i>[Signature]</i>
6	Meli Paída	0104565569	<i>[Signature]</i>
7	Corina Cajamarca	0102878295	<i>[Signature]</i>
8	Jackeline Alvarado	0916675291	<i>[Signature]</i>
9	Evelyn Velez	0107310070	<i>[Signature]</i>
10	Jessica Canga	0105124805	<i>[Signature]</i>
11	Rafael Urquiza	0300431711	<i>[Signature]</i>
12	Zoila Garcia	0102238797	<i>[Signature]</i>
13	ADRIAN CHICAIZA		KADRIAN CHICAIZA
14	MUOSISO ARELLANO	0701653602	<i>[Signature]</i>
15	Karen Ortiz	0606260255	<i>[Signature]</i>
16	Pablo Atay	0101242619	<i>[Signature]</i>
17	Luis Pineda	0102303435	<i>[Signature]</i>
18	Reinaldo Orta	1101298548	<i>[Signature]</i>
19	Wilfrido Penafiel A.	0902707033	<i>[Signature]</i>
20	Blanca Guevara	0300986907	<i>[Signature]</i>
21			



22	Victor Loza	0101339224	
23	Andrés Loza	0105251197	
24	Mercedes Ghimbo	070763920-7	Mercedes Ghimbo
25	Cinthya Herrera	0703822049	
26	Misaki Herrera	0701743742	Misaki Herrera
27	José Paída	0300129483	José Paída
28	Martha Quinte	0703605618	Martha Quinte
29	Gulcano Imbuje	050286186-5	
30	ALEX ROTERO	0702270844	
31	Carlos Infante	070471356-9	
32	Jacqueline Miñán	070414160-5	

2.5 Tríptico informativo entregado a los vendedores

DESINFECCIÓN FRUTAS Y VERDURAS.

1.- Cucharada de cloro por cada litro de agua. Dejar reposar por 30 minutos. Sumerja las frutas y verduras por 2 minutos, retirary enjuagar

¿COMO? Reconocer un pescado fresco,

- Ojos: Esféricos y salientes.
- Escamas: Abundantes, difíciles de retirar. Son muy resbaladizos.
- Agallas: Color rojo, rosado. Suaves y resbaladizas al tacto.
- Cavidad abdominal: Suave limpia y brillante.
- Carne de pescado: Firme y consistente.
- Olor: A humedad o agua dulce. No debe tener olor a cloro.

CONSERVACIÓN DEL PESCADO

- Deben congelarse hasta su preparación.
- Descongelar en refrigeración
- Cocción completa
- Evite la permanencia del alimento por más de dos horas a temperatura ambiente.
- Cocine completamente el pescado, es MEJOR QUE CURTIRLO



TIPS A TOMAR EN CUENTA PARA MEJORAR EN LA VENTA DE CEVICHE Y ENCEBOLLADOS

- Expendir en vajilla descartable
- Mantener la temperatura adecuada
- Elegir las mejores materias primas
- Mantener el lugar limpio de trabajo
- Mantenga alejados a los animales de su puesto de venta
- Colocar un recipiente con tapa para la basura





BUENAS PRÁCTICAS DE MANIPULACIÓN PARA VENDEDORES DE

CEVICHE Y ENCEBOLLADOS








CEVICHE Y ENCEBOLLADOS.

Platos populares en el Ecuador, elaborados a base de pescado acompañados de otros ingredientes como; cebolla, tomate, pimienta, yuca, entre otros.

ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETAS)

¿Cuándo y por qué se originan?
Las ETAS se producen cuando se ingieren alimentos contaminados por microorganismos presentes en el ambiente y el hombre o sustancias químicas que afectan la salud del consumidor. Las manifestaciones más frecuentes de las ETAS son los síntomas gastrointestinales

Principales causas de contaminación.

- Falta de higiene del vendedor.
- Pescado en mal estado.
- Usar agua no potable.
- Verduras sin limpieza y desinfección.
- Cocción insuficiente.
- No calentar completamente los alimentos.
- Usar la misma tabla para picar diferentes alimentos.



