



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

“DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES,
ESCHERICHIA COLI EN MUESTRAS DE LECHUGAS
EXPENDIDAS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA”

*Tesis previa a la obtención
del título de Licenciada en
Laboratorio Clínico*

AUTORA:

Erika Johanna Mejía Rogel

DIRECTORA:

Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

LOJA- ECUADOR

2018



CERTIFICACIÓN

Lic. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín, Mg, Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA

Que la presente tesis titulada “**DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES, *ESCHERICHIA COLI* EN MUESTRAS DE LECHUGAS EXPENDIDAS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA**” elaborada por la señorita Erika Johanna Mejía Rogel, ha sido desarrollada, corregida y orientada bajo mi dirección, cumpliendo con los requerimientos para su aprobación por lo tanto facultó al autor su presentación, disertación y descenso.

Loja 20 de Julio del 2018

Atentamente



Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín, Mg,Sc.

AUTORÍA

Yo, Erika Johanna Mejía Rogel, con cédula de identidad N° 1105128704, declaro ser la autora del presente trabajo de investigación, y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación del presente trabajo en el Repositorio Institucional Biblioteca Virtual.

Autora: Erika Johanna Mejía Rogel

Firma: 

Cédula: 1105128704

Fecha: 20 de julio del 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Erika Johanna Mejía Rogel declaro ser autor de la tesis titulada “DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES, *ESCHERICHIA COLI* EN MUESTRAS DE LECHUGAS EXPENDIDAS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA” como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico: autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre a los estudiantes, docentes y demás la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el repositorio digital institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDL, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización en la ciudad de Loja a los 20 días del mes de Julio del 2018. Firma la autora.

Firma:.....

Autora: Erika Johanna Mejía Rogel

Cédula: 1105128704

Dirección: Clodoveo Jaramillo

E-mail: erikachuronita@gmail.com

Celular: 0959211901

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de Tesis: Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín, Mg. Sc.

Tribunal de Grado: Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg. Sc.

Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg, Sc.

Lic. Gladys Margoth Jumbo Chuquimarca, Mg. Sc.

DEDICATORIA

Esta Tesis de Grado se la dedico con inmenso amor y cariño a mis padres Fausto Mejía y María Rogel, quienes me han brindado su amor incondicional, apoyo y confianza en todo momento para mi preparación en la vida como profesional.

A mis hermanos y hermanas, que con su grata compañía no han permitido verme caída ante la adversidad y han sido un pilar fundamental en mi vida, gracias por su comprensión y apoyo moral.

A mi esposo Anthony Rodríguez, que todos los días ha sabido brindarme su amor incondicional dándome fuerzas para seguir adelante y ayudándome a cumplir mi sueño; y por ultimo dedico todo el esfuerzo dado hasta el día de hoy a mi pequeña hija Antonella, quien es fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor.

AGRADECIMIENTO

Cerca de cristalizarse uno de mis sueños más anhelados, y tras varios años de esfuerzo y dedicación compartidos en familia; siento la necesidad de agradecer infinitamente a Dios Padre Todopoderoso, por darme la hermosa e inigualable vocación de ser Laboratorista Clínica, por ayudarme en mis dificultades, iluminarme en mis desaciertos, y brindarme fortaleza para superar innumerables retos.

Expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, a la dirección del Área de la salud humana, la Coordinación de la carrera de Laboratorio Clínico y el centro de investigación de nuestra Universidad por haber hecho posible la realización del presente trabajo.

Así mismo expreso mi más sincero agradecimiento a todos los profesionales amigos que de alguna u otra manera me han colaborado, en especial a mi directora de tesis Dra. Elsa Ramírez, y a los distintos docentes de la carrera de Laboratorio Clínico por brindarme sus sabios conocimientos.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
ÍNDICE.....	vii
1. TÍTULO	1
2. RESUMEN.....	2
SUMMARY	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
4.1. Hortalizas.....	6
4.2. Generalidades de la lechuga	6
4.2.1 Taxonomía.....	6
4.2.2. Descripción.....	6
4.2.3. Composición nutricional de la Lechuga Iceberg	7
4.2.4. Fuentes de contaminación	9
4.2.4.1. En la cosecha.....	9
4.2.5. Preparación para el mercado.....	10
4.2.6. Almacenamiento.....	10
4.2.7. Venta.....	11
4.3. Aspectos relacionados con el cultivo de las lechugas.	11
4.3.1. Abonos.....	11
4.3.2. Siembra.....	12
4.3.3. Riego.....	12
4.3.4. Cosecha.....	12
4.4. Microorganismos indicadores de contaminación fecal	13
4.4.1. Coliformes Totales	13
4.4.2. Coliformes Fecales	16
4.4.3. <i>Escherichia coli</i>	17
4.5. Placas Bacteriológicas Petrifilm.....	17

5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1. Tipo de estudio.	18
5.2. Área de Estudio.	18
5.2.1. Lugar:	18
5.2.2. Ubicación:.....	18
5.2.3. Tamaño:	19
5.3. Población o Universo	19
5.4. Normativa para la contaminación de lechugas	19
5.5. Toma de muestras	20
5.6. Método de análisis microbiológico.....	20
5.6.1. Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>Escherichia Coli</i> /Coliformes	20
5.7. Instrumentos.	21
5.8. Procedimientos.	21
5.9. Equipos y materiales.....	22
5.10. Plan de tabulación y análisis.....	23
6. RESULTADOS	24
7. DISCUSIÓN.....	31
8. CONCLUSIONES	33
9. RECOMENDACIONES.....	34
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	35
11. ANEXOS.....	38

1. TÍTULO

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES, *ESCHERICHIA COLI* EN MUESTRAS DE LECHUGAS EXPENDIDAS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA.

2. RESUMEN

El acceso a alimentos inocuos y nutritivos en cantidad suficiente es fundamental para mantener la vida y fomentar la buena salud. Los alimentos insalubres que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades. Alrededor de 600 millones de personas enferman en el mundo; casi 1 de cada 10 habitantes, por el consumo de alimentos contaminados y al menos 420 000 mueren (OMS, 2017). El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de coliformes totales y *Escherichia coli* en lechugas expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Loja, el método utilizado fue placas Petrifilm™ las cuales son útiles para reducir el tiempo de cultivo, cuentan con sistema de doble película, con medio deshidratado y un film superior, además con indicadores impregnados en ambos lados, haciéndolas un medio listo para usar. El método de investigación fue de tipo descriptivo y de corte transversal, obteniendo un universo de 600 muestras y utilizando una muestra de 80 lechugas para el estudio. El grado de contaminación de las lechugas fue aceptable ya que solo el 5,0% de las muestras estuvieron contaminadas con valores más altos que $10^2 - 10^3$ UFC/g en el caso de coliformes totales y el 2,5% en el caso de *Escherichia coli*, estos valores de referencia fueron tomados de la Norma Sanitaria de Perú, no se encontró ninguna relación significativa entre el mercado y el lugar de producción con el grado de contaminación. A pesar de la baja contaminación, la presencia de indicadores de contaminación fecal sugiere que las muestras podrían tener una inadecuada calidad microbiológica, representando una fuente de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), si la contaminación no es controlada.

Palabras Clave: Contaminación fecal, Coliformes Totales, *Escherichia coli*, Mercados, Lechugas.

SUMMARY

The access to safe and nutritious food in sufficient quantity is essential to sustain the life and promote good health. Unhealthy food that contain bacteria, viruses, parasites or harmful chemicals cause more than 200 diseases. Around 600 million people get sick in the world; almost 1 out of 10 inhabitants, due to the consumption of contaminated food and at least 420,000 die (OMS, 2017). The objective of this work was to determine the presence of total coliforms and *Escherichia coli* in lettuce sold in four markets of the city of Loja, the method used was Petrifilm™ plates which are useful to reduce the time of cultivation, they have double film system, with dehydrated medium and a top film, also with indicators impregnated on both sides, making them a ready to use medium. The research method was descriptive and cross-sectional, obtaining a universe of 600 samples and using a sample of 80 lettuces for the study. The degree of contamination of the lettuce was acceptable since only 5.0% of the samples were contaminated with values higher than $10^2 - 10^3$ CFU / g in the case of total coliforms and 2.5% in the case of *Escherichia coli*, these reference values were taken from the Sanitary Standard of Peru, no significant relationship was found between the market and the place of production with the degree of contamination. Despite the low contamination, the presence of fecal contamination indicators suggests that the samples could have an inadequate microbiological quality, representing a source of foodborne diseases (ETAs), if the contamination is not controlled.

Key word: Fecal contamination, Total coliforms, *Escherichia coli*, Markets, Lettuce.

3. INTRODUCCIÓN

La contaminación de lechugas se produce por la influencia de factores sobre la microbiota dominante determinando deterioros, como: la contaminación inicial, las propiedades del sustrato, las condiciones ambientales y las características de los microbios. En el campo los puntos de contaminación son diversos: la microbiota saprobia epífita y del suelo, los frutos, ramas u hojas enfermos, los envases cosecheros, las plantas de empaque, el agua de reciclado, las cámaras de almacenamiento, desverdización o frío, el transporte y la venta (Carrillo, 2012).

En nuestro país según el anuario de vigilancia epidemiológica los casos producidos por enfermedades transmitidas por agua y alimentos son muy alto en el año 2012 se registran 717 125 casos, en el año 2013 un numero de 622 403 casos, en 2014 hubo 542 569 casos, en el año 2015 se registran 572 517 y por último en el año 2016 hubo un número de 622 004 casos. Según el año 2016 la región que más casos registró convirtiéndose en la más afectada fue la Amazonia con 58 763, 04 casos siguiendo la región Sierra con un número de 42 229, 18 casos; luego la región Costa con un número de casos de 31 663, 74 casos y por último la región que menos casos registro fue la Insular con un número de casos de 4182,69 casos. (MSP, 2016).

Ante lo enunciado se ha propuesto este proyecto investigativo con la finalidad de conocer cuáles son los niveles de contaminación de tipo fecal mediante la determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en hortalizas en este caso en lechugas criollas, aportando a la ciudadanía datos actuales y reales sobre la contaminación de hortalizas, que servirán para tomar precauciones cuando se realice el consumo de estas, evitando así enfermedades de transmisión alimentaria.

Los objetivos planteados para la presente investigación fueron: determinar la presencia de coliformes totales, *Escherichia coli* en lechugas expandidas en mercados de la ciudad de Loja, establecer la frecuencia de coliformes totales y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en la lechuga y por ultimo determinar la relación entre el punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia de las hortalizas por la contaminación de coliformes totales y *Escherichia coli*. La investigación tuvo un periodo de 3 meses para el muestreo siendo noviembre, diciembre del 2017 y enero del 2018.

Luego de realizarse los análisis de resultados se concluyó que existe contaminación en todas las muestras de lechugas que fueron recolectadas, aunque esta contaminación se encuentre dentro de los valores $10^2 - 10^3$ UFC/g, que son los rangos permitidos por la Norma Sanitaria del Perú considerando 10^2 UFC/g como límite mínimo y 10^3 UFC/g como límite máximo, en el caso de los Coliformes Totales un 5% sobrepasan dichos valores considerados como aceptables para el consumo humano.

En la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* el 2,5 % sobrepasa los valores $10^2 - 10^3$ UFC/g y en este caso solo el 33,7% de las muestras presentaron algún grado de contaminación, mientras que el 63,8% restante no presentó crecimiento.

4. REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1. Hortalizas

Las hortalizas son plantas cultivadas en huertas o regadíos, que se consumen como alimento, ya sea de forma cruda o preparada culinariamente, incluyen las verduras y las legumbres verdes. En nuestra dieta diaria son importantes pues son un grupo de alimentos con un sinnúmero de propiedades beneficiosas teniendo gran cantidad de agua que son elementos útiles para nuestra salud. Esta gran cantidad de líquido hará que podamos eliminar de forma mucho más rápida y efectiva las toxinas de nuestro organismo, además de estar hidratados (Castillo, 2014).

4.2. Generalidades de la lechuga

- **Lechuga Criolla**

4.2.1 Taxonomía

Nombre Común: Lechuga Criolla

Nombre científico: *Lactuca sativa* var. Iceberg

Familia: Compositae

Género: *Lactuca*

Especie: *Sativa*

Origen: Regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte.

