

Artículo Original / Original Article

Control microbiológico de alimentos en la vía pública en Cuenca, Ecuador

Microbiological control of street foods in Cuenca, Ecuador

Jéssica León¹. <https://orcid.org/0000-0003-4913-1717>

Johana Ortiz^{1*}. <http://orcid.org/0000-0002-7171-7135>

Diana Astudillo¹. <http://orcid.org/0000-0003-4539-910X>

Gabriela Astudillo¹. <https://orcid.org/0000-0001-6380-1268>

Silvana Donoso¹. <https://orcid.org/0000-0002-8556-7334>

1. Departamento de Biociencias. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.

*Dirigir correspondencia: Johana Ortiz

Departamento de Biociencias. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.

Av. 12 de Abril s/n Cda. Universitaria, P.O. Box 01.01.168. Cuenca, Ecuador.

Email: johana.ortiz@ucuenca.edu.ec

Este trabajo fue recibido el 12 de octubre de 2022.

Aceptado con modificaciones: 08 de mayo de 2023.

Aceptado para ser publicado: 04 de julio de 2023.

RESUMEN

El comercio ambulante de alimentos listos para el consumo ha crecido exponencialmente a nivel mundial. Sin embargo, la falta de condiciones óptimas de preparación y expendio de estos alimentos pueden afectar su inocuidad. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de 19 tipos de alimentos ($n=417$), con y sin tratamiento térmico, expendidos en espacios públicos en Cuenca, Ecuador. Según el grupo de alimentos, se analizaron aerobios mesófilos, coliformes/ *Escherichia coli*, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria spp.*, *Clostridium perfringens* y *Vibrio parahaemolyticus*. Para la identificación y recuento de los microorganismos se aplicaron normativas nacionales y, en casos de ausencia, se adoptaron normas de otros países. Como resultado, el 55,4% de las muestras se consideraron no aptas para el consumo. *S. aureus* fue el microorganismo patógeno presuntivo de mayor prevalencia (81,7%). El incumplimiento de las normativas fue significativamente mayor entre los alimentos sin tratamiento térmico (54,1%) en comparación con aquellos térmicamente tratados (24%) y los que combinan ingredientes con y sin tratamiento (21,9%) ($p<0,001$). Se destaca el alto porcentaje de incumplimiento de alimentos sin tratamiento térmico que son manipulados en su preparación, como los jugos. Además, se observó que el tratamiento térmico no garantizó la inocuidad, sugiriendo una posible recontaminación del alimento luego de su preparación hasta su expendio y consumo, por medios ambientales y/o adición de otros ingredientes contaminados. Este estudio recalca la necesidad de acciones concretas con este sector, basados principalmente en capacitación, infraestructura e inclusión, para garantizar la salud de los consumidores.

Palabras clave: Alimentos en la vía pública; Contaminación de alimentos; Ecuador; Manipulación de alimentos, Microbiología de alimentos.

ABSTRACT

Street-vending trade in ready-to-eat foods has grown exponentially, worldwide. However, the lack of optimal conditions for the preparation and sale of these foods can affect their safety. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of 19 types of foods ($n=417$), with and without heat treatment, sold in public spaces in Cuenca, Ecuador. According to the food group, mesophilic aerobes, coliforms/*Escherichia coli*, molds and yeasts, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria spp.*, *Clostridium perfringens*, and *Vibrio parahaemolyticus* were examined. For microorganisms identification and counting, national regulations were applied and, in cases of absence, regulations from other countries were adopted. As a result, 55,4% of the samples were considered inadequate for consumption. *S. aureus* was the most prevalent presumptive pathogenic microorganism (81.7%). Non-compliance with regulations was significantly higher among foods without heat treatment (54.1%) compared to those heat treated (24%) and those that combine ingredients with and without treatment (21.9%) ($p<0.001$). The high percentage of non-compliance with foods without heat treatment that is handled for preparation, such as juices, stands out. In addition, it was observed that the heat treatment did not guarantee safety, suggesting possible food recontamination after preparation until sale and consumption, due to environmental means and/or the addition of other contaminated ingredients. This study emphasizes the need for concrete actions in this sector, mainly based on training, infrastructure, and inclusion, to guarantee consumers' health.

Keywords: Ecuador; Food contamination; Food handling; Food microbiology; Street foods.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial¹. Se han descrito más de 200 ETA causadas por 31 agentes contaminantes como bacterias, virus, parásitos, toxinas y productos químicos, cuyas manifestaciones van desde síntomas gastrointestinales hasta enfermedades crónicas a largo plazo, como el cáncer². Dentro de las bacterias causantes de ETA se destacan *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* como agentes causantes de intoxicación, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens* que causan toxicoinfección, y diversos agentes de infección, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli* 0157:H7³. La inocuidad de los alimentos, la nutrición y la seguridad alimentaria están estrechamente relacionadas, por lo tanto los alimentos insalubres generan un círculo vicioso de enfermedad y malnutrición, que afecta especialmente a lactantes, niños pequeños, ancianos y personas con enfermedades subyacentes⁴. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2020 se reportaron 600 millones de personas (1 de cada 10 habitantes) que se enferman anualmente al ingerir alimentos contaminados y alrededor de 420.000 fallecen por esta causa⁴.