- Mantener los recipientes destapados.
- Superficies sin limpieza
- Mal manejo de los desechos (basura)

MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON LA HIGIENE E INOCUIDAD DE CEVICHE Y ENCEBOLLADOS

MICROORGANISMOS	INDICADOR
Aerobios mesófilos	Higiene
Escherichia coli	Contaminación fecal
Estafilococo aureus	Mala manipulación del vendedor
Salmonella	Patógeno asociado a las verduras y agua contaminada
Vibrio parahaemolyticus	Patógeno asociado a mariscos y pescado

RECOMENDACIONES PARA LOS MANIPULADORES DE CEVICHE Y ENCEBOLLADOS

"GENERE CONFIANZA A SU CLIENTE"
HIGIENE PERSONAL

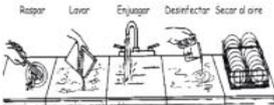
- Utilizar uniforme limpio y color claro.
- Mantenga el cabello recogido, uñas cortas.
- No usar anillos, relojes.
- Lavado de manos frecuente.
- Evitar manipular los ingredientes con las manos
- Utilice utensilios de cocina limpios.



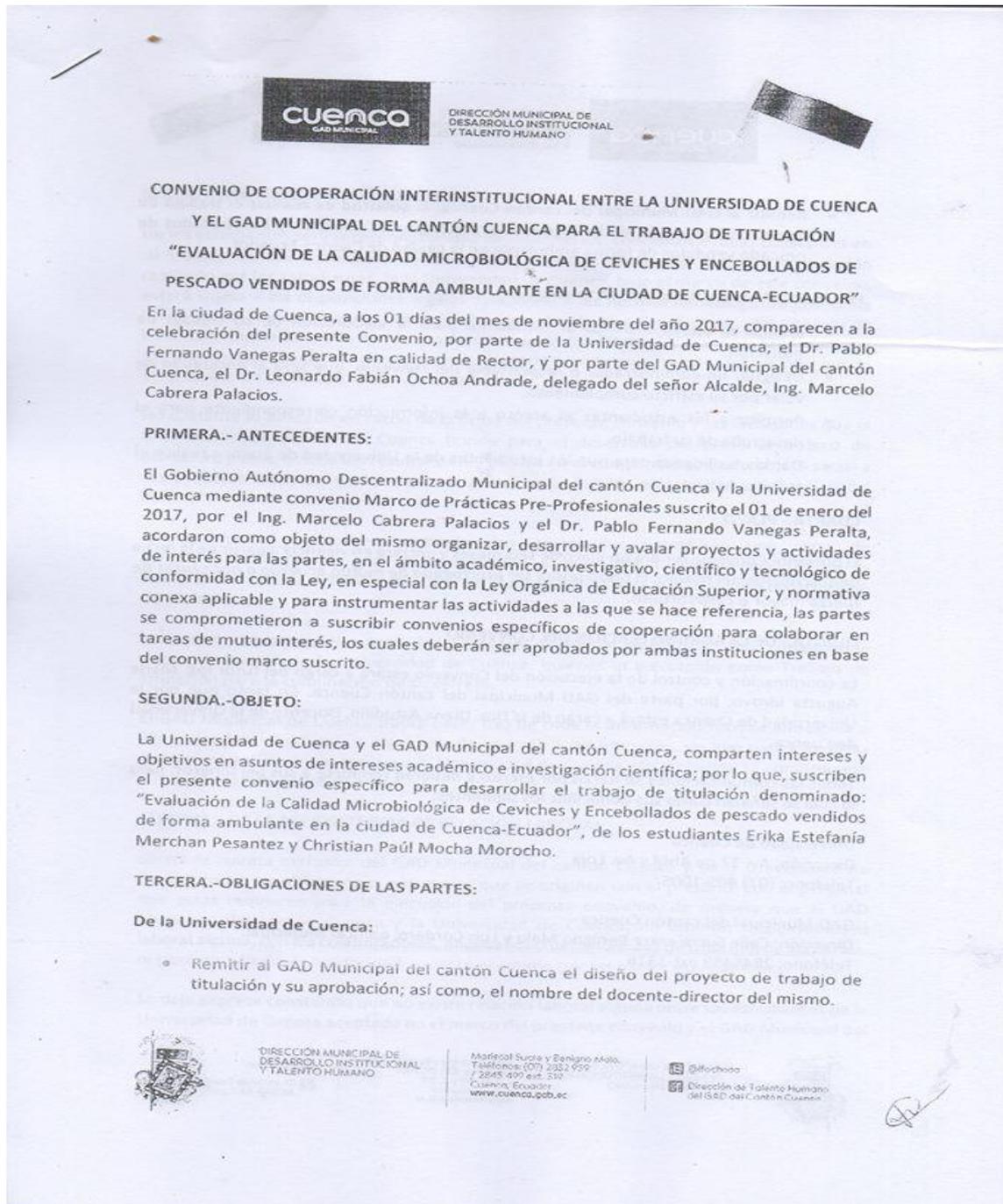
AREA DE TRABAJO
(coches, superficies, utensilios)

