

ANALISIS BACTERIOLOGICO DE ALIMENTOS DE VENTA AMBULANTE

María Laura Arias E*, Alvaro Montoya Ch.*

RESUMEN

Se estudió la presencia de bacterias tipo coliformes totales, coliformes fecales, Escherichia coli, Salmonella, Shigella y Staphylococcus aureus coagulasa positiva en 150 muestras de alimentos de venta callejera: 50 bolis, 50 granizados y 50 refrescos naturales adquiridos en diferentes sitios y fechas en San José. Se utilizó la técnica del Número Más Probable recomendada por Speck, y los métodos de análisis cualitativos recomendados en el "Bacteriological Analytical Manual". Los resultados obtenidos demuestran que estos productos presentan valores que varían entre el 50 y 90 por ciento de positividad para los coliformes totales, coliformes fecales y E. coli. No se logró aislar grandes poblaciones de S. aureus coagulasa positiva ni se logró aislar Salmonella ni Shigella posiblemente debido a las características intrínsecas de cada producto. La contaminación fecal evidente en este estudio hace que sea necesario una campaña educativa entre los vendedores ambulantes y los consumidores. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1989; 10 (2):51 -56].

INTRODUCCION

Las infecciones entéricas son un problema de salud pública, tanto en los países en vías de desarrollo como en

los desarrollados. La seriedad del problema se pone en evidencia al considerar que los agentes patógenos potenciales se encuentran en diversos ambientes, como el agua, suelo, alimentos, etcétera; pudiendo sobrevivir e incluso proliferar bajo condiciones de refrigeración y atmósfera reducida. Además, en muchos casos su dosis infectante es baja (6, 13, 18).

Se han dado algunos brotes de infecciones entéricas relacionados con alimentos procesados; pero la mayoría de los problemas se atribuyen al mal manejo y las deficiencias en el almacenaje. De allí se deriva la necesidad de educar a los consumidores y a los vendedores sobre los riesgos asociados con la ingesta de alimentos contaminados y sobre su correcto manejo. Ello ha conducido a que se propongan medidas profilácticas y de control microbiano de los alimentos (5, 15).

En Costa Rica las ventas ambulantes son muy populares, los alimentos que ellas ofrecen se han relacionado con infecciones entéricas. Sin embargo, no se ha hecho un estudio sistemático del grado de contaminación de esos alimentos, por lo que se considera de mucho interés conocer su carga microbiana real.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia microbiana en granizados, bolis (refrescos embolsados) y frescos naturales.

* Cátedra de Microbiología de Alimentos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 50 granizados (hielo raspado más sirope), 50 bolis (refrescos embolsados) y 50 frescos naturales. Cada grupo de estos alimentos se compró a diez vendedores distintos (cinco a cada uno). Todas las muestras se adquirieron en el área metropolitana de San José, entre los meses de enero y agosto de 1989, eligiendo a los vendedores por muestreo al azar y en fechas diferentes y utilizando la tabla de números aleatorios (9).

Todas las muestras fueron recogidas en bolsas plástica estériles y transportadas en hielo; y al llegar al laboratorio se procesaron de inmediato. Se prepararon diluciones de cada producto usando agua peptonada 0.1 por ciento estéril. Posteriormente, se empleó la técnica del Número Más Probable (NMP) (9), utilizando caldo lauril doble y caldo lauril simple para la prueba presuntiva, y caldo bilis verde brillante para la prueba confirmatoria, incubado a 37 grados centígrados. Además, para confirmar la presencia de coliformes fecales, se utilizó la prueba de NMP con el caldo *Escherichia coli* (E.C.), incubado a 44.5 grados centígrados.

Se hizo un subcultivo a caldo triptona a partir de los tubos de caldo E.C. positivos, o sea aquellos que presentaban producción de gas, y se incubó a 35 grados centígrados durante 24 +/-2 horas. A los cultivos obtenidos se les hizo la prueba de indol y una identificación morfológica mediante la tinción de Gram.

A partir de las diluciones preparadas, se procedió a utilizar la técnica del NMP de *Staphylococcus aureus* (17), confirmando luego cada aislamiento con la prueba de la coagulasa.

Para el aislamiento de *Salmonella* sp, se siguió el método recomendado por el "Bacteriological Analytical Manual", sexta edición (20). Para aislar *Shigella* sp. se siguió el método de Speck (16).

RESULTADOS

El análisis bacteriológico de los granizados revela que un 54 por ciento de las muestras presentaron menos de 1 coliforme total por 100 ml. pero el 16 por ciento presentó entre 1 y 99 coliformes totales por 100 ml, 16 por ciento presentó entre 100 y 999 coliformes totales y 8 por ciento entre 1000 y 2399. Ninguna muestra presentó más de 2400 coliformes totales en 100 ml. Con respecto a los coliformes fecales y *E. coli*, el 90 por ciento de las muestras presentó más de uno, evidenciando la contaminación fecal.