La seguridad de los alimentos depende de varios factores como la calidad de las materias primas y de las prácticas de preparación, manipulación, almacenamiento y distribución de los alimentos⁵. Además, el control de ETA depende de la falta de infraestructura y servicios básicos, escasa capacitación en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y la falta de verificación por parte de las autoridades sanitarias^{6,7}. La preparación y venta de alimentos en los espacios públicos es una actividad común en países en desarrollo, y de aceptación popular debido a su accesibilidad, bajo costo y variedad^{8,9}. Se pueden encontrar alimentos crudos listos para comer, tales como ensaladas (verduras y frutas), alimentos precocinados o

alimentos cocinados y una gran variedad de bebidas⁶. Sin embargo, existe una percepción de inseguridad al consumir estos alimentos debido a las posibles prácticas de manipulación insatisfactorias⁸, lo que se ha corroborado con la detección de altos niveles de contaminación⁹.

En América Latina, la venta ambulante de alimentos se ha convertido en un factor de riesgo potencial para la salud de los consumidores, debido a las deficientes y limitadas condiciones de higiene y aseo en la mayoría de los puestos de venta¹⁰. Se ha reportado que la inocuidad de estos alimentos se relaciona directamente a las prácticas de higiene de los manipuladores y que las probables fuentes de contaminación son los utensilios, equipos e incluso ingredientes crudos que se agregan a alimentos listos para el consumo⁷. En Ecuador, en el año 2020 se reportaron 8.924 casos de ETA a nivel nacional con un decremento del 54% con relación al año 2019. En la provincia del Azuay, se reportaron 43 casos de ETA hasta el último reporte disponible hasta el primer trimestre del año 2021¹¹.

El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de una amplia variedad de alimentos expendidos de forma ambulante en la ciudad de Cuenca, Ecuador, con miras a establecer una línea base para el desarrollo de estrategias de mejoramiento de la calidad de estos alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio y muestreo

Este estudio se llevó a cabo en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, Ecuador, ubicada al sur de la región andina a 2.538 m.s.n.m. Las muestras de alimentos se tomaron por dos ocasiones con un intervalo de una semana en 187 puestos de venta en la vía pública, dentro del periodo junio 2017 a diciembre 2018. En total, se recolectaron 417 muestras clasificadas en 19 tipos de alimentos preparados, con y sin tratamiento térmico, descritos en la tabla 1.

Las muestras se recolectaron en el envase original en el que se expendían. Luego se colocaron en fundas plásticas estériles previamente etiquetadas y fueron transportadas hasta el laboratorio manteniendo la cadena de frío (0-4 °C), en donde se procesaron inmediatamente.

Pre-tratamiento de las muestras

Se mezclaron 25 g de cada alimento con 225 ml de agua de peptona estéril al 0,1% (Merck, Alemania) en una licuadora (Osterizer, EE.UU.) a 20.000 rpm por 30 segundos. A partir de esta suspensión (10^{-1}), se realizaron las diluciones seriadas decimales necesarias para el análisis microbiológico¹².

Análisis microbiológico

Para cada muestra, el recuento presuntivo e identificación de los microorganismos indicadores y/o patógenos se realizó conforme a las Normas Técnicas Ecuatorianas (NTE) del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). En caso de ausencia de normas nacionales, se adoptaron normas de otros países (Tabla 2).

El recuento y/o la detección de aerobios mesófilos, coliformes / *E. coli*, *S. aureus* y *Vibrio parahaemolyticus* se realizó mediante el uso de placas cromógenas de Compact Dry™ (Alemania) en ceviches, encebollados, morcillas, grosellas, mangos, ciruelos, hot dog, cascarita, sancocho, espumillas y empanadas. En cada placa se depositó 1 ml de la dilución correspondiente y se incubó (Incubadora, FANEM, Brasil) por 24 ± 2 horas a 35 ± 2 °C. Las colonias se identificaron por su coloración característica, siendo roja para aerobios mesófilos y coliformes, azul para *E. coli* y *S. aureus* y verde azuladas para *V. parahaemolyticus*. Los resultados se expresaron como UFC/g o ml del alimento.

En jugos, granizados, agua de sábila, ensalada de frutas, helados, chuzos y aderezos, el recuento de aerobios mesófilos, coliformes / *E. coli* y *S. aureus* se realizó mediante las placas Petrifilm (3M, México). En cada placa se depositó 1 ml de la dilución y se incubó por 24 ± 2 horas a 35 ± 1 °C. El color característico de las colonias es rojo para aerobios mesófilos, rojo-violeta para *S. aureus*, y rojas y azules con presencia de gas para coliformes / *E. coli*, respectivamente. Para el recuento de mohos y levaduras, se incubó a 25 ± 1 °C por 3 a 5 días. Se identificaron colonias azul-verdosas con bordes definidos para levaduras, y colonias de pigmentación variable con bordes difusos para mohos. Los resultados se expresaron como UFC/g o ml del alimento.

Para determinar la presencia de *Salmonella* se realizó un enriquecimiento a partir de 25 g de alimento con el medio Salmonella Enrichment Broth 3MTM y Salmonella Enrichment suplement (3M, México). Se incubó a 41.5 ± 1 °C por 24 horas. Se transfirió 10 µl de la muestra enriquecida con asa estéril y se sembró por estriado en la placa (previamente hidratada con 2 ml de agua destilada estéril). Tras una incubación adicional por 24 horas, la

presencia de *Salmonella* se constató con la aparición de colonias rojas con zonas amarillas.

En ceviches, encebollados, morcillas, grosellas, mango, ciruelos, ensalada de frutas, hot dog, cascarita, sancocho, espumillas, empanadas, *Salmonella* spp. se detectó mediante la prueba Reveal 2.0 (USA), que inició con un pre-enriquecimiento de 25 g del alimento en el medio Revive™ y se incubó a 36 ± 1 °C por 4 horas, seguido de un enriquecimiento selectivo en el medio Rappaport Vassidialis™ con incubación 42 ± 1 °C por 16 a 24 horas. Finalmente, se realizó una prueba inmunocromatográfica mediante la sumersión de una tira reactiva con anticuerpos específicos anti-*Salmonella* en 200 µl de medio de enriquecimiento, a temperatura ambiente por 15 minutos.