4.2.2. Descripción

La lechuga es la más importante del grupo de las hortalizas que se comen en ensaladas. Es ampliamente conocida y se cultiva en casi todos los países, su producción es fácil y su calidad se puede mejorar al seleccionar cultivares apropiados, puede tolerar heladas ligeras, pero no resiste bien temperaturas superiores a los 30 °C (Baudoin, 2012).

La lechuga es una planta comestible propia de las regiones semi templadas, actualmente se puede consumir todo el año, gracias a los invernaderos. Es un alimento bajo en calorías y alto contenido en agua (95%), rico en antioxidantes, fibra, sales minerales y vitaminas del grupo B1, B2, B6, provitamina A y vitaminas C y E, ácido fólico, hierro y potasio. Favorece la absorción de hierro de los alimentos y previene las infecciones, es depurativa y diurética ayudando en las funciones intestinales y ayuda a conciliar el sueño, ya que se le considera un relajante natural.

Las lechugas Iceberg o criollas se caracterizan por formar un cogollo o cabeza apretada, compacta. Su peso promedio oscila entre 500 g y puede superar 1 kg. El grosor de sus hojas es mayor en relación a otros tipos y por ello son resistentes al daño mecánico permitiendo su transporte a distancias largas (Carrasco, 2016).

4.2.3. Composición nutricional de la Lechuga Iceberg

Nutrientes	
Nutriente	Por cada 100 g
Agua	95.64 g
Proteínas	0.9 g
Lípidos	0.14 g
Ceniza	0.36 g
Hidratos de Carbono	
Fibras	1.2 g
Azúcares	1.97 g
Minerales	
Calcio	18 mg
Hierro	0.41 mg
Magnesio	7 mg
Fosforo	20 mg

A continuación:

Potasio	141 mg
Sodio	10 mg
Zinc	0.15 mg
Cobre	0.025 mg
Manganeso	0.015 mg
Selenio	0.0001 mg
Vitaminas	
Vitamina C	2.8 mg
Vitamina B1	0.041 mg
Vitamina B2	0.025 mg
Vitamina B3	0.123 mg
Vitamina B5	0.091 mg
Vitamina B6	0.042 mg
Vitamina B12	0 mg
Vitamina B9	0.029 mg
Vitamina B7	6.7 mg
Vitamina E	0.18 mg
Vitamina D	0 mg
Vitamina K	0.0241 mg
Ácidos Grasos	
Ácidos grasos saturados	0.018 g
Ácidos grasos monoinsaturados	0.006 g
Ácidos grasos poliinsaturados	0.074 g

(Gonzalez & Lopes, 2013).

4.2.4. Fuentes de contaminación

4.2.4.1. *En la cosecha*

La vía fecal o urinaria por desechos de humanos, animales domésticos o salvajes son la principal fuente de contaminación y que llega a las frutas y hortalizas fundamentalmente a través del agua usada en riegos o lavados. La presencia de microorganismos en el agua de superficie (ríos, arroyos, lagos) puede provenir del derrame de aguas servidas por parte de las poblaciones ribereñas ubicadas aguas arriba. Si hay solamente aguas con algún grado de contaminación el riego por goteo enterrado (no en superficie) es el aconsejable evitando mojar el follaje o partes comestibles (Camelo, 2013).

El uso de estiércoles o residuos cloacales como fertilizantes orgánicos, así como la presencia de animales en el lote de producción es otra fuente de contaminación. Los estiércoles deben ser compostados aeróbicamente permitiendo que la temperatura se eleve a 60-80 °C por al menos 15 días. Las aguas servidas y residuos municipales deberían usarse si se dispone de un método efectivo de esterilización (Camelo, 2013).

La producción frutihortícola es altamente demandante de mano de obra, y las condiciones higiénicas a las que los operarios y trabajadores rurales están expuestos constituyen otra posible fuente de contaminación. Aparte de la instalación de baños portátiles, es necesario que toda persona que manipule alimentos comprenda la importancia de una estricta higiene personal.

El tipo de producto también tiene influencia, en las frutas por ser ácidas tienden a ser colonizadas por hongos, mientras que en las hortalizas predominan las bacterias. Las plantas bajas o rastreras como la frutilla y hortalizas de hoja en general, están más

expuestas a la contaminación por el suelo, agua de riego y animales que las de alto porte, por ejemplo árboles frutales (Camelo, 2013).

4.2.5. Preparación para el mercado

En el lugar de empaque o línea de procesamiento no se debe permitir trabajar a personas enfermas o con heridas abiertas. El personal en contacto con el producto debe usar redes protectoras de cabello, delantales y uniformes limpios. La ropa de calle y los accesorios personales deben permanecer fuera del ambiente en que se procesa el alimento. No se debe permitir comer o beber. Los operarios deben lavarse las manos al iniciar la labor diaria y cada vez que reingresen a la línea de trabajo, particularmente luego de ir al baño.

En la preparación para el mercado, la principal fuente de contaminación es el agua, la que es esencial tanto para la limpieza de las instalaciones y envases, la higiene del personal así como en las operaciones de vaciado, lavado, hidrogenfriado además de ser el soporte de los agroquímicos, ceras y otros compuestos (Camelo, 2013).

4.2.6. Almacenamiento

Los almacenes o áreas de almacenamiento deben ser de material resistentes que permita una fácil limpieza, deben mantenerse limpios, secos, ventilados, protegidos contra el ingreso de personas ajenas al establecimiento, así mismo se deben limpiar con frecuencia las bandejas o anaqueles

Los alimentos deben colocarse en anaqueles o tarimas de material fácil de limpiar y desinfectar, resistentes, los cuales deben mantenerse en buenas condiciones, ya que los alimentos no deben estar en contacto con el piso, sino a una distancia mínima de 20 cm.

Las distancias entre hileras deben ser de 50 cm, así como a la pared; los alimentos contenidos en sacos, bolsas o cajas pueden apilarse hasta una distancia de 60 cm del techo y tener una distancia entre sí de 15 cm para la debida circulación del aire. Con el fin de evitar contaminación cruzada, los alimentos de origen animal y vegetal deben almacenarse por separado, así como, aquellos que cuenten con envoltura o cáscara de los que están desprotegidos o fraccionados (INEN 3039, 2015).

4.2.7. Venta

La venta y la preparación hogareña de las verduras son las últimas etapas en donde un producto puede contaminarse. Con lo antes expuesto se incluye la necesidad de evitar la entrada de animales domésticos a los locales de venta. Se debe evitar la venta al menudeo que consiste en el porcionado de frutos grandes como zapallos, sandías, melones, etc. Los productos más perecederos deben mantenerse refrigerados (INEN 3039, 2015).

4.3. Aspectos relacionados con el cultivo de las lechugas.

4.3.1. Abonos.

El 60-65% de todos los nutrientes son absorbidos en el periodo de formación del cogollo y éstas se deben de suspender al menos una semana antes de la recolección. La lechuga es una planta exigente en abonado potásico, debiendo cuidar los aportes de este elemento, especialmente en épocas de bajas temperaturas; y al consumir más potasio va a absorber más magnesio, por lo que habrá que tenerlo en cuenta a la hora de equilibrar esta posible carencia (Quintero, 2013).

4.3.2. Siembra

En el cultivo extensivo de lechuga la siembra es una operación fundamental, ya que se requiere que las semillas caigan al suelo de una en una si son pildoradas, a distancias determinadas y profundidad constante o en líneas perfectas en caso de no ser pildoradas, para obtener tanto en un caso como en otro, un ahorro considerable de semilla, también se realiza el trasplante de lechuga de semilleros pequeños a lugares amplios (Quintero, 2013).

4.3.3. Riego

La lechuga es muy sensible a la sequía, por lo que es de gran importancia proporcionarle agua en cantidad suficiente. En cultivo extensivo se adapta perfectamente a la técnica del riego por aspersión, por lo que ésta es la que habitualmente se practica. El primer riego suele darse antes de la siembra directa para proporcionar suficiente tempero a la tierra; es conveniente mantener un buen estado de humedad durante los días de la germinación. Una vez implantado el cultivo se regará cada 6 días, según las condiciones climáticas, siempre con volúmenes cortos, evitando el encharcamiento. En el riego por aspersión es conveniente la salida del agua bien pulverizada, en gotas finas, para evitar daños en las hojas y manchas con salpicaduras de barro. En cultivo tradicional la técnica usada es la manual realizando un riego con cubetas o mangueras, útil para extensiones pequeñas (Carrasco, 2016).

4.3.4. Cosecha

El estado para la cosecha es aquel cuando la cabeza de la lechuga ya es compacta. La lechuga se cosecha cortando toda la planta a ras del suelo quitando las hojas bajas en mal estado y dejando algunas en buen estado que van a proteger la parte comestible. La

operación se hace a mano, planta por planta, haciendo un recorte limpio y final en el mismo campo, para no llevar hojarasca innecesaria (Carrasco, 2016).

4.4. Microorganismos indicadores de contaminación fecal

Los indicadores de contaminación fecal se usaron primeramente para el análisis bacteriológico del agua, los cuales se siguen aplicando para el control del agua y actualmente para el control de alimentos como posibles vehículos de transmisión de infecciones o intoxicaciones

Los microorganismos presentes en un alimento ponen de manifiesto que existe algún defecto en su calidad higiénica. Por ejemplo, presencia de bacterias del grupo coliformes en hortalizas, si el número excede el valor de $10^2 - 10^3$ UFC/g, puede advertir diversas deficiencias de este producto. Entre los indicadores más frecuentes de contaminación fecal se encuentran coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* que es el principal indicador directo (Acosta, 2014).

4.4.1. Coliformes Totales

Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados capaces de crecer en medios que contienen sales biliares, como Mac Conkey y Bilis Rojo Violeta entre otros. Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, en el grupo de coliformes totales forman parte géneros como:

- *Escherichia*: es una bacteria presente frecuentemente en el intestino distal de los organismos. La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inocuas, pero algunas pueden causar graves intoxicaciones alimentarias como la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, el origen principal de los brotes por esta bacteria

productora de la toxina Shiga son los productos de carne picada cruda o poco cocinada, la leche cruda y las hortalizas contaminadas por materia fecal (OMS, 2018).

Las cepas de *Escherichia coli* se han agrupado en seis tipos patógenos, cada uno definido por sus propiedades de virulencia:

1. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): en el intestino se adhiere a las células del epitelio, existen las EPEC típicas y atípicas. Las cepas típicas de EPEC no producen toxinas termolábiles (TL) y termoestables (TS) provocando lesiones histopatológicas que poseen el plásmido EAF (factor de adherencia de *Escherichia coli*). Mientras tanto las cepas EPEC atípicas poseen las características anteriores con la diferencia que no poseen el plásmido EAF (Camello, 2018).
2. *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC): provoca daño mediante su adhesión y producción de enterotoxinas termolábiles y/o termoestables. La TL estimula adenilciclase que activa la proteína quinasa, dependiente de AMP_c, esto da como resultado la salida de líquidos y electrolitos en la luz intestinal. Mientras la TS actúa sobre la guanilato ciclase alterando la absorción de cloro y sodio que se acumula en la luz intestinal (Camello, 2018).
3. *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC): tiene la capacidad de colonizar el epitelio de la mucosa, producir necrosis focal con desprendimiento de mucosa y lesiones sangrantes, estas cepas no fermentan la lactosa, inmóviles. Su capacidad patógena depende de la presencia de un gran plásmido codificado para la producción de varias proteínas de la membrana externa (Camello, 2018).

4. *Escherichia coli* enterocitotóxica o enterohemorrágica (ECEC o EHEC): el principal factor de virulencia es la elaboración de una potente citotóxina con efecto citopático sobre las células Hela y Vero (Camello, 2018).
5. *Escherichia coli* enteroadherentes: son bacterias que se adhieren a las células con fimbrias y adhesinas proteicas de la pared de la bacteria, dando lugar a daño de la superficie intestinal (Camello, 2018).
6. *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC): se muestra como una fuente de autoaglutinación entre las bacterias, se pueden observar como ladrillos apilados en las monocapas de HEp 2, son cepas que no producen enterotoxinas e incluyen cepas patogénicas y no patogénicas. Las EAEC se adhieren a la mucosa intestinal y favorecen la secreción de moco, atrapando a las bacterias en la película mucosa (Camello, 2018).