- El coche debe ser de preferencia de acero inoxidable y con sombra.
- Mantener limpio, ordenado y sanitizado el área de trabajo
- Usar paños limpios.

DESINFECTANTE A EMPLEAR:
½ cucharadita cloro en un litro de agua.



2.6 Convenio establecido entre la Universidad de Cuenca y el GAD municipal de la ciudad de Cuenca.





DIRECCIÓN MUNICIPAL DE
DESARROLLO INSTITUCIONAL
Y TALENTO HUMANO

- Remitir al GAD Municipal del cantón Cuenca, la solicitud de realizar el trabajo de titulación Evaluación de la Calidad Microbiológica de Ceviches y Encebollados de pescado vendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca-Ecuador.

Por el GAD Municipal del cantón Cuenca:

- Brindar el apoyo logístico al estudiante para la elaboración de su trabajo de titulación.
- Designar un administrador o responsable del convenio, que será el encargado de velar por su estricto cumplimiento.
- Permitir a los estudiantes el acceso a la información correspondiente para el desarrollo de su trabajo.
- Dar las facilidades para que los estudiantes de la Universidad de Cuenca realice el trabajo de titulación.

CUARTA.- PLAZO

El presente Convenio tendrá un plazo de seis meses y entrará en vigencia a partir de la fecha de suscripción del mismo. El plazo podrá ser prorrogado de mutuo acuerdo o por causas de fuerza mayor o caso fortuito.

QUINTA.- DE LA ADMINISTRACIÓN DEL CONVENIO

La coordinación y control de la ejecución del Convenio estará a cargo del tutor Ing. María Augusta Idrovo, por parte del GAD Municipal del cantón Cuenca. En tanto que por la Universidad de Cuenca estará a cargo de la Dra. Diana Astudillo, Docente de la Universidad de Cuenca.

Todas las comunicaciones se harán por escrito y deberán remitirse a sus personeros, para lo cual se señalan como sus domicilios los siguientes:

Universidad de Cuenca
Dirección: Av. 12 de Abril y Av. Loja
Teléfono: (07) 405-1005

GAD Municipal del cantón Cuenca
Dirección: Calle Sucre entre Benigno Malo y Luis Cordero, edificio Municipal.
Teléfono: 2845499 ext-1316