Para determinar la presencia de *Listeria* sp. se utilizó la prueba Reveal 2.0., en el que 25 g de muestra se mezcló vigorosamente por unos segundos con el medio de enriquecimiento LESS. Se incubó a 30 ± 1 °C por un periodo de 27 a 30 horas. Pasado el tiempo de incubación, se tomó 2 ml de la muestra enriquecida y se colocó a baño maría (Memmert, Noruega) a 80 °C por 20 minutos. Luego se transfirió 200 µl en el recipiente de muestras de la prueba para la medición con la tirilla Reveal 2.0 al cabo de 20 minutos.

Para determinar la presencia presuntiva de *C. Perfringens* se utilizó el método tradicional de siembra en agar sulfito polimixina sulfadiazina (SPS) (Merck, Alemania). Se colocó 1 ml de la dilución correspondiente en cada placa Petri, se agregó 20 ml del agar SPS y se incubó en anaerobiosis a 33 ± 2 °C por 20 a 24 horas. Las colonias características de este microorganismo son de color negro. Los resultados se expresaron como UFC/g o ml del alimento.

ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados fueron descritos como media y desviación estándar de los recuentos y comparados con los límites máximos establecidos en las normativas. Se reportó el porcentaje de incumplimiento de cada parámetro y el cumplimiento general del alimento. Se evaluó la correlación entre el porcentaje de incumplimiento y los alimentos categorizados por el tratamiento térmico, mediante la prueba de correlación de Chi cuadrado con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la calidad microbiológica de 19 tipos de alimentos provenientes de 187 puestos de venta ambulante en la ciudad de Cuenca, Ecuador. En total, se analizaron 417 muestras de alimentos, de los cuales 211 (50,6%) fueron alimentos sin tratamiento térmico, 136 (32,6%) con tratamiento térmico y 70 (16,8%) alimentos conformados con ingredientes con y sin tratamiento térmico. En general, el 55,4% de los alimentos analizados (231/417) se consideraron no aptos para el consumo humano por sobrepasar los límites establecidos en las normas de referencia, en uno o varios parámetros de control (Tabla 2).

Tabla 1. Descripción de las muestras analizadas de alimentos expendidos en la vía pública.

Nº	Alimento	Descripción	Número de lugares de expendio	Número de muestras
1	Ají	Ají, crudo, licuado, con tomate, comercialmente preparado	6 ^a	12
2	Cascarita	Cerdo, cuero, cocinado, comercialmente preparado	5 ^b	10
3	Ceviche de pescado	Pescado crudo, encurtido, con limón, comercialmente preparado	16	32
4	Ciruelos	Ciruelo verde, crudo, con cáscara, con sal	6 ^c	12
5	Chuzos	Carne fileteada, embutido, cebolla, pimienta, asados, comercialmente preparados	30	60
6	Empanadas	Empanadas, de viento, harina de trigo, fritas, comercialmente preparadas	5	10
7	Encebollados	Pescado, bacalao, yuca, cocinado, con sal, con cebolla, comercialmente preparados	3	6
8	Ensaladas de frutas	Frutas variadas, peladas, crudas, sin semillas, comercialmente preparadas	21	42
9	Espumilla	Clara de huevos, batidos, con guayaba, cruda, comercialmente preparada	19	38
10	Grosellas	Grosella cruda, con sal	6 ^c	12
11	Helados	Agua, fruta variada, cruda, licuado, congelado, comercialmente preparados	31	31
12	Hot dog	Pan, vienesa, cocida, comercialmente preparados	10	20
13	Jugo de naranja	Naranja, cruda, sin semillas, extracción mecánica	13	26
14	Jugo de coco	Agua de coco, pulpa de coco, licuado, comercialmente preparado	7 ^d	14
15	Mangos	Mango, pelado, crudo, con sal	12	24
16	Mayonesa	Huevo crudo, aceite, licuado, artesanalmente preparada	6 ^a	12
17	Morcilla blanca	Tripa de cerdo, embutida, con arroz, cebolla, col, sal, cocinada, comercialmente preparada	5 ^e	10
18	Morcilla negra	Tripa de cerdo, embutida, con arroz, cebolla, col, sal, sangre de cerdo, cocinada, comercialmente preparada	5	10
19	Sancocho	Carne de cerdo, con sal, con ajo, con comino, cocinada, comercialmente preparado	18	36
TOTAL			187	417

^a Incluido en el recuento de lugares de expendio de chuzos. ^b Incluido en el recuento de lugares de expendio de sancocho. ^c Incluido en el recuento de lugares de expendio de mango. ^d Tres de los lugares están incluidos en el recuento de lugares de expendio de jugo de naranja.

^e Incluido en el recuento de lugares de expendio de morcilla negra.

Tabla 2. Cumplimiento de los límites máximos permitidos (LMP) de los microorganismos evaluados por tipo de alimento.