Cada uno de los grupos patógenos de *Escherichia Coli* presenta características distintivas relacionadas con su epidemiología, patogénesis, manifestaciones clínicas y tratamiento. (Urribarren, 2015)

- *Enterobacter*: formado por bacilos móviles, muchas de estas bacterias son patógenas y causa de infección oportunista, otras son descomponedoras que viven en la materia orgánica muerta o viven en el ser humano como parte de una población microbiana normal. Algunas enterobacterias patógenas causan principalmente infección del tracto urinario y del tracto respiratorio (Camello, 2018).
- *Klebsiella*: son bacilos no flagelados y por lo tanto son inmóviles, poseen antígenos O y K. Los factores de patogenicidad son la cápsula que es un factor antifagocitario y la endotoxina de pared, que un lipopolisacárido (Camello, 2018). Es causa frecuente de infecciones hospitalarias urinarias y pulmonares; se encuentra en

heridas infectadas; produce una infección secundaria en los pulmones en pacientes con enfermedad pulmonar crónica; causa una infección entérica debido a su enterotóxina.

- *Citrobacter*: es un grupo de bacilos gram negativos que se encuentran frecuentemente en el agua, el suelo, alimentos, vegetación y forma parte de la flora nativa del intestino del hombre, fuera de esta se las encuentra en infecciones urinarias y aparato respiratorio. Destruyen las microvellosidades, formando lesiones muy características denominadas de adherencia y eliminación (Camello, 2018).

Se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, en un período de 24 a 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37 °C. Los coliformes totales se encuentran en el intestino del hombre y los animales, pero también en otros ambientes como suelo, plantas, cáscara de huevo, etc. Las bacterias coliformes son capaces de proliferar en los alimentos, incrementando su número rápidamente, sin necesidad de que haya habido una alta contaminación (Calderon, 2016).

4.4.2. Coliformes Fecales

Los coliformes fecales forman parte del total del grupo coliformes presentando las mismas características anteriores, capaces de reproducirse a temperaturas entre 44 y 44,5 °C, facultad para producir indol en agua peptona y termotolerancia que se debe a una superior estabilidad de las proteínas al calor encontrándose normalmente en el tracto entérico de los animales. En este grupo la principal bacteria que representa la meta de identificación es *Escherichia coli* (Calderon, 2016).

4.4.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria gram negativa, con una sola cadena en espiral de ADN, móvil con flagelos que se proyectan en varias direcciones, su información genética esta en los plásmidos, está presente en el intestino distal de los organismos mamíferos. La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inocuas, pero algunas causan graves intoxicaciones alimentarias. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas (OMS, 2016).

4.5. Placas Bacteriológicas Petrifilm.

Las Placas Petrifilm de 3M son una familia de placas listas para usarse que están diseñadas para ofrecer ahorros en tiempo, incrementar productividad, confiabilidad y, sobre todo, mejorar la eficiencia de las operaciones. Proporcionan resultados en tres pasos: Inoculación, incubación y recuento.

Su diseño tiene una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. En la parte superior, tiene un film de plástico con un adhesivo, un indicador y un gel soluble en agua, en la parte inferior tienen un papel cuadriculado cubierto con plástico, adhesivo, nutrientes de métodos estándar y gel soluble en agua fría. Las Placas Petrifilm están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas, incluyendo recuento de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, *Escherichia coli*, Enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, Listeria, mohos y levaduras (Journal, 2016).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Tipo de estudio.

Para realizar la determinación de *Escherichia coli*, Coliformes totales en muestras de lechuga que se expenden en cuatro mercados de la ciudad de Loja el método de investigación utilizado fue de tipo descriptivo y de corte transversal en un lapso de 3 meses: noviembre, diciembre de 2017 y enero de 2018.

5.2. Área de Estudio.

5.2.1. Lugar.

El estudio se realizó en la ciudad de Loja en cuatro diferentes mercados: Mercado Centro Comercial Loja, Mercado San Sebastián, Mercado mayorista Gran Colombia y Mercado pequeño productor Pitás.

5.2.2. Ubicación.

- El mercado centro comercial Loja se encuentra en la calle 18 de noviembre y 10 de Agosto en la ciudad de Loja.
- El mercado San Sebastián se encuentra entre la calle Lourdes y calle Bolívar en la ciudad de Loja.
- El mercado mayorista Gran Colombia ubicada en la avenida Nueva Loja de la ciudad de Loja.
- El mercado pequeño productor Pitás en la calle Dr. Arturo Armijos Ayala de la ciudad de Loja

5.2.3. Tamaño.

Según la Norma INEN 1750 establece que para realizar el muestreo en hortalizas se debe tomar un número de 10 muestras por cada lugar realizando 2 ensayos por cada establecimiento es decir se tomaran 20 muestras de lechugas por cada mercado al azar; de tal forma que las muestras escogidas representen todas las características del lote (**ANEXO 1**) (INEN, 2012).

Los lugares de procedencia de las muestras fueron diferentes, datos que fueron recolectados a través de encuestas realizadas a los vendedores (**ANEXO 2**).

5.3. Población o Universo

El universo estuvo constituido por el número de lechugas de los cuatro mercados de la ciudad de Loja, existiendo 150 muestras por mercado dándonos un total de 600 lechugas en los 4 lugares de expendio.

5.4. Normativa para la contaminación de lechugas

En Ecuador las normas INEN no establecen criterios microbiológicos para verduras y hortalizas frescas, por lo que para el presente proyecto se consideró como normativa a la Norma Sanitaria del Perú escogida por semejanza con la realidad con el Ecuador, que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos de consumo humano, donde encontramos los parámetros para coliformes totales y *Escherichia coli*.

Esta normativa establece los niveles de aceptabilidad para coliformes y *Escherichia coli* en frutas y hortalizas frescas; los cuales son de $10^2 - 10^3$ UFC/g (**ANEXO 3**).

5.5. Toma de muestras

La toma de muestras de las lechugas se las realizó en fundas con cierre hermético en el lugar de venta en cada uno de los cuatro mercados de la ciudad de Loja, las muestras fueron etiquetadas y transportadas dentro de un cooler que tenía previamente perseverantes FrioGel; y llevadas inmediatamente al laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de Loja para su estudio microbiológico.

5.6. Método de análisis microbiológico

5.6.1. Placas Petrifilm™ para el Recuento de *Escherichia Coli*/Coliformes

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *Escherichia coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *Escherichia coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *Escherichia coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *Escherichia coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC (Asociación de las comunidades analíticas) Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA (Administración de Alimentos y medicamentos) de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el

oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.

Escherichia coli = (colonias azules con gas)

Coliformes Totales = (colonias rojas con gas)

(ANEXO 4)

5.7. Instrumentos.

Para lograr el cumplimiento del primero objetivo se utilizó las Placa Petrifilm EC y para el cumplimiento del segundo objetivo fueron utilizadas encuestas realizadas a los vendedores de las hortalizas en los diferentes mercados.

5.8. Procedimientos

Fase Pre analítica

- Se solicitó autorización para el acceso y utilización del centro de Investigación de la Universidad Nacional de Loja, mediante un oficio dirigido al director Dr. Nikolay Aguirre Mendoza, quien brindó la autorización para usar las instalaciones.

(ANEXO 5).

- Se procedió a la compra de los materiales necesarios para la presente investigación, realizando la compra de 5 paquetes de Placa Petrifilm EC, y 1 paquete de 100 unidades de bolsas estériles en la empresa de Reactivos y Medios de Cultivos RMC S.A ubicado en la ciudad de Guayaquil. También se realizó la compra de lámparas de alcohol, guantes, mascarillas.
- Dentro del centro de investigación se ubicó los materiales que se encontraban en el mismo que fueron utilizados como: envases estériles, vasos de precipitación con

una capacidad de 90 ml, equipos como las pipetas volumétricas de 10 ml, refrigeradora, balanza e incubadora y sustancias como agua destilada para la dilución y agua ultrapura para la esterilización de los materiales.

- Se procede a la compra de las lechugas en el mercado correspondiente para su análisis, siendo estas transportadas al laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de Loja.

Fase Analítica

- Se realizó el procedimiento de acuerdo a la metodología del manejo de placas Petrifilm (**ANEXO 6**).

Fase Post analítica

- Los resultados sobre el estudio bacteriológico de las lechugas se analizaron mediante conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y luego se aplicó la fórmula presente en la guía de placas Petrifilm (**ANEXO 7**), y la interpretación se la realizó según la guía de los medios de cultivos utilizados. (**ANEXO 8**). Además todas las muestras analizadas constaron dentro de un formulario de datos donde se presentó la hora en la que se procedió a la recolección de las muestras siembra e interpretación de las mismas para garantizar el número exacto de horas que tenían que ser incubadas. (**ANEXO 9**)

5.9. Equipos y materiales.

- **Equipos**
 - Incubadora
 - Refrigeradora
 - Balanza

- Pipetas volumétricas y automáticas.
- **Materiales.**
 - Fundas estériles
 - Lámparas de alcohol
 - Envases estériles
 - Vasos de precipitación.
- **Medios de Cultivo**
 - Placa Petrifilm EC
- **Reactivos o Sustancias**
 - Agua destilada
 - Agua ultrapura

5.10. Plan de tabulación y análisis.

Los resultados se presentaron mediante tablas estadísticas utilizando el programa Microsoft Excel, realizando su correspondiente interpretación.

6. RESULTADOS

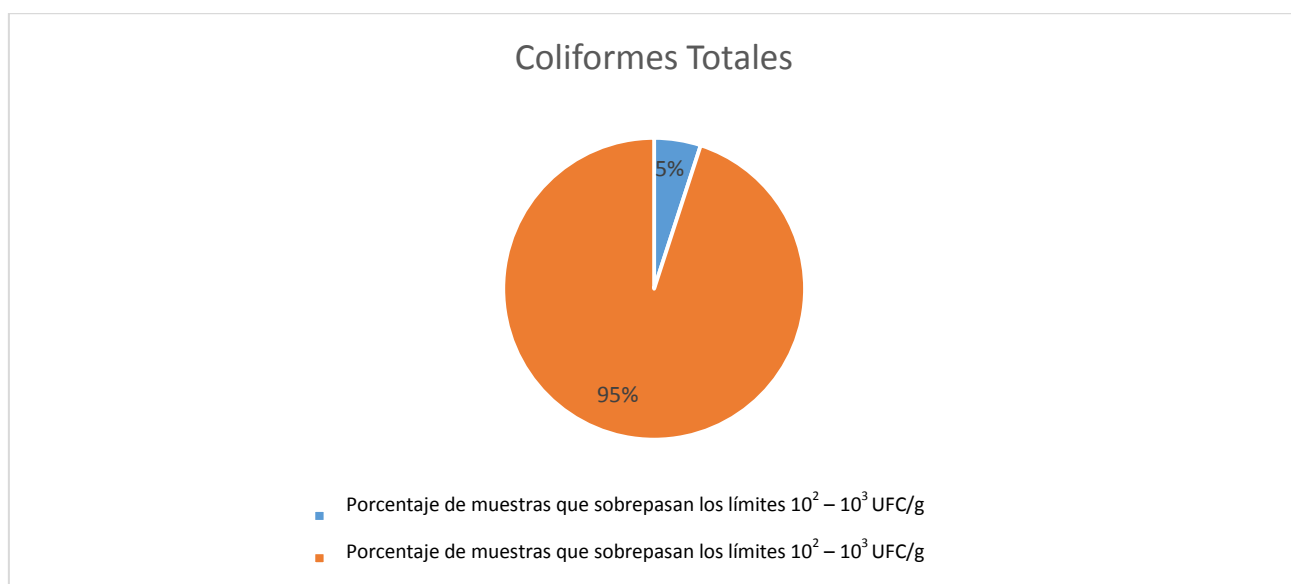
Tabla 1.

Presencia de Coliformes Totales en lechugas expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Loja.

Mercado	Número de muestras contaminadas que sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/g	Porcentaje %, de muestras contaminadas que sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/g	Número de muestras contaminadas que no sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/g	Porcentaje% de muestras contaminadas que no sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/
Mercado Centro Comercial Loja	1	1,25 %	19	23,75 %
Mercado San Sebastián	0	0 %	20	25 %
Mercado mayorista Gran Colombia	2	2,5 %	18	22,5 %
Mercado pequeño productor Pitás	1	1,25 %	19	23,75 %
Total	4	5 %	76	95 %

Fuente: Determinación de Coliformes totales en muestras de lechugas expandidas en mercados de la ciudad de Loja.
 Autora: Erika Mejía

Grafico 1.