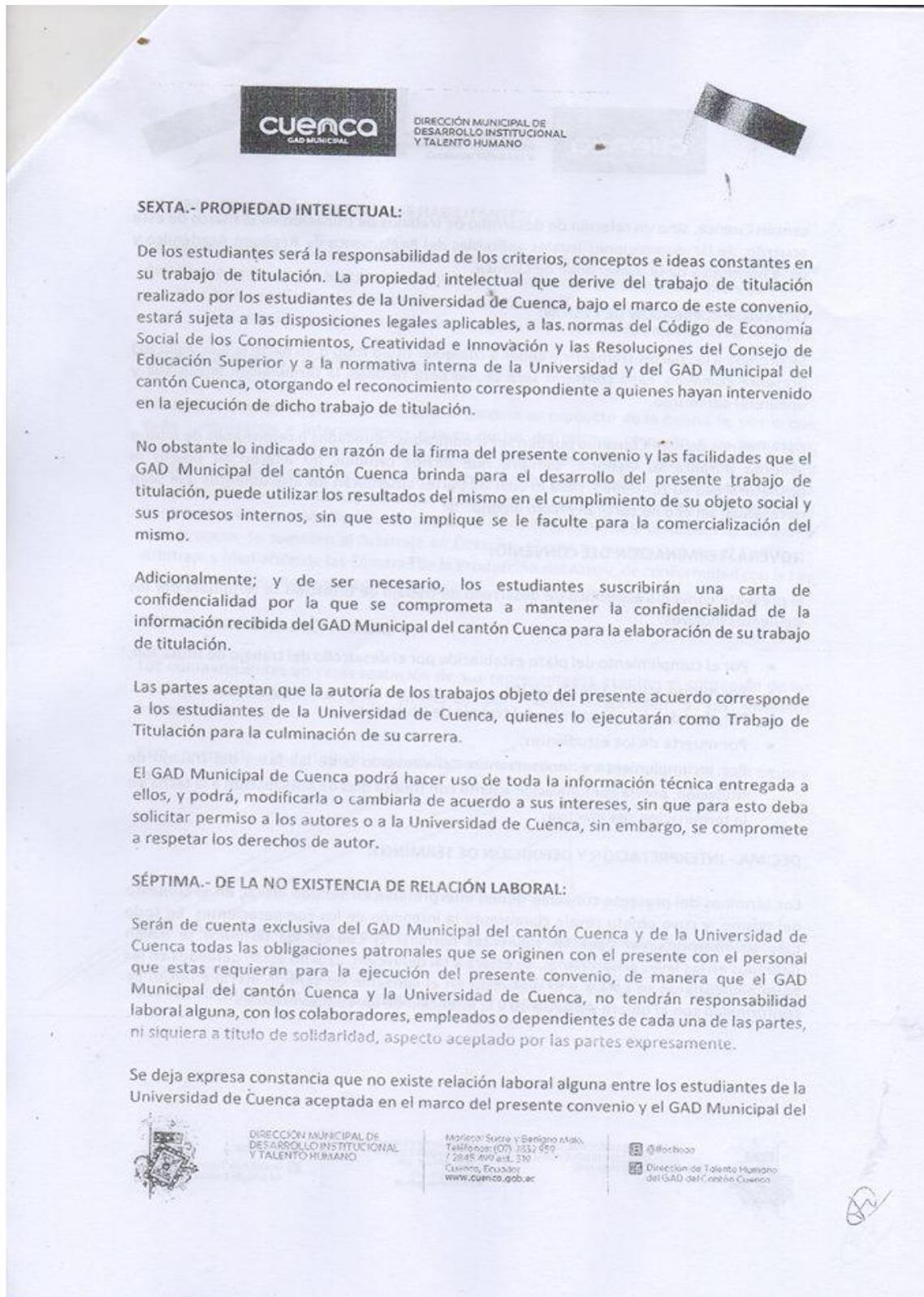


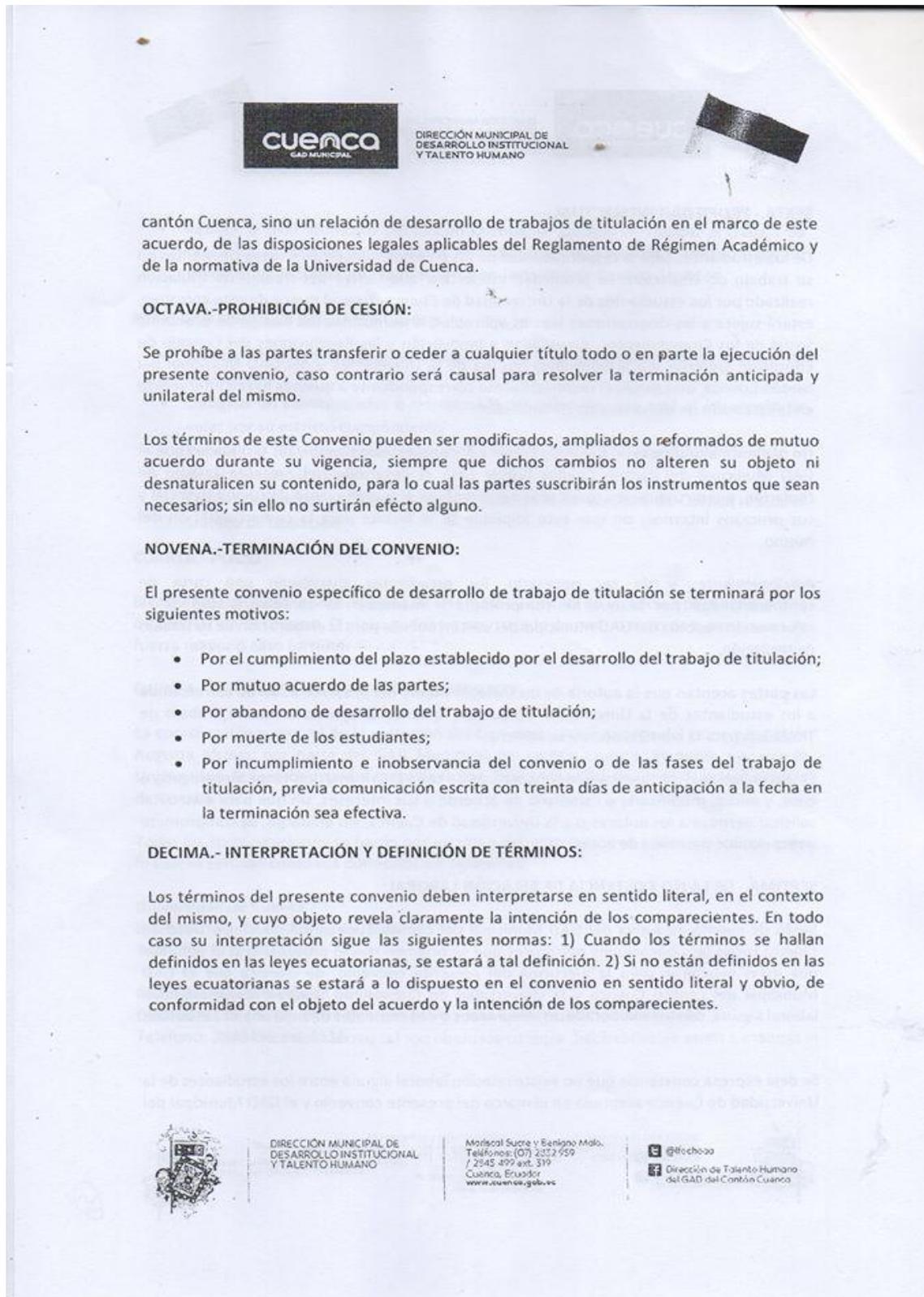
DIRECCIÓN MUNICIPAL DE