Alimento	Microorganismo	Media +/- DE	LMP (UFC/g o UFC/ml)	Incumplimiento por parámetro (%)	Cumplimiento total (%)
Ají n= 12	Coliformes totales	$2,7 \times 10^2 \pm 2,6 \times 10^2$	10^2	33	42 ^a
	Mohos	$1,4 \times 10^2 \pm 1,1 \times 10^2$	10^2	50	
	Levaduras	$1,0 \times 10^2 \pm 1,6 \times 10^2$	10^2	50	
Cascarita n= 10	Aerobios mesófilos	$7,4 \times 10^5 \pm 2,9 \times 10^5$	5×10^5	20	80 ^b
	<i>Escherichia coli</i>	$2,5 \times 10^2 \pm 2,1 \times 10^2$	<10	20	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$7,6 \times 10^2 \pm 6,5 \times 10^2$	1×10^3	10	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Ceviches n= 32	Aerobios mesófilos	$8,0 \times 10^6 \pm 2,0 \times 10^7$	10^4	87,5	9,4 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	$4,3 \times 10^3 \pm 1,5 \times 10^4$	10	56,2	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$7,3 \times 10^1 \pm 1,1 \times 10^2$	10^2	19	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	21,8	
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Ausencia/25 g	56,2	
Ciruelos n= 12	Aerobios mesófilos	$1,2 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^4$	10^4	8,4	83,3 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	8,4	
Chuzos n= 60	Aerobios mesófilos	$2,6 \times 10^4 \pm 5,6 \times 10^4$	10^4	21,7	16,7 ^a
	Coliformes totales	$1,3 \times 10^2 \pm 1,6 \times 10^2$	10	76,7	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,2 \times 10^2 \pm 1,7 \times 10^2$	10	81,7	
	<i>Escherichia coli</i>	$1,1 \times 10^2 \pm 2,1 \times 10^2$	<3	36,7	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Empanadas n= 10	Aerobios mesófilos	0	10^4	0	100 ^a
	Coliformes totales	0	10	0	
	<i>Escherichia coli</i>	0	<3	0	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Encebollados n= 6	Aerobios mesófilos	$1,3 \times 10^5 \pm 1,6 \times 10^5$	10^4	66,6	16,6 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	$1,2 \times 10^2 \pm 2,4 \times 10^2$	10	33,3	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$3,5 \times 10^1 \pm 3,5 \times 10^1$	10^2	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	33,3	
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Ausencia/25 g	33,3	
Ensalada de frutas n= 42	Aerobios mesófilos	$3,2 \times 10^4 \pm 2,8 \times 10^4$	10^4	71,5	28,5 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	$2,02 \times 10^1 \pm 7,16 \times 10^1$	10	7,2	
	<i>Listeria</i> sp.	-	Ausencia/25 g	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Espumilla n= 38	Aerobios mesófilos	$1,6 \times 10^5 \pm 1,9 \times 10^5$	10^4	76,3	18,4 ^c
	<i>Escherichia coli</i>	-	Ausencia	7,8	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	26,3	
Grosellas n= 12	Aerobios mesófilos	$8,2 \times 10^3 \pm 6,5 \times 10^3$	10^4	41,7	58,3 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	

continuación tabla 2.

Alimento	Microorganismo	Media +/- DE	LMP (UFC/g o UFC/ml)	Incumplimiento por parámetro (%)	Cumplimiento total (%)
Helados n= 31	Aerobios mesófilos	$4,3 \times 10^2 \pm 5,6 \times 10^2$	10^4	0	77,4 ^d
	Coliformes totales	$2,5 \times 10^2 \pm 4,0 \times 10^2$	10^2	38,7	
	<i>Escherichia coli</i>	0	<3	0	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$8,2 \times 10^1 \pm 2,5 \times 10^2$	<10	41,9	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Hot dog n= 20	Aerobios mesófilos	$5,9 \times 10^2 \pm 4,2 \times 10^4$	5×10^4	15	40 ^a
	<i>Clostridium perfringens</i>	0	10	0	
	<i>Escherichia coli</i>	$5,5 \times 10^3 \pm 0$	10	5	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	45	
	<i>Listeria</i> sp.	-	Ausencia/25 g	10	
Jugo de naranja n= 26	<i>Escherichia coli</i>	$1,5 \times 10^2 \pm 2,6 \times 10^2$	<10	57,7	7,7 ^e
	Mohos y levaduras	$3,1 \times 10^3 \pm 2,5 \times 10^3$	10^3	65,4	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Jugo de coco n= 14	<i>Escherichia coli</i>	$1,1 \times 10^2 \pm 1,9 \times 10^2$	<10	64,3	28,6 ^e
	Mohos y levaduras	$3,1 \times 10^3 \pm 5,3 \times 10^3$	10^3	50	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Mangos n= 24	Aerobios mesófilos	$5,4 \times 10^4 \pm 7,8 \times 10^4$	10^4	54,2	45,8 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	4,2	
Mayonesa n= 12	Aerobios mesófilos	$8,2 \times 10^4 \pm 9,8 \times 10^4$	10^4	75	25 ^a
	Levaduras	$3,0 \times 10^2 \pm 2,8 \times 10^2$	10	75	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$4,0 \times 10^2 \pm 8,9 \times 10^2$	10	75	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	25	
Morcilla negra n= 10	Aerobios mesófilos	$1,7 \times 10^3 \pm 1,3 \times 10^3$	5×10^5	0	80 ^b
	<i>Escherichia coli</i>	$1,8 \times 10^2 \pm 4,7 \times 10^2$	< 10	20	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$4,3 \times 10^1 \pm 1,4 \times 10^2$	1×10^3	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
Morcilla blanca n= 10	Aerobios mesófilos	$1,1 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^3$	5×10^4	0	90 ^a
	<i>Escherichia coli</i>	$2,6 \times 10^1 \pm 8,2 \times 10^1$	10	10	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,0 \times 10^2 \pm 1,0 \times 10^2$	10	0	
	<i>Clostridium perfringens</i>	0	10	0	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	
	<i>Listeria</i> sp.	-	Ausencia/25 g	0	
Sancocho n= 36	Aerobios mesófilos	$2,9 \times 10^5 \pm 2,7 \times 10^5$	5×10^5	8,3	91,7 ^b
	<i>Escherichia coli</i>	$2,0 \times 10^2 \pm 2,3 \times 10^2$	< 10	11,1	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$7,5 \times 10^2 \pm 4,2 \times 10^2$	1×10^3	8,3	
	<i>Salmonella</i> spp.	-	Ausencia/25 g	0	

^aNormativa de referencia³⁶. ^bNormativa de referencia³⁷. ^cNormativa de referencia³⁸. ^dNormativa de referencia³⁹. ^eNormativa de referencia⁴⁰.