Fuente: Determinación de Coliformes totales en muestras de lechugas expandidas en mercados de la ciudad de Loja.
 Autora: Erika Mejía

Tomando en cuenta los límites aceptables 10^2 - 10^3 UFC/g establecidos en la Norma Sanitaria de Perú, el nivel de contaminación microbiológica de las lechugas en los cuatro mercados de la ciudad de Loja de las 80 muestras analizadas, el 5.0 % sobrepasa los límites aceptables 10^2 - 10^3 UFC/g y el 95.0 % se encuentra dentro de dichos límites.

Tabla 2.

Presencia de Escherichia coli en lechugas expandidas en cuatro mercados de la ciudad

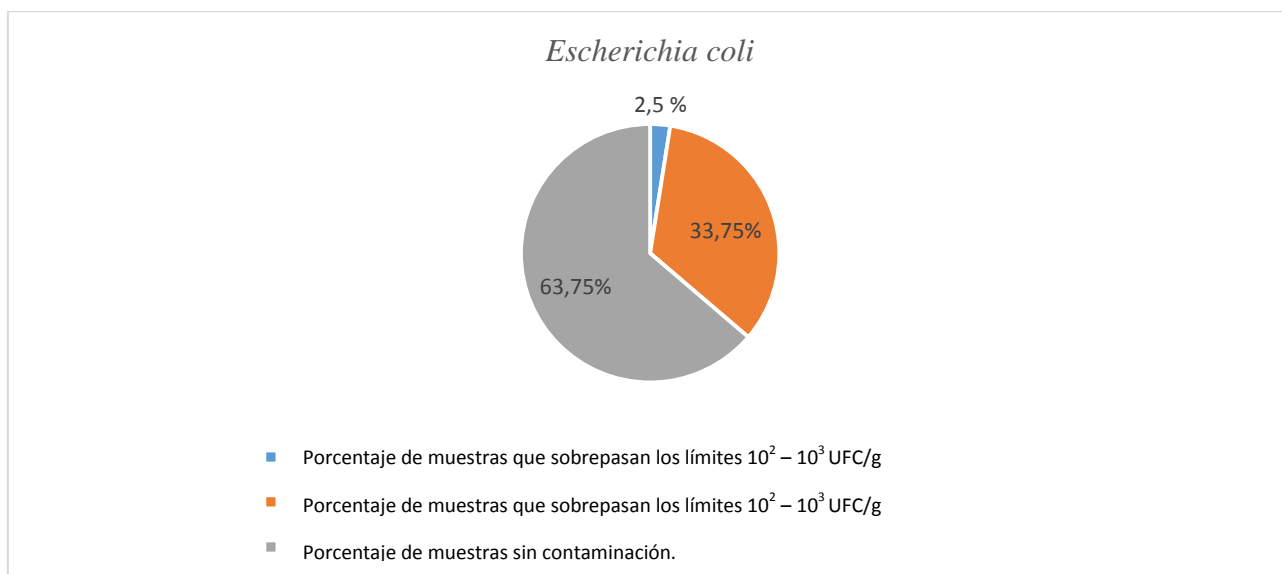
de Loja.

Mercado	Muestras que sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/g	Porcentaje % de muestras que sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3 UFC/g	Número de muestras contaminadas que no sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3UFC/g	Porcentaje % de muestras contaminadas que no sobrepasan los límites aceptables 10^2-10^3UFC/g	Número de muestras sin contaminación	Porcentaje % de muestras sin contaminación
M. Centro Comercial	0	0 %	5	6,25 %	15	18,75%
M. San Sebastián	1	1,25 %	4	5 %	15	18,75%
M. Gran Colombia	1	1,25 %	14	17,5 %	5	6,25%
M. las Pitas	0	0 %	4	5 %	16	20%
Total	2	2,5 %	27	33,75 %	51	63,75%

Fuente: Determinación *Escherichia coli* en muestras de lechugas expandidas en mercados de la ciudad de Loja.

Autora: Erika Mejía

Gráfico 2.



Fuente: Determinación *Escherichia coli* en muestras de lechugas expandidas en mercados de la ciudad de Loja.

Autora: Erika Mejía

En el caso de la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* el 63.75 % que equivale a 51 muestras de lechuga no presentó crecimiento, el 33.75 % siendo igual a un número de 27 muestras presentó algún grado de contaminación y también existió un 2,5 % que sobrepasan los niveles aceptables 10^2 - 10^3 UFC/g representado un número de 2 lechugas encontradas contaminadas.

Tabla 3.

Frecuencia de contaminación microbiológica de Escherichia coli y Coliformes Totales como indicadores de contaminación fecal.

Indicadores	Grado de contaminación UFC/g	Frecuencia (%) de contaminación	Número de lechugas contaminadas por mercado (unidades).			
			Mercado Centro Comercial Loja.	Mercado San Sebastián	Mercado mayorista Gran Colombia	Mercado Pequeño Productor las Pitas.
<i>Escherichia coli</i>	<10 ³ UFC/g	33,75 %	5	4	14	4
	>10 ³ UFC/g	2,5 %	0	1	1	0
Coliformes Totales	<10 ³ UFC/g	95,0 %	19	20	18	19
	>10 ³ UFC/g	5,0 %	1	0	2	1

Fuente: contaminación microbiológica de *Escherichia coli* y Coliformes Totales como indicadores de contaminación fecal.

Autora: Erika Mejía

Los resultados de las muestras analizadas arrojaron que la frecuencia con que se encontró muestras con niveles mayores a $10^2 - 10^3$ UFC/g son muy bajas, ya que el único mercado en el que se repitió una muestra contaminada fue el Mercado mayorista Gran Colombia encontrándose así 3 lechugas con valores fuera de los rangos aceptables, mientras que en el Mercado Centro Comercial Loja, Mercado San Sebastián y Mercado pequeño productor Pitas solo existió la presencia de 1 muestra de lechuga por mercado que se encontraron con niveles mayores a $10^2 - 10^3$ UFC/g.

Tabla 4.

Relación del punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia de las hortalizas con el grado de contaminación de las hortalizas por Escherichia coli.

Indicadores	Grado de contaminación UFC/g	Frecuencia (%) de contaminación	Procedencia							Total
			Chontacruz	Cuenca	Belén	Riobamba	Zalapa	Ambato	Motupe	
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	63,75 %	4	3	5	7	8	14	10	51
	<10 ³ UFC/g	33,75 %	6	1	1	5	4	2	8	27
	>10 ³ UFC/g	2,5 %	1 M.San Sebastián	0	0	0	0	0	1 M. Mayorista	2
Total		100%	11	4	6	12	12	16	19	80

Fuente: Relación del punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia de las hortalizas con el grado de contaminación de las hortalizas por *Escherichia coli*.
 Autora: Erika Mejía

La contaminación por *Escherichia coli* con niveles superiores a 10³ UFC/g afectó a 1 muestra proveniente de Chontacruz en el mercado San Sebastián de 11 lechugas y se encontró también contaminación de 1 lechuga de Motupe del mercado Mayorista Gran Colombia de 19 muestras recolectadas.

Tabla 5.

Relación del punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia de las hortalizas con el grado de contaminación de las hortalizas por Coliformes totales.

Indicadores	Grado de contaminación UFC/g	Frecuencia (%) de contaminación	Procedencia							Total
			Chontacruz	Cuenca	Belén	Riobamba	Zalapa	Ambato	Motupe	
Coliformes totales	Negativo	0 %	0	0	0	0	0	0	0	0
	<10 ³ UFC/g	95 %	9	4	6	12	12	15	18	76
	>10 ³ UFC/g	5 %	2 M. Mayorista	0	0	0	0	1 M. Centro Comercial	1 M. Pequeño productor Pitas	4
Total		100%	11	4	6	12	12	16	19	80

Fuente: Relación del punto de expendio (mercado) y el lugar de procedencia de las hortalizas con el grado de contaminación de las hortalizas por Coliformes totales.
 Autora: Erika Mejia

La contaminación por Coliformes totales con niveles superiores a 10³ UFC/g afectó a 2 muestra proveniente de Chontacruz del Mercado Mayorista Gran Colombia de 11 lechugas, 1 de Ambato del mercado Centro Comercial Loja de un total de 16 muestras y por último afectó a 1 muestra de Motupe del mercado Pequeño Productor las Pitas de 19 muestras analizadas.

7. DISCUSIÓN

Siguiendo los niveles aceptables $10^2 - 10^3$ UFC/g establecidos en la Norma Sanitaria de Perú, en los cuatro mercados de la ciudad de Loja, se observó que todas las muestras analizadas presentaron algún grado de contaminación por coliformes totales; sin embargo, el 95 % estuvo dentro de los límites $10^2 - 10^3$ UFC/g y el 5.0 % sobrepasó tales límites. En el caso de la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* el 63.75 % no presentó crecimiento y el 33.75 % presentó algún grado de contaminación y el 2,5 % sobrepasa los límites $10^2 - 10^3$ UFC/g.

Los resultados obtenidos al compararlos con un estudio realizado en Cajamarca, Perú (Rivera, 2013), donde se estudiaron 85 muestras de hortalizas arrojaron que el 40 % de las muestras presentaron Coliformes totales y *Escherichia coli* especialmente: perejil y lechuga, lo que al comparar con la investigación realizada en los mercados de la ciudad de Loja, obteniendo una contaminación por Coliformes Totales del 5 % y un 2,5 % por *Escherichia coli* se puede afirmar que existe una contaminación mayor en Cajamarca (Perú) que la existente en Loja (Ecuador).

De acuerdo al trabajo investigativo desarrollado en la Ciudad de Cuenca se analizaron lechugas para determinar Coliformes Totales y *Escherichia coli* en un número total de 96 lechugas donde se obtuvieron un índice de contaminación del 7 % (Velez, 2013), que al correlacionarlo con nuestros resultados obtenidos, se puede decir que existe el mismo índice de contaminación, que fue de 5 % en Coliformes Totales y un 2,5 % en *Escherichia coli* donde se puede notar que todas las muestras obtenidas presentan cierto grado de contaminación bacteriológica, las muestras con niveles fuera de los rangos de aceptabilidad representan menos del 10 % del número total de lechugas.

En la provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia en el año 2015 se realizó un estudio denominado: Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga en la cadena alimentaria, cuya investigación se basaba en el recuento de bacterias Aerobias Mesófilas (heterotróficas) como indicadores de vida útil del producto, recuento de Coliformes Totales y Fecales (termorresistentes) como indicadores de contaminación general y fecal y por último la presencia /ausencia de Enterobacterias patógenas, Salmonella sp. y Shigella sp (Rodríguez, 2015), arrojando resultados entre 10^4 UFC/g a 10^7 UFC/g que contrastado con esta investigación son niveles de contaminación mucho más altos que los existentes en la ciudad de Loja en sus diferentes mercados, sin embargo ambos estudios concuerdan al concluir que más del 75% de las lechugas analizadas presentan algún grado de contaminación bacteriológica.

Los resultados sugieren tomar acciones correctivas que minimicen los riesgos de contaminación microbiológica. Estas acciones incluyen la capacitación de los productores y su personal.

8. CONCLUSIONES

- Como consecuencia de los análisis realizados se descubrió que todas las muestras presentaron contaminación microbiológica, pero esta contaminación en la mayoría fue aceptable, tomando en cuenta los valores $10^2 - 10^3$ UFC/g solo el 5 % se encontraron contaminados con Coliformes Totales y el 2,5 % con *Escherichia coli*. Es necesario recalcar que existe una alta prevalencia de contaminación con límites aceptables, que si no es controlada podría poner en riesgo la salud de los consumidores.
- La frecuencia con que se encontró muestras con niveles elevados son muy bajas ya que el único mercado en el que se repitió una muestra contaminada fue el Mercado mayorista Gran Colombia encontrándose así 3 lechugas con valores fuera de los límites $10^2 - 10^3$ UFC/g, mientras que en el resto de lugares de expendio de lechugas solo se encontró 1 muestra por mercado contaminada con niveles fuera de estos límites.
- No se encontró ninguna relación significativa entre el punto de expendio (mercado) y el lugar de producción con el grado de contaminación de las lechugas ya que las muestras que fueron encontradas como contaminadas no representaron más de la mitad de las lechugas de cada punto de procedencia y expendio.