DESARROLLO INSTITUCIONAL
Y TALENTO HUMANO

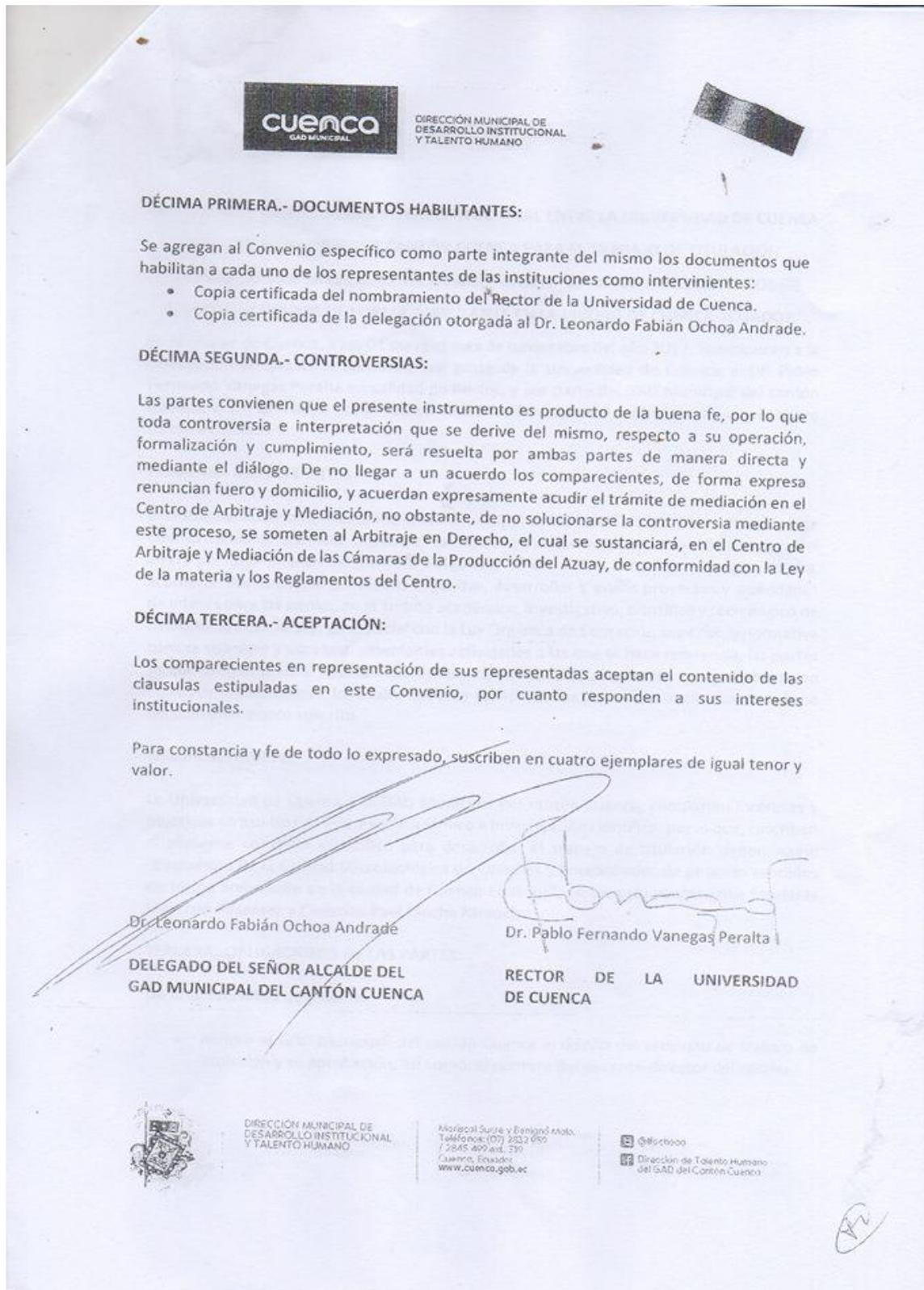
Av. Calle Sucre y Benigno Malo,
Teléfonos: (07) 2822 959
/ 2845 499 ext. 319
Cuenca, Ecuador
www.cuenca.gob.ec