En este estudio, los microorganismos indicadores y patógenos presuntivos fueron objeto de análisis. Los indicadores microbiológicos son ampliamente usados por ser microorganismos disponibles en forma profusa y relativamente fáciles de cultivar, al contrario de otros microorganismos de interés cuyo análisis y aislamiento es difícil y se presentan con poca frecuencia¹³. La presencia de microorganismos indicadores en los alimentos no implica forzosamente una amenaza para las personas o una calidad inferior de los productos¹³. Sin embargo, en grandes cantidades se correlaciona con malas prácticas de higiene, limpieza y desinfección^{13,14,15}. Además, su presencia no proporciona evidencia suficiente sobre el potencial peligro de encontrar un patógeno específico en el alimento^{13,14}. Los microorganismos patógenos, tanto en el agua como en los alimentos, representan un peligro biológico de contraer infecciones, intoxicaciones o toxicoinfecciones alimentarias para el consumidor. Entre los principales patógenos en los alimentos se pueden destacar a *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *B. cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* y *Brucella*^{10,14}.

En este estudio, para los alimentos cocidos, asados o fritos (chuzos, empanadas, hot dog, morcillas negras y blancas, sancocho y cascarita) se analizaron aerobios mesófilos y coliformes como microorganismos indicadores; mientras que para los alimentos sin tratamiento térmico se adicionó el análisis de mohos y levaduras, tal como lo establecen las normativas de referencia. De manera general, el porcentaje de incumplimiento de las normativas de control fue significativamente mayor entre los alimentos sin tratamiento térmico (54,1%) en comparación con los alimentos térmicamente tratados (24%) y los alimentos que combinan ingredientes con y sin tratamiento térmico (21,9%) ($p < 0,001$) (Tabla 3). Entre los alimentos sin tratamiento térmico, se destacan aquellos que requieren de manipulación para su preparación como los jugos (71,4-92,3%), espumilla (81,6%), mayonesa (75%) y ensalada de frutas (71,5%). Por el contrario, los alimentos con tratamiento térmico, en general, presentaron menores porcentajes de incumplimiento, variando entre 0% para empanadas y 20% en morcilla negra y cascarita. La

excepción en este grupo fueron los chuzos que alcanzaron un porcentaje de incumplimiento de 83,3%. Considerando las condiciones usuales de preparación de este alimento, su nivel de incumplimiento sugiere una posible contaminación cruzada con los alimentos crudos que se manipulan con los mismos utensilios. De manera similar, el alto porcentaje de incumplimiento de alimentos como el ceviche, hot dog, encebollado y ají puede deberse a la adición de diferentes ingredientes sin tratamiento térmico, por lo que fueron categorizados como alimentos combinados.

Los alimentos sin tratamiento térmico presentaron mayores porcentajes de incumplimiento para aerobios mesófilos, que es un indicador que ha sido asociado a falencias en la aplicación de buenas prácticas de manufactura (BPM), de la falta de abastecimiento de agua potable, incorrectas prácticas de higiene, instalaciones inadecuadas y a la falta de áreas de preparación, venta y consumo de alimentos^{10,16}. Por el contrario, el tratamiento térmico podría reducir la carga de aerobios mesófilos, como lo observado en alimentos expendidos en las calles de Bogotá¹⁰.

En Ecuador, se ha reportado que los alimentos listos para el consumo que se expenden en espacios públicos pueden ser portadores directos de clones epidémicos de *E. coli*¹⁷. En este estudio, *E. coli* fue el microorganismo que obtuvo el recuento presuntivo con mayor incumplimiento en alimentos sin tratamiento térmico, como los jugos de naranja (57,7%) y de coco (64,3%). Este incumplimiento también se evidenció en los alimentos asados, como los chuzos (36,7%) y cascarita (20%). Esto podría atribuirse a una inadecuada cocción o por una contaminación post proceso térmico, similar a lo observado en un estudio en Brasil sobre comida rápida preparada con productos cárnicos en el que el 91% de las muestras excedieron los parámetros microbianos para coliformes fecales¹⁸. Se ha sugerido que tanto la higiene del manipulador como la de los alimentos, utensilios y del sitio de manipulación son indispensables para obtener productos inocuos, especialmente para reducir la contaminación de coliformes fecales en los alimentos¹⁰. Se ha reportado también que en los lugares de expendio que usan contenedores de agua, se suele reutilizar el agua

Tabla 3. Análisis de correlación entre los tipos de alimentos según su tratamiento térmico y el cumplimiento de las normativas de control microbiológico.