9. RECOMENDACIONES

- Para complementar el presente trabajo se recomienda realizar estudios bacteriológicos y parasitológicos de la lechuga para evaluar completamente la calidad microbiológica de esta hortaliza de consumo directo, en la ciudad de Loja
- Al no existir una normativa INEN que establezca criterios microbiológicos para las lechugas, se delimita a buscar y utilizar otras normas para realizar los diferentes estudios por lo que sugiere implementar controles y estudios microbiológicos para este tipo de hortalizas.
- Aunque en la presente investigación se encontró que todas las muestras se encontraban contaminadas, aunque estas no sobrepasen los niveles de $10^2 - 10^3$ UFC/g, se recomienda tomar precauciones a la hora del consumo de estas hortalizas por que se pone en riesgo la salud de los consumidores.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Recuperado el 17 de 05 de 2017, de

<http://www.uprm.edu/agricultura/sea/clinica/CIDiaEnfLechu.pdf>

Acosta, R. S. (2014). *Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos*. Argentina: Editorial BJ.

Recuperado el 17 de 05 de 2017, de [https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-](https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-SXsC&pg=PA54&dq=Microorganismos+indicadores+de+higiene&hl=es&sa=X&ved=0ah)

[SXsC&pg=PA54&dq=Microorganismos+indicadores+de+higiene&hl=es&sa=X&ved=0ah](https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-SXsC&pg=PA54&dq=Microorganismos+indicadores+de+higiene&hl=es&sa=X&ved=0ah)

[UKEwjfpf7PtvjTAhVD5yYKHbRlAFcQ6AEIITAA#v=onepage&q=Microorganismos%2](https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-SXsC&pg=PA54&dq=Microorganismos+indicadores+de+higiene&hl=es&sa=X&ved=0ah)

[0indicadores%20de%20higiene&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=g7YIShB-SXsC&pg=PA54&dq=Microorganismos+indicadores+de+higiene&hl=es&sa=X&ved=0ah)

Agricultura Ecologica. (s.f.). Recuperado el 17 de 05 de 2017, de

<http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm>

Baudoin, w. (2012). *El cultivo protegido en clima mediterraneo* .

Boliviana, G. M. (12 de 2015). Obtenido de

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662015000200006

Calderon, V. (2016). *Microbiologia Alimentaria*. Diaz de Santos. Recuperado el 17 de 05 de 2017, de

[https://books.google.com.ec/books?id=9EIfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=coliform](https://books.google.com.ec/books?id=9EIfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=coliformes+totales+pdf&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9n6fXuPjTAhWFRCYKHcvxABAQ6AEI)

[es+totales+pdf&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9n6fXuPjTAhWFRCYKHcvxABAQ6AEI](https://books.google.com.ec/books?id=9EIfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=coliformes+totales+pdf&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9n6fXuPjTAhWFRCYKHcvxABAQ6AEI)

[NDAE#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=9EIfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=coliformes+totales+pdf&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9n6fXuPjTAhWFRCYKHcvxABAQ6AEI)

Camello, R. R. (2018). *Microbiologia y Parasitología Humana* (4ta ed.). Mexico: Medica

Panamericana.

Camelo, A. (2013). En *Manual para la preparacion y venta de frutas y hortalizas*. Roma.

Carrasco, G. (2016). *Manual practico del cultivo de la lechuga* . España.

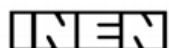
- Carrillo, L. (2012). San Salvador de Jujuy: 1ª edición, Agosto. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/7%20frutas%20y%20hortalizas.pdf>
- Castillo. (2014). *Hortalizas*. Recuperado el 14 de Mayo de 2017, de <https://www.importancia.org/hortalizas.php>
- Depositos de Documentos de la FAO*. (s.f.). (Departamento de Agricultura) Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/006/Y4893S/y4893s07.htm>
- Eroski Consumer*. (s.f.). Recuperado el 14 de Mayo de 2017, de Hortalizas y Verduras : <http://burruezocongelados.es/blog/tipos-de-lechugas-caracteristicas-variedades/>
- Gonzalez, L., & Lopes, A. (12 de 2013). *Rendimiento de cinco variedades de Lecguga. Lactuca sativa L. TIPO, 5*. Potosí, Mexico. Obtenido de <http://ninive.uaslp.mx/jspui/bitstream/i/3477/1/IAF1GOU01301.pdf>
- INEN. (18 de 09 de 2012). Obtenido de <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1750-C.pdf>
- INEN 3039. (2015). Obtenido de <https://es.scribd.com/document/365852181/NTE-INEN-3039-pdf>
- Journal, B. (2016). Implementacion del metodo alternativo Petrifilm para dedeterminar .
- MSP. (2016). *Direccion Nacional de Vigilancia Epidemiologica* . Obtenido de <https://public.tableau.com/profile/vvicentee80#!/vizhome/ETAS-2014/ANUARIO>
- NOM-111-SSA1. (s.f.). *Método para la cuenta*. Mexico. Obtenido de [file:///C:/Users/Alexander/Downloads/NOM-111-SSA1-1994METPARALACUENTADEMOHOSYLEVADURASENALIMS%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Alexander/Downloads/NOM-111-SSA1-1994METPARALACUENTADEMOHOSYLEVADURASENALIMS%20(1).pdf)
- OMS. (Diciembre de 2015). *Organización Mundial de la Salud OMS*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>

- OMS. (Octubre de 2016). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 17 de 05 de 2017, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
- OMS. (2017). Inocuidad de los alimentos.
- OMS. (7 de Febrero de 2018). *Organizacion Mundial de la Saluda* . Obtenido de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- Rivera, M. (2013). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*.
- Rodriguez, M. (2015). Evaluación de la contaminación microbiológica de la lechuga (lactuca sativa) en la cadena alimentaria, provincia de Quillacollo, Cochabamba, Bolivia 2015. *Gaceta Médica Boliviana*.
- Solagro. (2016). *Solagro*. Obtenido de <http://www.solagro.com.ec/es/cultivos-2/item/lechuga.html>
- Urribarren, D. T. (15 de Agosto de 2015). *Universidad Nacional Autonoma de Mexico*. Obtenido de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
- Velez, A. (2013). Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4301/1/TESIS.pdf>
- Velez, A. (2013). "Determinacion de Coliformes Totales y E.coli en lechugas".

11. ANEXOS

ANEXO 1

Norma para muestreo



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1750:1994

FECHA DE CONFIRMACIÓN: 2012-09-28

HORTALIZAS Y FRUTAS FRESCAS. MUESTREO

Primera Edición

FRESH FRUITS AND VEGETABLES. SAMPLING.

First Edition

DESCRIPTORES: Alimentos, hortalizas, frutas, muestreo.
AL 02.01-202
CDU: 634.1/8:635.11
CIU: 1.110

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	HORTALIZAS Y FRUTAS FRESCAS MUESTREO	INEN 1 750 1994-09
--	---	-------------------------------

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece el procedimiento para tomar muestras en hortalizas y frutas frescas.

2. TERMINOLOGIA

2.1 Partida. Cantidad de hortalizas y/o frutas frescas expedidas o transportadas en una sola vez, o envío determinado por un contrato particular o documento de embarque, y puede estar compuesto por uno o varios lotes.

2.2 Lote. Cantidad definida de la partida, que se presume tiene las mismas características uniformes (la misma variedad, el grado de madurez, frescura, un mismo tipo o tamaño, calibre, empaque o embalaje), mediante el cual permite estimar la calidad y se somete a inspección como un conjunto unitario.

2.3 Calidad. Conjunto de factores o características de las hortalizas y/o frutas frescas, que pueden evaluarse por medios sensoriales o ensayos físicos, en los que se consideran: color, olor, sabor, aroma, textura, defectos, tamaño, apariencia, masa (peso), siempre que se indique como requisitos de calidad en las normas respectivas.

2.4 Inspección. Proceso por el cual se mide, examina, ensaya o compara un envase, unidad o producto, con los requisitos de una norma.

2.5 Muestra. Grupo de unidades extraídas de un lote, que sirva para obtener la información necesaria que permita apreciar una o más características del lote, lo cual servirá de base para tomar una decisión sobre dicho lote o sobre el proceso que lo produjo.

2.6 Muestra elemental. Pequeña cantidad de hortalizas y/o frutas frescas, tomadas de un punto o posición a diferentes ubicaciones en el lote.

2.7 Muestra global. Cantidad de hortalizas y/o frutas frescas formada por el conjunto y mezcla de muestras elementales.

2.8 Muestra reducida. Cantidad de hortalizas y/o frutas frescas, obtenida por reducción de la muestra global y que es representativa del lote.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas y frutas frescas, muestreo.

2.9 Muestra para análisis. Cantidad de hortalizas y/o frutas frescas, representativa de la muestra global o de la muestra reducida, que se destina para el examen en laboratorio, a fin de realizar los análisis pertinentes.

2.10 Muestreo al azar. La primera condición que se requiere para efectuar este muestreo, es la de disponer de una tabla de números al azar, es decir: de una secuencia de números entre cero a nueve, tomados al azar, la misma que debe estar debidamente controlada.

2.11 Defecto. Es el no cumplimiento con solo uno de los requisitos específicos para una unidad.

2.12 Unidad defectuosa. Es la unidad que tiene uno o más defectos.

2.13 Porcentaje defectuoso. Cantidad de unidades inspeccionadas que resulta multiplicando por ciento, el coeficiente entre la cantidad de unidades defectuosas y la cantidad de unidades inspeccionadas.

El porcentaje de productos defectuosos se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$\% \text{ defectuosos} = \frac{\text{cantidad de defectuosos}}{\text{Cantidad inspeccionada}} \times 100$$

El resultado indica si el producto o lote está dentro de los rangos indicados en las tablas de tolerancia correspondientes.

2.14 Nivel de calidad (AQL). Porcentaje de defectuosos máximo o el número mayor de defectos en 100 unidades, que debe tener el producto para que el plan de muestreo dé por resultado la aceptación de la mayoría de los lotes sometidos a inspección.

2.15 Otros términos relacionados con esta norma se encuentran definidos en la Norma INEN 255.

3. DISPOSICIONES GENERALES

3.1 La toma de muestra representativa del lote de las hortalizas y/o frutas frescas, la efectuarán inspectores designados por compradores y vendedores, debiendo llevarse a cabo en el sitio de cosecha, ya para efectuar un examen de rutina en cualquier etapa de su manejo, después del corte, o para determinar en el laboratorio las características especiales del mismo.

3.2 La toma de muestras de las hortalizas y frutas frescas debe realizarse al azar, aunque, a veces, para descubrir la presencia de una variedad diferente o de una anomalía de cualquier tipo, debe efectuarse un muestreo selectivo y no al azar. Por lo tanto, antes de empezar el muestreo, debe establecerse qué características son las que van a examinar.

(Continúa)

3.3 La toma de muestras debe efectuarse en tal forma que las muestras elementales representen todas las características del lote. Luego de separar las porciones dañadas del lote contenido en envases, embalajes, cajas, sacos, fundas, etc., deben extraerse muestras separadas de las porciones buenas y de las dañadas.

3.4 La toma de muestras debe efectuarse en tal forma que las muestras obtenidas, los recipientes que las contengan y los aparatos usados en la extracción, estén protegidos contra cualquier tipo de contaminaciones.

3.5 Tan pronto se realice el muestreo sobre la muestra global o sobre la muestra reducida, éste debe almacenarse y transportarse en condiciones tales que se eviten cambios en el producto.

4. PROCEDIMIENTO

4.1 Preparación del lote para muestreo. El lote para muestreo debe prepararse de tal forma que las muestras puedan tomarse sin impedimentos ni atrasos. Las muestras deben extraerse por las partes interesadas o una autoridad competente.

4.1.1 Cada lote debe muestrearse separadamente; en casos de que el lote presente daños debidos al transporte, las porciones dañadas del lote deben aislarse y muestrearse separadamente de las porciones no dañadas. Igualmente, si la partida no es considerada por el destinatario como uniforme, ésta debe dividirse en lotes homogéneos y muestrearse por separado, previo acuerdo entre comprador y vendedor.

4.2 Toma de muestras elementales. Las muestras elementales deben tomarse al azar, de diferentes puntos y a diferentes niveles del lote.

4.2.1 Productos envasados o empacados. Para productos envasados o empacados, (cajas de madera, cajas de cartón, sacos o costales, fundas, etc.), las muestras deben extraerse al azar, de acuerdo a lo señalado en la tabla 1.

(Continúa)

TABLA 3. Tamaño mínimo de la muestra para ensayo, según el producto.