@fochooa

Dirección de Talento Humano
del GAD del cantón Cuenca









Anexo 3

3.1 Ubicación de los vendedores y el cumplimiento de los mismos

Ubicación de vendedores	Cumplimiento
Parque Monay	No cumple
IESS	No cumple
Parque Daniel Córdova	No cumple
Sector Feria libre	No cumple
Sector Feria libre	No cumple
Sector Feria libre	Cumple
Sector Feria libre	No cumple
Sector Feria libre	No cumple
Centro Baños	No cumple
Vía a Baños	Cumple
Narancay	No cumple
Escuela Ignacio Escandón	No cumple
El tiempo	No cumple
Av. Loja y Don Bosco	No cumple
Control Sur	Cumple
Av. Loja	No cumple
9 de Octubre	No cumple
Mercado 12 de Abril	No cumple
Parque de las Flores	No cumple

3.2 Recuentos de aerobios mesófilos en placas Compact Dry®

ID	Muestra	Recuento aerobios mesófilos ($\leq 10^4$ UFC/g)	Cumple/No cumple	ID	Muestra	Recuento aerobios mesófilos ($\leq 10^4$ UFC/g)	Cumple/No cumple
1	Ceviche	$2,7 \times 10^5$	No cumple	20	Ceviche	$7,0 \times 10^4$	No cumple
2	Ceviche	$1,0 \times 10^4$	Cumple	21	Ceviche	$1,5 \times 10^5$	No cumple
3	Ceviche	$6,0 \times 10^7$	No cumple	22	Ceviche	$5,1 \times 10^6$	No cumple
4	Encebollado	$7,0 \times 10^4$	No cumple	23	Encebollado	$4,0 \times 10^5$	No cumple
5	Encebollado	$1,0 \times 10^5$	No cumple	24	Encebollado	$2,3 \times 10^5$	No cumple
6	Encebollado	$< 1,0 \times 10^3$	Cumple	25	Encebollado	$< 1,0 \times 10^3$	Cumple
7	Ceviche	$1,1 \times 10^5$	No cumple	26	Ceviche	$7,8 \times 10^6$	No cumple
8	Ceviche	$1,8 \times 10^6$	No cumple	27	Ceviche	$3,4 \times 10^6$	No cumple
9	Ceviche	$6,0 \times 10^5$	No cumple	28	Ceviche	$5,0 \times 10^4$	No cumple
10	Ceviche	$< 1,0 \times 10^3$	Cumple	29	Ceviche	$< 1,0 \times 10^3$	Cumple
11	Ceviche	$8,0 \times 10^6$	No cumple	30	Ceviche	$6,8 \times 10^7$	No cumple
12	Ceviche	$3,3 \times 10^6$	No cumple	31	Ceviche	$1,2 \times 10^5$	No cumple
13	Ceviche	$1,0 \times 10^7$	No cumple	32	Ceviche	$1,7 \times 10^5$	No cumple
14	Ceviche	$2,2 \times 10^5$	No cumple	33	Ceviche	$3,3 \times 10^5$	No cumple
15	Ceviche	$8,0 \times 10^4$	No cumple	34	Ceviche	$< 1,0 \times 10^3$	Cumple
16	Ceviche	$1,5 \times 10^6$	No cumple	35	Ceviche	$4,6 \times 10^5$	No cumple
17	Ceviche	$5,0 \times 10^5$	No cumple	36	Ceviche	$5,9 \times 10^5$	No cumple
18	Ceviche	$8,0 \times 10^4$	No cumple	37	Ceviche	$7,8 \times 10^7$	No cumple
19	Ceviche	$1,1 \times 10^5$	No cumple	38	Ceviche	$3,8 \times 10^6$	No cumple

3.3 Recuento *E. coli* en placas Compact Dry®

ID	Muestra	Recuento de <i>E. coli</i> (≤ 10 UFC/g)	Cumple/ No cumple	ID	Muestra	Recuento de <i>E. coli</i> (≤ 10 UFC/g)	Cumple/ No cumple
1	Ceviche	<10	Cumple	20	Ceviche	<10	Cumple
2	Ceviche	10	Cumple	21	Ceviche	$8,5 \times 10^4$	No cumple
3	Ceviche	1.1×10^2	No cumple	22	Ceviche	1×10^2	No cumple
4	Encebollado	90	No cumple	23	Encebollado	6×10^2	No cumple
5	Encebollado	10	Cumple	24	Encebollado	<10	Cumple
6	Encebollado	<10	Cumple	25	Encebollado	<10	Cumple
7	Ceviche	7×10^2	No cumple	26	Ceviche	3×10^2	No cumple
8	Ceviche	8×10^2	No cumple	27	Ceviche	$2,3 \times 10^4$	No cumple
9	Ceviche	$2,9 \times 10^2$	No cumple	28	Ceviche	<10	Cumple
10	Ceviche	<10	Cumple	29	Ceviche	<10	Cumple
11	Ceviche	$1,5 \times 10^3$	No cumple	30	Ceviche	$2,4 \times 10^4$	No cumple
12	Ceviche	$1,2 \times 10^2$	No cumple	31	Ceviche	<10	Cumple
13	Ceviche	1×10^3	No cumple	32	Ceviche	1×10^2	No cumple
14	Ceviche	1×10^2	No cumple	33	Ceviche	6×10^2	No cumple
15	Ceviche	<10	Cumple	34	Ceviche	<10	Cumple
16	Ceviche	<10	Cumple	35	Ceviche	30	No cumple
17	Ceviche	<10	Cumple	36	Ceviche	3×10^2	No cumple
18	Ceviche	<10	Cumple	37	Ceviche	<10	Cumple
19	Ceviche	30	No cumple	38	Ceviche	<10	Cumple