Tipo de alimento	Total (%)	Cumple (%)	Incumple (%)	Valor p
Sin tratamiento	211 (50,6)	80 (45,7)	131 (54,1)	<0,001
Con tratamiento	136 (32,6)	78 (44,6)	58 (24)	
Combinado	70 (16,8)	17 (9,7)	53 (21,9)	
Total	417	175	242	

para lavarse las manos, los utensilios y las materias primas, lo que puede constituir un gran riesgo de contaminación¹⁶. De igual manera, en un estudio en la India se determinó que la falta de conciencia de los manipuladores con respecto al grado de contaminación microbiana es la principal razón de la presencia de bacterias patógenas como *E. coli*¹⁹.

La presencia de mohos y levaduras en los alimentos se considera un indicador de deficientes condiciones higiénicas, del tiempo de vida útil de los alimentos y del grado de contaminación ambiental al que está expuesto el producto¹⁴. Según las normativas de referencia, la presencia de mohos y levaduras solo se analiza en alimentos sin tratamiento térmico. En el presente estudio, el mayor incumplimiento de mohos y levaduras se observó en alimentos altamente perecederos, principalmente en la mayonesa (75%), jugo de naranja (65,4%), jugo de coco (50%) y en la salsa de ají (50%). Esto podría deberse a que los factores intrínsecos de estos alimentos, incluyendo la humedad, el contenido de azúcar y el pH ácido, favorecen la proliferación de estos microorganismos²⁰. Además, en el caso de los jugos de frutas, la carga microbiana presente en la superficie de la fruta que proviene de la flora existente en el suelo y el ambiente puede persistir en el jugo, lo que se exagera con la falta de conocimiento de la inocuidad e higiene de los alimentos por parte de los manipuladores^{20,21}.

La presencia del patógeno *Salmonella* implica un serio riesgo para la salud, con cuadros de gastroenteritis, especialmente en sujetos inmunocompetentes y cuadros severos en inmunodeprimidos²². En este estudio, este patógeno se encontró principalmente en alimentos derivados del huevo sin proceso térmico (espumilla 26,3%; mayonesa 25%), que han sido reportados como la fuente más común de brotes por *Salmonella* y otros microorganismos como *S. aureus*^{8,23}. Por otro lado, se encontró *Salmonella* en frutas como ciruelos (8,4%) y mangos (4,2%), lo cual ha sido previamente reportado en otro estudio y asociado directamente a prácticas de higiene deficientes en los puestos de venta y a la contaminación cruzada²⁴. El tratamiento térmico debería ser eficaz para mitigar la contaminación con *Salmonella* en los alimentos; sin embargo, en este estudio el 45% de las muestras de hot dog (45%) estuvieron contaminadas. Esto sugiere el riesgo de contaminación cruzada en los alimentos multiingredientes después de la cocción debido a la manipulación o a la adición de aderezos como la mayonesa.

S. aureus es el agente etiológico más frecuente de las intoxicaciones de origen alimentario, especialmente en determinados sectores de la población caracterizados por la falta de conocimiento y deficientes sistemas de salud²⁵. En este estudio se encontró un recuento presuntivo alto por *S. aureus* en alimentos sin distinción por tratamiento térmico, siendo más relevante en los chuzos (81,7%), mayonesa (75%) y helados (41,9%). La contaminación con *S. aureus* generalmente se presenta por el contacto del alimento con los manipuladores o por la utilización de la materia prima contaminada, como lo observado en un

estudio en Argentina en el que se determinó que el 37,5% de manipuladores portaban este microorganismo²⁶. En otro estudio se observó que las áreas de preparación de alimentos, los paños de cocina, utensilios o el agua durante el lavado de los platos o de las manos, pueden estar contaminados con *S. aureus*, producto de una contaminación cruzada entre las superficies de preparación y los alimentos²⁷. Así mismo, se ha encontrado que existen alimentos capaces de albergar a *S. aureus*, siendo los más susceptibles aquellos que tienen contacto con la piel del animal, tales como la leche, el huevo y los productos cárnicos. En particular, los productos cárnicos son muy susceptibles a la contaminación bacteriana superficial por sus características fisicoquímicas²⁵.

Listeria sp. se evaluó solo en el hot dog y morcilla blanca, que fueron los alimentos en los que la normativa correspondiente lo exigía. De éstos, solo en el hot dog se observó un 10% de incumplimiento, lo que representa una deficiencia en la higiene y preparación del alimento, tomando en cuenta que se expende como un producto listo para el consumo. De manera similar, este problema ha sido observado en carnes listas para el consumo en Namibia (11%), donde el hot dog también fue el alimento más contaminado²⁸. Se ha sugerido que el riesgo tras el consumo de este alimento se debe a su pH neutro que junto con temperaturas ambientales mayores a 25 °C favorecen el crecimiento bacteriano, lo que se exagera con los aderezos adicionados al producto al momento de consumirlos²⁹.

De los alimentos en los que la normativa exige la evaluación de *C. perfringes* (morcilla blanca y hot dog), ninguno presentó esta contaminación. Sin embargo, presentaron contaminación de otros microorganismos como *E. coli*, *Salmonella* y *Listeria* sp., que los hace no aptos para el consumo humano.

La identificación presuntiva de *V. parahaemolyticus* se observó en el 56,2% de ceviches y 33,3% de encebollados, alimentos basados en productos de origen marino y que además contienen ingredientes crudos como el tomate y cebolla que se incorporan en su preparación. Se ha reportado que la proliferación de *V. parahaemolyticus* puede controlarse con un almacenamiento refrigerado³⁰. Su presencia también ha sido asociada a un mal lavado y una preparación insegura del producto, así como fue reportado en 48 alimentos marinados consumidos crudos o pocos cocidos en México³⁰.