PRODUCTO: HORTALIZAS

TAMAÑOS Y FORMAS	NOMBRE		TAMAÑO MÍNIMO DE CADA MUESTRA PARA ENSAYO
	VULGAR	CIENTIFICO	
Hortalizas pequeñas	Judías verdes (vainitas)	Familia: Fabaceae (papilionaceae) Género: Phaseolus, Especie: Vulgaris L.	1 kg
	Arvejas	Familia: Fabaceae (papilionaceae) Género: Pisum Especie: Sativum L.	"
	Fréjol	Familia: Fabaceae (papilionaceae) Género: Phaseolus Especie: Vulgaris L.	"
	Haba	Familia: Fabaceae (papilionaceae) Género: Vicia Especie: Faba L.	"
	Ají	Familia: Solanácea Género: Capsicum Especie: Frutescens L. y otras	"
	Ajos	Familia: Liliaceae Género: Allium Especie: Sativum L.	"
	Pimiento o pimentón	Familia: Solanaceae Género: Capsicum Especie: Nahum L. y otras.	"

Hortalizas varias	Lechuga	Familia: Compositae (Asteraceae); Género: Lactuca, Especie: Sativa L.	10 unidades
	Col o repollo	Familia: Cruciferae (Brassicaceae) Género: Brassica Especie: Oleraceae L.	"
	Col de Bruselas	Familia: Cruciferae (Brassicaceae) Género: Brassica Especie: Oleraceae Var	"
	Repollo coliflor	Familia: Cruciferae (Brassicaceae) Género: Brassica Especie: Oleraceae, Var Cothrytis	"
	Espárrago	Familia: Liliacea, Género: Asparagus Especie: Officinalis L.	"
	Choclo-Maíz tierno	Familia: Gramíneas (Poaceas) Género: Zea Especie: Mays L.	"
	brócoli	Familia: Cruciferae Género: Brassica Especie: oleraceae, var italica	"
	Otros	-----	"

ANEXO 2

Encuesta para los vendedores de lechuga

C10



Encuesta para los vendedores de lechuga

Encuesta en Mercados

Nombre del Mercado: Mercado Mayorista Gran Colombia

¿De dónde vienen las lechugas?

Ambato.

¿Cuántas lechugas vende al día?

7 - 10

¿Cada que tiempo le entregan las lechugas?

Cada 3 o 4 días.

¿Las lechugas son lavadas antes de venderlas?

No

¿Con que tipo de agua lavan las lechugas?


Corriente.

ANEXO 3

Norma para alimentos

MINISTERIO DE SALUD No. 591-2008/MINSA

REPUBLICA DEL PERU



Resolución Ministerial

Lima, 27 de AGOSTO del 2008

Visto: el Expediente N° 07-051670-002, que contiene el Oficio N° 5868-2008/DG/DIGESA, cursado por la Dirección General de Salud Ambiental;

CONSIDERANDO:

 Que, el artículo 92° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud establece que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada entre otros, del control sanitario de los alimentos y bebidas;

M. Arce R.  Que, el literal a) del artículo 25° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, señala que la Dirección General de Salud Ambiental-DIGESA es el órgano técnico-normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente;

RHARDEZ C.  Que, el literal c) del artículo 49° del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud, aprobado por Decreto Supremo N° 023-2005-SA, establece como función general de la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis de la DIGESA, concertar y articular los aspectos técnicos y normativos en materia de inocuidad de los alimentos, bebidas y de prevención de la zoonosis;

yes N. Que, mediante Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM, se aprobaron los "Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano", en el cual se señalan los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano, estableciendo que la verificación de su cumplimiento estará a cargo de los organismos competentes en vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas a nivel nacional;

Que, por Resolución Ministerial N° 709-2007/MINSA, se dispuso que la Oficina General de Comunicaciones efectúe la publicación en el portal de Internet del Ministerio de Salud, hasta por un período de treinta (30) días calendario, del proyecto de la NTS N° -MINSA/DIGESA - V.01 "Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para

NTS N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01

NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

XIV. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y OTROS VEGETALES.

XIV.1 Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
<i>Escherichia coli</i> y Coliformes	5	3	5	2	10 ⁷	10 ⁸
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

XIV.2 Frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas) refrigeradas y/o congeladas.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10 ⁴	10 ⁶
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<i>Listeria monocytogenes</i> (*)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

(*) Solo para frutas y hortalizas de tierra (a excepción de las precocidas).

XIV.3 Frutas y hortalizas desecadas, deshidratadas o liofilizadas.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Levaduras	2	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	5 x 10 ²
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

XIV.4 Frutas y hortalizas en vinagre, aceite o salmuera o fermentadas.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Levaduras	3	3	5	1	10 ³	10 ⁴

XIV.5 Frutos secos (dátiles, tamarindo, otros) y semillas (castañas, maní, pecanas, nuez, almendras, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Levaduras	3	3	5	1	10 ²	10 ³

ANEXO 4

Recomendaciones de Uso y Preparación de las muestras.

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli / Coliformes Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

Almacenamiento



- 1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\pm 8^{\circ}\text{C}$ ($\pm 46^{\circ}\text{F}$). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



- 2 Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.

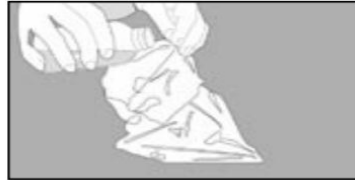


- 3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ($\pm 77^{\circ}\text{F}$) y una humedad relativa $\leq 50\%$. **No refrigere** los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

Preparación de la muestra



- 4 Prepare una dilución de una muestra de alimento.* Pese o pipete la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado. *Vea las indicaciones para Productos Lácteos y Jugos.



- 5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2); agua de peptonada al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); *buffer* de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.



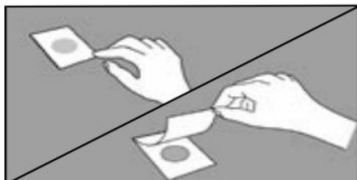
- 6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfato o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

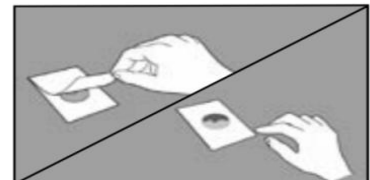
Inoculación



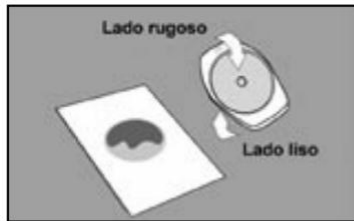
- 7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



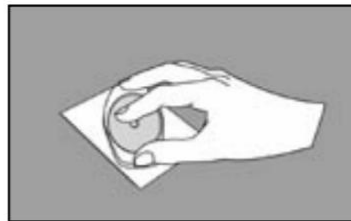
- 8 Con la Pipeta Electrónica 3M™, o una pipeta equivalente **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



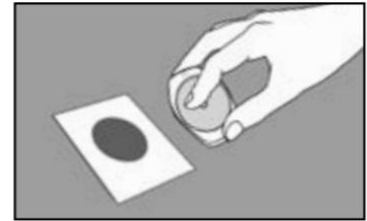
- 9 Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No** la deje caer.



10 Con el lado **liso** hacia abajo, coloque el dispersor en la película superior sobre el inóculo.

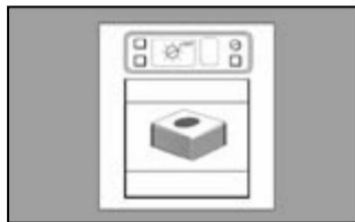


11 Presione **suavemente** el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire. Ni deslice el dispersor.



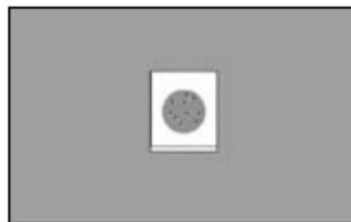
12 Levante el dispersor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

Incubación

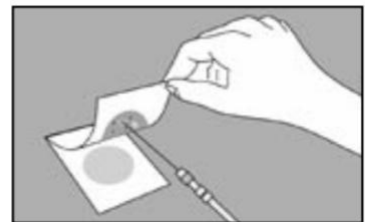


13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación



14 Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método.

Los métodos aprobados más conocidos son:

• **AOAC método oficial 991.14**

Para coliformes:
Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.
Para *E. coli*:
Incubar 48 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.

• **AOAC método oficial 998.08**

Para *E. coli* (carnes, aves, marinos):
Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.

• **Método NMKL (147.1993)**

Para coliformes:
Incubar 24 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C.
Para *E. coli*:
Incubar 48 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C.

Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: www.3M.com/microbiology
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección serviciotecnicomicro@mmm.com o llame al 5255-5270-2223.

3M

3M Microbiology
3M Center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3M.com/microbiology

3M México
Av. Santa Fe 190
Col. Santa Fe, C.P. 01210
México, D.F.
Tel. (55-52) 5270-0454
01 800-712-2527
microbiologiamx@mmm.com

3M Argentina
Olga Cossetini 1031
Buenos Aires,
CP C1107CEA
Argentina
Tel. (54-11) 4339-2400
microbiologia-ar@mmm.com

Petrifilm es una marca registrada de 3M.
Impreso en México.
Revisión: 2006-01
Referencia: 70-2008-8105-3.

ANEXO 5

Autorización para el acceso y utilización del centro de Investigación de la Universidad Nacional de Loja.

Loja, 30 de Octubre del 2017

Dr. Nikolay Aguirre Mendoza

DIRECTOR DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

De mis consideraciones:

Yo, Erika Johanna Mejía Rogel con C.I 1105128704 estudiante del VIII ciclo de la carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, solicito de la manera más comedida se digne autorizar la realización de mi proyecto titulado: **DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI, EN MUESTRAS DE LECHUGA EXPENDIDAS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA**, para el desarrollo del mismo requiero realizar el procesamiento de las muestras en el laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de Loja.

Esperando ser atendida favorablemente, le antelo mi sincero agradecimiento.

Muy atentamente,


VTO. BUENO
Dirección de Investigación UNL
Fecha:.....30.10.2017


Erika Johanna Mejía Rogel

Solicitante

ANEXO 6

Procedimiento

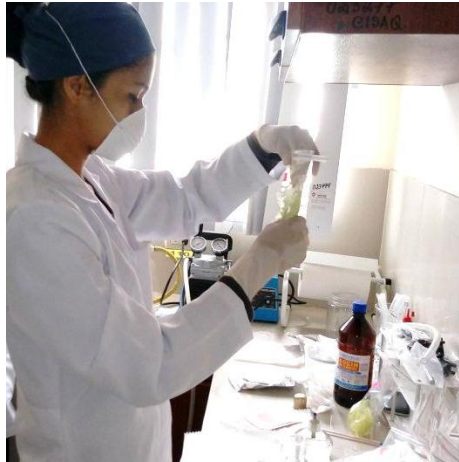
- Se pesa 10 g de lechuga en la balanza y se coloca dentro de la funda estéril abierta en ese instante,



- Se adiciona a los 10g de muestra 90 ml de agua destilada medido en un vaso de precipitación



- Homogenizar y triturar la muestra que se encuentra ya con el agua destilada.



- Se coloca la Placa Petrifilm EC en una superficie plana que deben estar previamente etiquetadas para su posterior inoculación.



- Levantar la lámina semitransparente que superior de la Placa Petrifilm EC y colocar 1 ml o 1000 ul de la muestra ya homogenizada dentro de la película cuadrilada de las placas con una pipeta volumétrica.



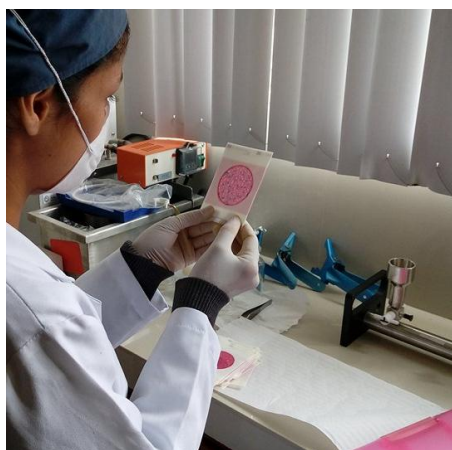
- Tapar cuidadosamente la placa sin hacer presión para evitar la formación de burbujas.



- Esperar al menos 1 minuto para que el gel se solidifique y proceder a colocar en la incubadora a 35 C por 24 y 48 horas.