3.4 Recuento de *S. aureus* en placas Compact Dry®

ID	Muestra	Recuento de <i>S. aureus</i> ($\leq 1 \times 10^2$ UFC/g)	Cumple/ No cumple	ID	Muestra	Recuento de <i>S. aureus</i> ($\leq 1 \times 10^2$ x 10^2 UFC/g)	Cumple/ No cumple
1	Ceviche	1×10^2	Cumple	20	Ceviche	50	Cumple
2	Ceviche	20	Cumple	21	Ceviche	<10	Cumple
3	Ceviche	4	Cumple	22	Ceviche	3×10^2	No cumple
4	Encebollado	<10	Cumple	23	Encebollado	50	Cumple
5	Encebollado	1×10^2	Cumple	24	Encebollado	30	Cumple
6	Encebollado	<10	Cumple	25	Encebollado	10	Cumple
7	Ceviche	10	Cumple	26	Ceviche	10	Cumple
8	Ceviche	20	Cumple	27	Ceviche	10	Cumple
9	Ceviche	$2,7 \times 10^2$	No cumple	28	Ceviche	<10	Cumple
10	Ceviche	<10	Cumple	29	Ceviche	<10	Cumple
11	Ceviche	20	Cumple	30	Ceviche	$3,5 \times 10^2$	No cumple
12	Ceviche	$2,7 \times 10^2$	No cumple	31	Ceviche	<10	Cumple
13	Ceviche	20	Cumple	32	Ceviche	20	Cumple
14	Ceviche	<10	Cumple	33	Ceviche	<10	Cumple
15	Ceviche	<10	Cumple	34	Ceviche	10	Cumple
16	Ceviche	$3,8 \times 10^2$	No cumple	35	Ceviche	20	Cumple
17	Ceviche	<10	Cumple	36	Ceviche	30	Cumple
18	Ceviche	70	Cumple	37	Ceviche	10	Cumple
19	Ceviche	50	Cumple	38	Ceviche	$2,3 \times 10^2$	No cumple

3.5 Resultados detección de *Salmonella* spp. Técnica Reveal 2.0

ID	Muestra	Presencia/ Ausencia en 25g de <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	ID	Muestra	Presencia/ Ausencia en 25g de <i>Salmonella</i> <i>spp</i>
1	Ceviche	Presencia	20	Ceviche	Ausencia
2	Ceviche	Presencia	21	Ceviche	Ausencia
3	Ceviche	Presencia	22	Ceviche	Ausencia
4	Encebollado	Ausencia	23	Encebollado	Ausencia
5	Encebollado	Presencia	24	Encebollado	Ausencia
6	Encebollado	Presencia	25	Encebollado	Ausencia
7	Ceviche	Presencia	26	Ceviche	Ausencia
8	Ceviche	Ausencia	27	Ceviche	Ausencia
9	Ceviche	Ausencia	28	Ceviche	Ausencia
10	Ceviche	Ausencia	29	Ceviche	Ausencia
11	Ceviche	Ausencia	30	Ceviche	Ausencia
12	Ceviche	Ausencia	31	Ceviche	Presencia
13	Ceviche	Presencia	32	Ceviche	Ausencia
14	Ceviche	Ausencia	33	Ceviche	Ausencia
15	Ceviche	Ausencia	34	Ceviche	Ausencia
16	Ceviche	Ausencia	35	Ceviche	Ausencia
17	Ceviche	Ausencia	36	Ceviche	Ausencia
18	Ceviche	Presencia	37	Ceviche	Ausencia
19	Ceviche	Ausencia	38	Ceviche	Ausencia

3.6 Detección de *V. parahaemolyticus* en placas Compact Dry®

ID	Muestra	Presencia/ Ausencia en 25g de <i>V. parahaemolyticus</i>	ID	Muestra	Presencia/ Ausencia en 25g de <i>V. parahaemolyticus</i>
1	Ceviche	Ausencia	20	Ceviche	Presencia
2	Ceviche	Ausencia	21	Ceviche	Ausencia
3	Ceviche	Presencia	22	Ceviche	Presencia
4	Encebollado	Presencia	23	Encebollado	Ausencia
5	Encebollado	Presencia	24	Encebollado	Ausencia
6	Encebollado	Ausencia	25	Encebollado	Ausencia
7	Ceviche	Presencia	26	Ceviche	Presencia
8	Ceviche	Presencia	27	Ceviche	Presencia
9	Ceviche	Presencia	28	Ceviche	Ausencia
10	Ceviche	Ausencia	29	Ceviche	Ausencia
11	Ceviche	Ausencia	30	Ceviche	Presencia
12	Ceviche	Presencia	31	Ceviche	Ausencia
13	Ceviche	Presencia	32	Ceviche	Presencia
14	Ceviche	Ausencia	33	Ceviche	Ausencia
15	Ceviche	Ausencia	34	Ceviche	Ausencia
16	Ceviche	Presencia	35	Ceviche	Presencia
17	Ceviche	Presencia	36	Ceviche	Presencia
18	Ceviche	Presencia	37	Ceviche	Ausencia
19	Ceviche	Presencia	38	Ceviche	Presencia