Los manipuladores de alimentos juegan un rol crucial en la prevención de la contaminación alimentaria³¹, por la estrecha relación con las prácticas de manipulación e higiene de las personas¹⁰. Además, identificar a los actores clave que tengan interés o que tengan un papel que desempeñar en la inocuidad de los alimentos a lo largo de la cadena alimentaria es fundamental para diseñar e implementar acciones participativas de mejora³². Los resultados de este estudio fueron discutidos con las autoridades de control urbano del gobierno local que carece de ordenanzas para este sector informal de comercio. Como resultado, se organizaron conversatorios con los manipuladores de

cada uno de los grupos de alimentos analizados donde se trataron temas generales de higiene y preparación, con miras al diseño de estrategias de capacitación y monitoreo de la calidad.

Los procesos de capacitación suelen ser diversos y enfocados principalmente en los conocimientos, actitudes y prácticas higiénicas^{31,33}. Sin embargo, se ha destacado que recibir una capacitación tradicional no es suficiente para mejorar las prácticas de inocuidad alimentaria por parte de los manipuladores, sino que es necesario utilizar metodologías alternativas y participativas que concientice al manipulador de su injerencia en la salud de los consumidores^{34,35}. Por otro lado, los vendedores ambulantes de alimentos conforman un sector informal caracterizado por un escaso o nulo control por parte de las autoridades sanitarias, por lo que las estrategias para mejorar la inocuidad de estos alimentos sigue siendo un desafío en la mayoría de los países en desarrollo¹⁶. Por lo tanto, se debería replantear las estrategias de gobernanza para que sean inclusivas con los vendedores ambulantes de alimentos, que permitan mejorar los servicios de alimentos y contribuir al bienestar de la población.

Este estudio se realizó con fines de monitoreo de la calidad microbiológica de los alimentos de venta ambulante, a los que generalmente no se les realiza ningún control. La limitación de este estudio fue la aplicación de pruebas diagnósticas iniciales basadas en las características fenotípicas de los microorganismos, y no de pruebas confirmatorias para aquellos agentes patógenos. Por lo tanto, se describe solamente la presencia presuntiva de éstos. Sin embargo, el uso de las pruebas diagnósticas iniciales permitió analizar un gran número de muestras considerando su asequibilidad.

CONCLUSIONES

En este estudio se evaluaron indicadores microbiológicos que denotan deficientes prácticas de higiene y manipulación de alimentos expendidos en espacios públicos en la ciudad de Cuenca, Ecuador, evidenciándose la presencia de microorganismos patógenos en ciertos alimentos principalmente asociados a la falta de tratamiento térmico y a la adición de ingredientes o salsas crudas antes del consumo.

Los alimentos expendidos en la vía pública podrían constituir vehículos potenciales de enfermedades, ya que están constantemente expuestos a la contaminación potencial del entorno abierto, sumado a la falta de instalaciones e infraestructura, y a la falta de control sanitario. La evaluación realizada destaca la imperiosa necesidad de programas de capacitación socialmente amigables para los vendedores ambulantes de alimentos, incluyendo un monitoreo de la calidad para garantizar la salud y bienestar de los consumidores.

Financiamiento. Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de agencias de financiamiento de los sectores públicos, privados o sin fines de lucro.

Agradecimientos. Los autores agradecen al apoyo de los estudiantes tesis de pregrado de la Carrera de Bioquímica y Farmacia, Universidad de Cuenca, que colaboraron en el muestreo y análisis de los alimentos. Los autores también agradecen el apoyo logístico del Departamento de Control Urbano del GAD Municipal de la ciudad de Cuenca.

REFERENCIAS

1. Alerte V, Cortés S, Díaz J, Vollaire J, Espinoza M, Solari V. et al. Outbreaks of diseases transmitted by food and water in the Metropolitan Region, Chile (2005-2010). *Rev Chil Infectol.* 2012; 29: 26-31.
2. Codex, Proposal for the establishment of world food safety day. *Codex Alimentarius Commission: Ginebra (Suiza),* 2017, p. 7.
3. Arias-Echandi M, Antillón F. Microbiological contamination of food in Costa Rica. A 10 year review. *Biomédica.* 2000; 11: 113-122.
4. OMS. Food safety. 2020. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
5. Aluko O, Ojeremi T, Olaleke D, Ajidagba E. Evaluation of food safety and sanitary practices among food vendors at car parks in Ile Ife, southwestern Nigeria. *Food Control.* 2014; 40: 165-171.
6. León-Cruz M, Cruz R, Jiménez J, Rayas A, Díaz M, Ramírez C. et al. Risks of contamination in food consumed on the street. *Agroproductividad.* 2018; 11: 97-103.
7. Kothe C, Schild C, Tondo E, Da Silva Malheiros P. Microbiological contamination and evaluation of sanitary conditions of hot dog street vendors in Southern Brazil. *Food Control.* 2016; 62: 346-350.
8. Manguiat L, Fang T. Microbiological quality of chicken-and pork-based street-vended foods from Taichung, Taiwan, and Laguna, Philippines. *Food Microbiology.* 2013; 36: 57-62.
9. Valadez F, Hernández M, García E, Ramírez L, Flores J, Rodríguez G. et al. Microbiological quality of ready-to-eat street-vended flavored waters and fruits salads in Reynosa, Tamaulipas, Mexico. *Acta Universitaria.* 2017; 27: 3-9.
10. Campuzano S, Mejía D, Madero C, Pabón P. Determination of the microbiological and sanitary quality of prepared foods sold on public roads in the city of Bogotá DC. *Nova.* 2015; 13: 81-92.
11. MSP, Surveillance Subsystem SIVE-Alert. Toxic effects year 2021. 2021. <https://www.salud.gob.ec/gaceta-epidemiologica-ecuador-sive-alerta/>
12. INEN, NTE INEN 1529-2:2013. Microbiological control of food. Collection, shipment and preparation of samples for microbiological analysis. 2013.
13. Carrillo M, Reyes A. Food shelf life. *CIBA,* 2013; 2: 3-4.
14. Hernández M. Food microbiology: Fundamentals and applications in health sciences. *Med Panamericana.* México. 2016.
15. Adams J, Bartram J, Chartier Y. Basic norms of environmental hygiene in health care. *World Health Organization,* 2008.
16. Soon J. Rapid Food Hygiene Inspection Tool (RFHiT) to assess hygiene conformance index (CI) of street food vendors. *LWT.* 2019; 113: 1-7.
17. Zurita J, Yáñez F, Sevillano G, Ortega D, Paz y Miño A. Ready-to-eat street food: a potential source for dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* epidemic clones in Quito, Ecuador. *Lett Appl Microbiol.* 2020; 70: 203-209.