- Una vez transcurrido el tiempo de incubación se cuenta las colonias que han crecido en las placas.



- Por ultimo desechar las placas en desechos infecciosos previa esterilización.

ANEXO 7

Fórmula para el Cálculo.



Fórmula para el cálculo de E. coli/Coliformes

$$N = \Sigma C \times f = \text{UFC/g}$$

N: número de UFC por gramo

ΣC: suma de las colonias contadas en las placas

f: factor de dilución. (según la dilución trabajada)

• AOAC método oficial 986.33 y 989.10
(leche y productos lácteos)
Incubar 24 h ± 2 h a 32 °C ± 1 °C

• AOAC método oficial 991.34
Incubar 24 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C

• NMK método 147.1993
Incubar 24 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C

• AFNOR métodos validados 3M 01/2-09 89A y B
(todos los alimentos, excepto marinos)
Incubar 24 h ± 2 h a 30 °C ± 1 °C

Para coliformes termotolerantes (fecales), el método más conocido es:

• AFNOR método validado 3M 01/2-09/89C
Incubar 24 h ± 2 h a 44 °C ± 1 °C

La incubadora debe ser humedecida a estas altas temperaturas.

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli* / Coliformes Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA, GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

ANEXO 8

Interpretación de los resultados

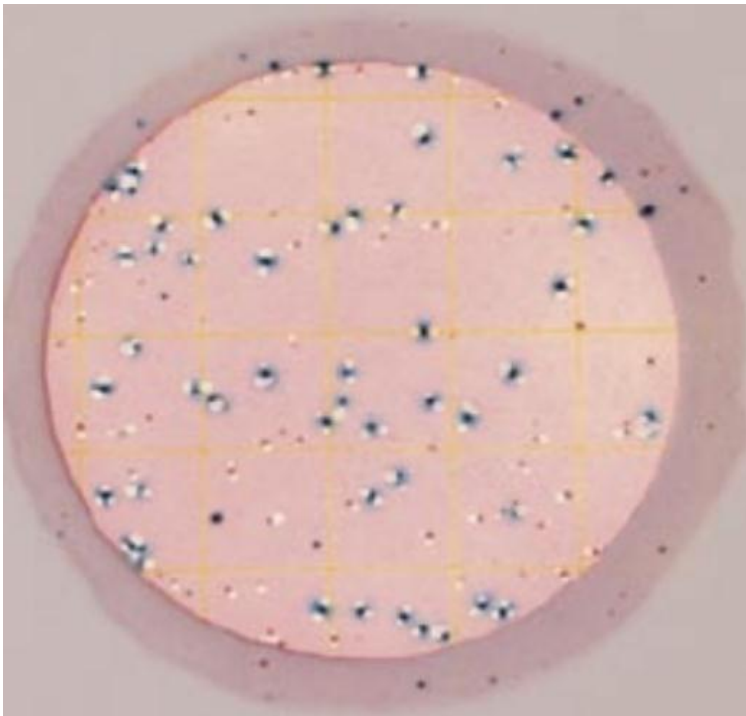


Figura 1: *Escherichia coli*: colonias azules con gas.
Coliformes Totales: colonias rojas con gas.

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

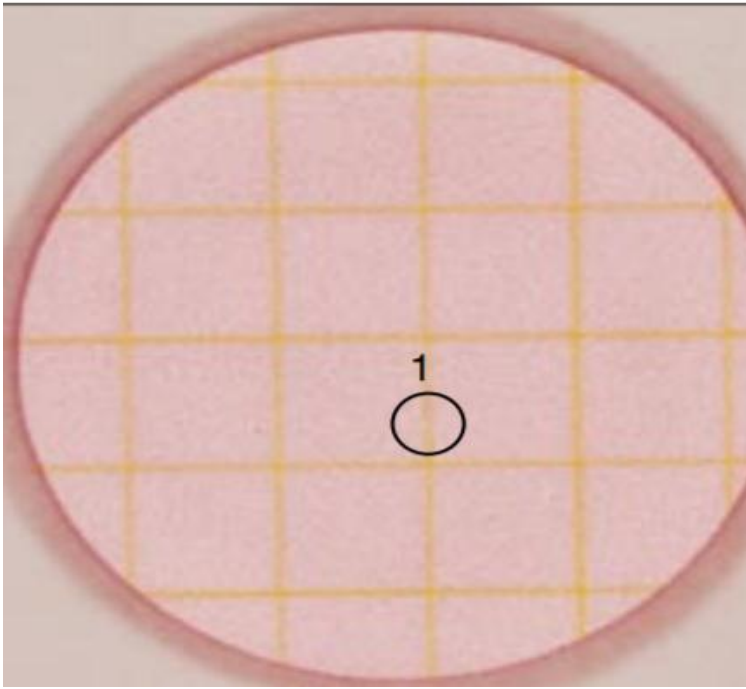


Figura 2: Sin crecimiento

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

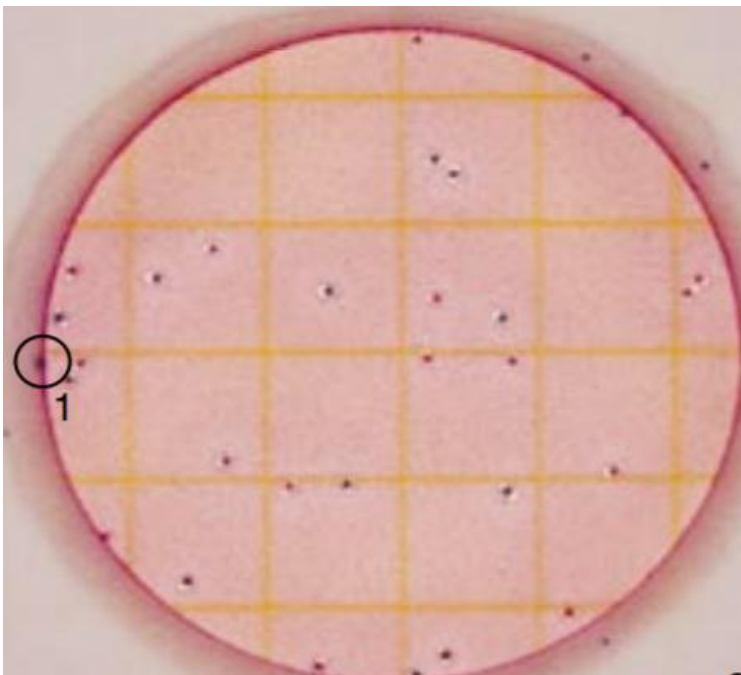


Figura 3: No se cuenta las colonias que aparecen sobre la línea de espuma

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

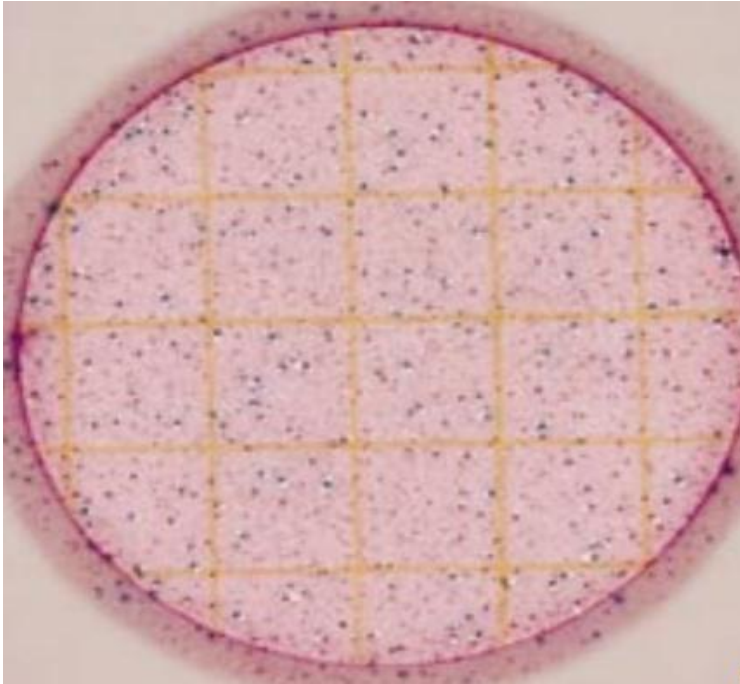


Figura 4: Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

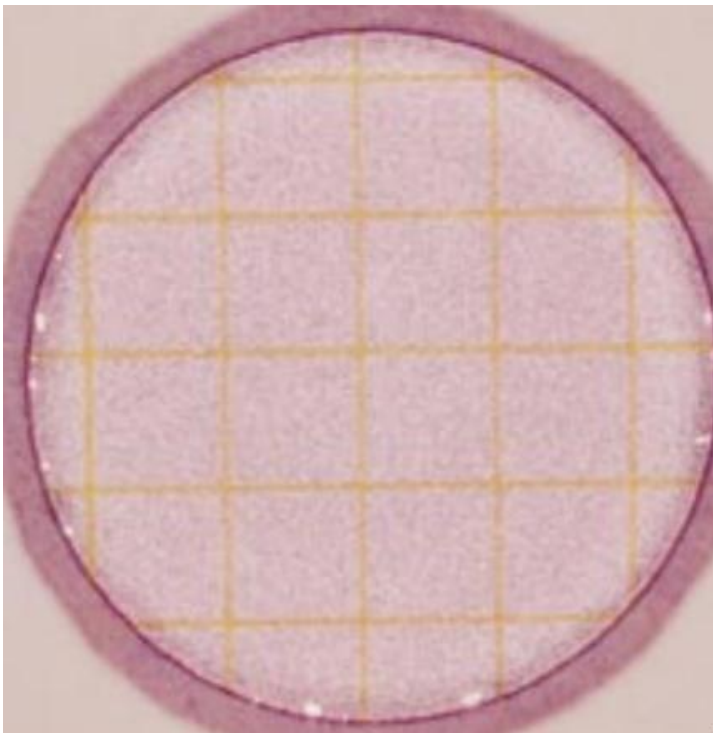


Figura 5: Una alta concentración de *Escherichia coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

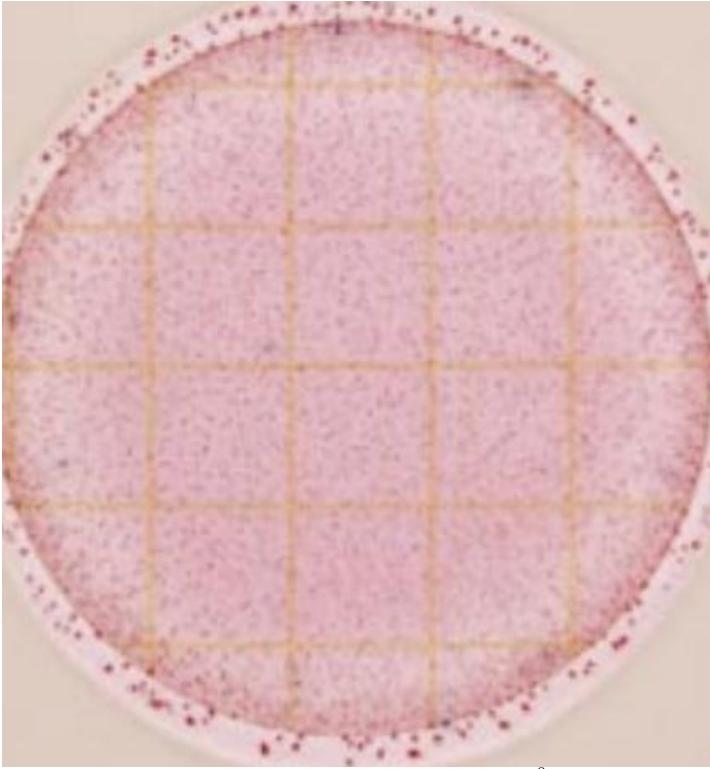


Figura 6: Cuando existen cifras altas de coliformes (10^8), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuente todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *Escherichia coli*. Si es necesaria la confirmación, aislé las colonias azules con gas para su posterior identificación

Fuente: Guía de interpretación placas Petrifilm.

ANEXO 9

Datos de recolección de las muestras de lechugas en cuatro mercados de la ciudad de Loja.

Primera Recolección.