Los bolis presentaron altos recuentos de coliformes totales: 20 por ciento presentó entre 1 y 99, 4 por ciento entre 100 y 999, 4 por ciento entre 1000 y 2399, y 42 por ciento presentó más de 2400 coliformes totales por 100 ml. También, se reveló un alto índice de contaminación fecal, ya que el 50 por ciento de las muestras presentó más de un coliforme fecal por 100 ml.; y el 40 por ciento fue positivo por *E. coli*. Los refrescos naturales presentaron altos recuentos de coliformes totales: el 20 por ciento contenía entre 1 y 99 coliformes/100 ml., 6 por ciento entre 100 y 999, 2 por ciento entre 1000 y 2399, y un 52 por ciento presentó más de 2400 coliformes totales por 100 ml. Los coliformes fecales siguieron un patrón semejante: el 12 por ciento presentó entre 1 y 99 coliformes fecales, 20 por ciento entre 100 y 999, 10 por ciento entre 1000 y 2399, y 28 por ciento con más de 2400 coliformes fe-

cales por 100 ml. La presencia de *E. coli* fue positiva en el 70 por ciento de las muestras.

En ninguna muestra se logró aislar *Salmonella* ni *Shigella*.

Con respecto al *S. aureus*, aún cuando se aisló en la mayoría de las muestras, (67%), nunca se encontró en cantidades significativas necesarias para la producción de la enterotoxina.

El cuadro número 1 muestra un resumen del porcentaje de positividad para cada producto.

DISCUSION

La transmisión de enfermedades entéricas puede realizarse de varias formas: alimentos contaminados, transmisión de persona a persona, contaminación hídrica, entre otras (3).

En el análisis microbiológico de alimentos, el tratar de aislar un enteropatógeno es poco práctico, debido a que estos se encuentran en bajas concentraciones, son muy lábiles, o bien su aislamiento consume mucho tiempo. Es por esto que se trata de aislar algunos microorganismos que se consideran indicadores de contaminación fecal, como los coliformes fecales o más específicamente la *E. coli* (10), aunque esta práctica ha sido cuestionada por algunos autores (7, 14). No obstante, es el parámetro más empleado y es el que utilizamos en este trabajo.

Se utilizó la técnica del Número Más Probable para la enumeración de microorganismos. Esta técnica es ampliamente aceptada, aún cuando se reconoce que tiene problemas técnicos, de interpretación y microbiológicos asociados a su aplicación (4). También, se ha citado que su sensibilidad es baja al haber en la muestra coliformes dañados o atípicos (12).

El análisis de los resultados obtenidos

en el experimento revela que los granizados, bolis y refrescos naturales presentaron parámetros que varían entre el 40 y 90 por ciento de positividad para los coliformes totales, y entre 50 y 90 por ciento para los coliformes fecales. Esto podría sugerir que el agua es la fuente de contaminación. Sin embargo, según un informe nacional de Acueductos y Alcantarillados, el agua distribuida a San José durante los meses en que se realizó estudio estuvo dentro de la norma mundial para agua potable, que establece que ésta no debe de tener más de tres coliformes totales y ningún coliforme fecal en 100 ml. (1). Otra posibilidad de contaminación de estos productos sería que la carga microbiológica fue adquirida a partir de una fuente diferente al agua, o que no se utilizó agua tratada en su fabricación. El hecho que el 90 por ciento de los granizados, 40 por ciento de los bolis y 70 por ciento de los refrescos naturales presentaran *Escherichia coli*, confirma la presencia de materia fecal.

No se logró aislar *Salmonella* spp. o *Shigella* spp. Sin embargo, en otros estudios similares, tampoco se han logrado aislar estas bacterias por raras razones, entre las que se incluye el hecho de que el producto tenga un pH ácido, como el que presentan los alimentos estudiados (pH 3-5.5), una alta concentración de azúcar, la presencia de ácidos volátiles, una disminución en el potencial de óxido-reducción, y muy importante, la presencia de otros microorganismos competidores (2, 8, 10, 11, 15, 17, 19).

El aislamiento de *E. coli* de las muestras es un factor de importancia, ya que, basados en datos de estudios epidemiológicos realizados en todo el mundo, se ha visto que esta bacteria es un patógeno muy importante en los

CUADRO 1

**ANALISIS BACTERIOLOGICO EN GRANIZADOS, BOLIS Y REFRESCOS
NATURALES EN VENTAS CALLEJERAS EN SAN JOSE, COSTA RICA**

	(%) Porcentaje de positividad		
	granizados*	bolis* naturales	refrescos*
Coliformes totales/100 ml.	94	80	80
Coliformes fecales/100 ml.	90	50	70
<i>Escherichia coli</i> /100 ml.	90	40	70
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0
<i>Shigella</i> spp.	0	0	0

* 50 muestras por producto.

casos de "diarrea del viajero" y en enfermedades gastrointestinales en los países en desarrollo (9).