18. Hanashiro A, Morita M, R. Matté C, Matté M, Torres E. Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of Sao Paulo city, Brazil. *Food control*. 2005; 16: 439-444.
19. Krishnasree V, Nethra P, Dheeksha J, Madumitha M, Vidyaeswari R, Lakshya P. A pilot study on assessing the sustainability of food safety and hygienic practices in street food handling system. *Asian J Dairy Food Res*, 2018; 37: 321-325.
20. Rojas-Silva M. UVC irradiation and storage time in physicochemical characteristics, mold and yeast count in *Ananas comosus* var. Smooth cayenne, minimally processed. *Cientifi-k*. 2015; 2: 47-61.
21. Hiamey SE, Hiamey GA. Street food consumption in a Ghanaian Metropolis: The concerns determining consumption and non-consumption. *Food Control*. 2018; 92: 121-127.
22. Méndez I, Badillo C, Ortiz G, Faccini A. Microbiological characterization of *Salmonella* in street foods in a university sector of Bogotá, Colombia. July to October 2010. *Médicas UIS*. 2011; 24: 1-7.
23. Fica A, Acosta G, Dabanch J, Perret C, Torres M, López J. et al. Salmonellosis outbreaks and the size and role of the State in Chile. *Rev Chil Infectol*. 2012; 29: 207-214.
24. Loukieh M, Mouannes E, Abou C, Hanna L, Fancello F, Bou Zeidan M. Street foods in Beirut city: An assessment of the food safety practices and of the microbiological quality. *J Food Saf*. 2018; 38: 1-3.
25. Zendejas G, Avalos H, Soto M. General microbiology of *Staphylococcus aureus*: Generalities, pathogenicity and identification methods. *Biomédica*. 2014; 25: 129-143.
26. Jordá G, Marucci R, Guida A, Pires P, Manfredi E. Carriage and characterization of *Staphylococcus aureus* in food handlers. *Rev Argent Microbiol*. 2012; 44: 101-104.
27. Rane S. Street vended food in developing world: hazard analyses. *Indian J Microbiol*. 2011; 51: 100-106.
28. Shiningeni D, Chimwamurombe P, Shilangale R, Misihairabgwi J. Prevalence of pathogenic bacteria in street vended ready-to-eat meats in Windhoek, Namibia. *Meat Sci*. 2019; 148: 223-228.
29. Simforian E, Nonga H, Ndabikunze B. Assessment of microbiological quality of raw fruit juice vended in Dar es Salaam City, Tanzania. *Food control*. 2015; 57: 302-307.
30. López K, Pardió V, Williams J. Evaluation of the microbiological risk to *Vibrio* spp. in foods of marine origin in Mexico. *Salud Pública México*. 2014; 56: 295-301.
31. Smigic N, Djekic I, Martins M, Rocha A, Sidiropoulou N, Kalogianni E. The level of food safety knowledge in food establishments in three European countries. *Food Control*. 2016; 63: 187-194.
32. Grace D, Makita K, Kang'ethe E, Bonfoh B. Safe food, fair food: Participatory risk analysis for improving the safety of informally produced and marketed food in Sub-saharan Africa. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*. 2010; 8: 2-7.
33. Akabanda F, Hlortsi E, Owusu J. Food safety knowledge, attitudes and practices of institutional food-handlers in Ghana. *BMC Public Health*. 2017; 17: 40.
34. Aziz S, Dahan H. Food handlers' attitude towards safe food handling in school canteens. *Procedia Soc Behav Sci*. 2013; 105: 220-228.
35. Zanin L, Da Cunha D, Rosso V, Capriles V, Stedefeldt E. Knowledge, attitudes and practices of food handlers in food safety: An integrative review. *Food Research International*. 2017; 100: 53-62.
36. MINSA, Sanitary Standard that establishes the Microbiological criteria of sanitary quality and safety for food and beverages for human consumption. Perú. 2008.
37. INEN, NTE INEN 1338:2012. Meat and meat products. Raw meat products, cured meat products - matured and precooked meat products - cooked. Requirements. 2012.
38. INEN, NTE INEN 1973:2013. Commercial eggs and egg products. Requirements. 2013.
39. INEN, NTE INEN 706:2013. Ice creams. Requirements. 2013.
40. MinSalud, Resolución 3929: 2013. Technical regulation on the sanitary requirements that must be met by fruits and beverages with the addition of juice (juice) or fruit pulp or fruit concentrates, clarified or not, or the mixture of these that are processed, packaged, transported, imported and marketed in the national territory. Colombia. 2013.