S. aureus coagulasa positiva se aisló en muy bajas concentraciones, por lo que se concluye que su presencia no es de importancia epidemiológica, ya que se necesitan altas concentraciones para que se dé la producción de la toxina.

Concluyendo, se hace necesaria la educación tanto del consumidor, como del vendedor ambulante, así como mayores regulaciones en este tipo de ventas, para tener éxito en el control de las enfermedades de origen alimentario.

ABSTRACT

The presence of total coliforms, fecal coliforms, Escherichia coli, Salmonella, Shigella and Staphylococcus aureus was studied in 150 samples of food sold on the street: 50 snowcops, 50 popsicles and 50 natural drinks, bought at different sites and dates in San José, Costa Rica. The Most Probable Number technique was used, and also the qualitative methods of isolation recommended by the "Bacteriological Analytical Manual". The results show that these products have values that vary between 50 and 90 percent of positivity for total and fecal coliforms, and also for E. coli. We did not isolate large populations of S. aureus, nor did we isolate Salmonella and Shigella, because of the characteristics of each product.

AGRADECIMIENTO

Deseamos agradecer al señor Oscar Solano S. su valiosa cooperación, así como al personal del Departamento de

Servicios de Laboratorio de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica. Proyecto de Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica N° 430-89-018.

BIBLIOGRAFIA

1. American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 16 ed., New York; 1985; 829-831.
2. Andrews W H, C D Diggs, J J Miesner, et al. Validity of Members of the total Coliform and fecal Coliform groups for indicating the presence of *Salmonella* in Quahaug, *Mercenaria mercenaria*. *J. Milk Food Technol*, 1976; 39 (5):322-324.
3. Archer D, F E Young. Contemporary Issues: Diseases with a food vector. *Clin Microbiol Rev*, 1988; 1 (4):377-398.
4. Bissonette G K, J J Jesek, G A McFeters, o G Stuart. Influence of environmental stress on enumeration of indicator bacteria from natural water. *Appl Microbiol*, 1975; 29:186-194.
5. Blasser M J, Newman L. A review of Human Salmonellosis: I. Infective Dose. *Rev Infect Dis*, 1982; 4 (6):1096-1106.
6. Borneff J, R Hassinger, J Witter, R Ederharder. Distribution of microorganisms in household kitchens II. Communication: Critical evaluation of the results and conclusions. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol Hey Abt B*. 1988; 186 (1):30-44.
7. Chambers, C.W. Relationship of coliform bacteria to gas production in media containing lactose. *Public Health Rep*. 1950; 65:619-627.
8. Hentger, David J. Inhibition of *Shigella flexneri* by the normal intestinal flora. *J. Bacteriology*. 1969; 97 (2):513-517.
9. ICMSF. *Microorganisms in foods 2*. Toronto Press, Canada, 1978; 180-198.

10. Mehlman, Ira J. A Romero. Enteropathogenic *Escherichia coli*: methods for recovery foods. *Food Technol*, 1982; 36 (3):73-79.
11. Mismikin, D.K. Relationships between Indicator Organisms and Specific Pathogens in Potentially Hazardous Foods. *J. Foods Sci.* 1976; 41:1001-1006.
12. Morris, G.K. *Shigella*. Progress in Food Safety. *Food Res. Instr.*, Univ. of Wisconsin, 1986; 33:40-57.
13. Oslon, B.H. Enhanced accuracy of coliform testing in seawater by a modification of the most probable number method. *Appl. Environ. Microbiol*, 1978; 36:428-444.
14. Quevedo, F. Publicación Científica. *Rev. de la Oficina Sanitaria Panamericana*, Washington D.C., 1971; 218:11-124.
15. Reitter, R.; J.R. Seligmann. *Pseudomonas aeruginosa* in drinking water. *J. Appl Bacteriol.* 1957; 20:145-150.
16. Russel, S. Salmonella. *Food Technology*. 1988; 42 (4):2-12.
17. Speck, Marvin. *Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, 2a. ed. New York, 1984; 125-190.
18. Swittle, R.B. Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a review. *J. Food Protect*, 1977; 40:415.
19. Tulchinsky, T.H, I Levine, R Abbrokm, R Halpern, Water borne enteric disease outbreaks in Israel. *Isr J Med Sci.* 1988; 24 (11):644-651.
20. U S Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. Association of official Analytical Chemists, Arlington, 6a. ed., 1984; 702-718.