Código de la muestra	Nombre del mercado	Fecha de toma de la muestra	Hora de toma de las muestra	Peso de las muestra en gramos	Hora de siembra	Fecha de lectura de Coliformes Totales	Fecha de lectura de <i>Escherichia coli</i>
A1-A10	Mercado Centro Comercial Loja	Martes 14/11/2017	08:00 Am 08:45 Am	150 g,174 g 178 g,185 g >200 g	10: 00 Am 10:30 Am	Miércoles 15/11/2017	Jueves 16/11/2017
B1- B10	Mercado San Sebastián	Lunes 20/11/2017	08:00 Am 08:45 Am	130 g,134 g 147 g,184 g >200 g	10: 00 Am 10:36 Am	Martes 21/11/2017	Miércoles 22/11/2017
C1-C10	Mercado Mayorista Gran Colombia	Martes 21/11/2017	08:00 Am 08:45 Am	120g, 167g 168 g,174 g >200g	10: 00 Am 10:25 Am	Miércoles 22/11/2017	Jueves 23/11/2017
D1- D10	Mercado pequeño Productor las Pitas	Lunes 04/12/2017	08:00 Am 08:45 Am	135g, 147 g 150 g 165g, 180 g, >200g	10: 00 Am 10:40 Am	Martes 05/12/2017	Miércoles 06/12/2017

Segunda recolección

Código de la muestra	Nombre del mercado	Fecha de toma de la muestra	Hora de toma de la muestra	Peso de la muestra en gramos	Hora de siembra	Fecha de lectura de Coliformes Totales	Fecha de lectura de <i>Escherichia coli</i>
A11- A20	Mercado Centro Comercial Loja	Martes 05/12/2017	08:00 Am 08:45 Am	124g,154g >200 g	10: 00 Am 10: 30 Am	Miércoles 06/12/2017	Jueves 07/12/2017
B11- B20	Mercado San Sebastián	Lunes 11/12/2017	08:00 Am 08:45 Am	124g,130g 153g,176g >200 g	10: 00 Am 10: 36 Am	Martes 12/12/2017	Miércoles 13/12/2017
C11- C20	Mercado Mayorista Gran Colombia	Lunes 08/01/2018	08:00 Am 08:45 Am	145g,169g 180g , >200 g	10: 00 Am 10: 25 Am	Martes 09/01/2018	Miércoles 10/01/2018
D11- D20	Mercado pequeño productor Las Pitas.	Martes 09/01/2018	08:00 Am 08:45 Am	127g,135g 170g,183g >200 g	10: 00 Am 10: 35 Am	Miércoles 10/01/2018	Jueves 11/01/2018

ANEXO 10

a. Resultados de la contaminación microbiológica por Coliformes Totales en muestras de lechuga recolectadas en mercados de la ciudad de Loja

Código de la muestra	Procedencia	Recuento de Coliformes Totales	Promedio de recuento de Coliformes totales (UFC/g)
A1	Mercado Centro Comercial Loja	94 colonias.	9.4×10^2 UFC/g
A2	Mercado Centro Comercial Loja	172 colonias	1.7×10^3 UFC/g
A3	Mercado Centro Comercial Loja	MNPC	MNPC
A4	Mercado Centro Comercial Loja	15 colonias	1.5×10^2 UFC/g
A5	Mercado Centro Comercial Loja	43 colonias	4.3×10^2 UFC/g
A6	Mercado Centro Comercial Loja	40 colonias	4.0×10^2 UFC/g
A7	Mercado Centro Comercial Loja	120 colonias	1.2×10^3 UFC/g
A8	Mercado Centro Comercial Loja	53 colonias	5.3×10^2 UFC/g
A9	Mercado Centro Comercial Loja	12 colonias	1.2×10^2 UFC/g
A10	Mercado Centro Comercial Loja	21 colonias	2.1×10^2 UFC/g
A11	Mercado Centro Comercial Loja	43 colonias.	4.3×10^2 UFC/g
A12	Mercado Centro Comercial Loja	150 colonias	1.5×10^3 UFC/g
A13	Mercado Centro Comercial Loja	18 colonias	1.8×10^2 UFC/g

A continuación:

A14	Mercado Centro Comercial Loja	38 colonias	3.8×10^2 UFC/g
A15	Mercado Centro Comercial Loja	54 colonias	5.4×10^2 UFC/g
A16	Mercado Centro Comercial Loja	53 colonias	5.3×10^2 UFC/g
A17	Mercado Centro Comercial Loja	31 colonias	3.1×10^2 UFC/g
A18	Mercado Centro Comercial Loja	16 colonias	1.6×10^2 UFC/g
A19	Mercado Centro Comercial Loja	7 colonias	7.0×10^1 UFC/g
A20	Mercado Centro Comercial Loja	24 colonias	1.4×10^2 UFC/g 1.5
B1	Mercado San Sebastián	33 colonias	3.3×10^2 UFC/g
B2	Mercado San Sebastián	190 colonias	1.9×10^3 UFC/g
B3	Mercado San Sebastián	6 colonias	6.0×10^1 UFC/g
B4	Mercado San Sebastián	7 colonias	7.0×10^1 UFC/g
B5	Mercado San Sebastián	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
B6	Mercado San Sebastián	37 colonias	3.7×10^2 UFC/g
B7	Mercado San Sebastián	63 colonias	6.3×10^2 UFC/g
B8	Mercado San Sebastián	210 colonias	2.1×10^3 UFC/g
B9	Mercado San Sebastián	84 colonias	8.4×10^2 UFC/g

A continuación:

B10	Mercado San Sebastián	130 colonias	1.3×10^3 UFC/g
B11	Mercado San Sebastián	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
B12	Mercado San Sebastián	22 colonias	2.2×10^2 UFC/g
B13	Mercado San Sebastián	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
B14	Mercado San Sebastián	13 colonias	1.3×10^1 UFC/g
B15	Mercado San Sebastián	125 colonias	1.2×10^3 UFC/g
B16	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B17	Mercado San Sebastián	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
B18	Mercado San Sebastián	27 colonias	2.7×10^2 UFC/g
B19	Mercado San Sebastián	11 colonias	1.1×10^2 UFC/g
B20	Mercado San Sebastián	185 colonias	1.8×10^3 UFC/g
C1	Mercado mayorista Gran Colombia	MNPC colonias	2.0×10^3 UFC/g
C2	Mercado mayorista Gran Colombia	180 colonias	1.8×10^3 UFC/g
C3	Mercado mayorista Gran Colombia	10 colonias	1.0×10^2 UFC/g
C4	Mercado mayorista Gran Colombia	10 colonias	1.0×10^2 UFC/g
C5	Mercado mayorista Gran Colombia	100 colonias	1.0×10^3 UFC/g

A continuación:

C6	Mercado mayorista Gran Colombia	90 colonias	9.0×10^2 UFC/g
C7	Mercado mayorista Gran Colombia	80 colonias	8.0×10^2 UFC/g
C8	Mercado mayorista Gran Colombia	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
C9	Mercado mayorista Gran Colombia	6 colonias	6.0×10^1 UFC/g
C10	Mercado mayorista Gran Colombia	20 colonias	2.0×10^2 UFC/g
C11	Mercado mayorista Gran Colombia	11 colonias	1.1×10^2 UFC/g
C12	Mercado mayorista Gran Colombia	25 colonias	2.5×10^2 UFC/g
C13	Mercado mayorista Gran Colombia	30 colonias	3.0×10^2 UFC/g
C14	Mercado mayorista Gran Colombia	42 colonias	4.2×10^2 UFC/g
C15	Mercado mayorista Gran Colombia	15 colonias	1.5×10^2 UFC/g
C16	Mercado mayorista Gran Colombia	27 colonias	2.7×10^2 UFC/g
C17	Mercado mayorista Gran Colombia	MNPC	MNPC
C18	Mercado mayorista Gran Colombia	67 colonias	6.7×10^2 UFC/g
C19	Mercado mayorista Gran Colombia	25 colonias	2.5×10^2 UFC/g
C20	Mercado mayorista Gran Colombia	70 colonias	7.0×10^2 UFC/g
D1	Mercado pequeño productor Las Pitas.	50 colonias	5.0×10^2 UFC/g

A continuación:

D2	Mercado pequeño productor Las Pitas.	33 colonias	3.3×10^2 UFC/g
D3	Mercado pequeño productor Las Pitas.	27 colonias	2.7×10^2 UFC/g
D4	Mercado pequeño productor Las Pitas.	12 colonias	1.2×10^2 UFC/g
D5	Mercado pequeño productor Las Pitas.	27 colonias	2.7×10^2 UFC/g
D6	Mercado pequeño productor Las Pitas.	8 colonias	8.0×10^1 UFC/g
D7	Mercado pequeño productor Las Pitas.	270 colonias	2.7×10^3 UFC/g
D8	Mercado pequeño productor Las Pitas.	180 colonias	1.8×10^3 UFC/g
D9	Mercado pequeño productor Las Pitas.	15 colonias	1.5×10^2 UFC/g
D10	Mercado pequeño productor Las Pitas.	7 colonias	7.0×10^1 UFC/g
D11	Mercado pequeño productor Las Pitas.	22 colonias	2.2×10^2 UFC/g
D12	Mercado pequeño productor Las Pitas.	MNPC colonias	2.5×10^3 UFC/g
D13	Mercado pequeño productor Las Pitas.	33 colonias	3.3×10^2 UFC/g
D14	Mercado pequeño productor Las Pitas.	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
D15	Mercado pequeño productor Las Pitas.	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
D16	Mercado pequeño productor Las Pitas.	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
D17	Mercado pequeño productor Las Pitas.	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g

A continuación:

D18	Mercado pequeño productor Las Pitás.	11 colonias	1.1×10^2 UFC/g
D19	Mercado pequeño productor Las Pitás.	28 colonias	2.8×10^2 UFC/g
D20	Mercado pequeño productor Las Pitás.	7 colonias	7×10^1 UFC/g

b. Resultados de la contaminación microbiológica por *Escherichia coli* en muestras de lechuga recolectadas en mercados de la ciudad de Loja

Código de la muestra	Procedencia	Recuento de <i>Escherichia coli</i>	Promedio de recuento de <i>Escherichia coli</i> (UFC/g)
A1	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A2	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A3	Mercado Centro Comercial Loja	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
A4	Mercado Centro Comercial Loja	7 colonias	7.0×10^1 UFC/g
A5	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A6	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A7	Mercado Centro Comercial Loja	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
A8	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A9	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g

A continuación:

A10	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A11	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A12	Mercado Centro Comercial Loja	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
A13	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A14	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A15	Mercado Centro Comercial Loja	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
A16	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A17	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A18	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A19	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
A20	Mercado Centro Comercial Loja	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B1	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B2	Mercado San Sebastián	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
B3	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B4	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B5	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g

A continuación:

B6	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B7	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B8	Mercado San Sebastián	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
B9	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B10	Mercado San Sebastián	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
B11	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B12	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B13	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B14	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B15	Mercado San Sebastián	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
B16	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B17	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B18	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B19	Mercado San Sebastián	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
B20	Mercado San Sebastián	7 colonias	7.0×10^1 UFC/g
C1	Mercado mayorista Gran Colombia	20 colonias	2.0×10^2 UFC/g

A continuación:

C2	Mercado mayorista Gran Colombia	1 colonias	1.0×10^1 UFC/g
C3	Mercado mayorista Gran Colombia	4 colonias	4.0×10^1 UFC/g
C4	Mercado mayorista Gran Colombia	13 colonias	1.3×10^2 UFC/g
C5	Mercado mayorista Gran Colombia	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
C6	Mercado mayorista Gran Colombia	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
C7	Mercado mayorista Gran Colombia	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
C8	Mercado mayorista Gran Colombia	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
C9	Mercado mayorista Gran Colombia	1 colonias	1.0×10^1 UFC/g
C10	Mercado mayorista Gran Colombia	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
C11	Mercado mayorista Gran Colombia	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
C12	Mercado mayorista Gran Colombia	1 colonias	1.0×10^1 UFC/g
C13	Mercado mayorista Gran Colombia	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
C14	Mercado mayorista Gran Colombia	3 colonias	3.0×10^1 UFC/g
C15	Mercado mayorista Gran Colombia	MNPC	MNPC
C16	Mercado mayorista Gran Colombia	4 colonias	4.0×10^1 UFC/g
C17	Mercado mayorista Gran Colombia	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g

A continuación:

C18	Mercado mayorista Gran Colombia	MNPC	MNPC
C19	Mercado mayorista Gran Colombia	19 colonias	1.9×10^2 UFC/g
C20	Mercado mayorista Gran Colombia	1 colonias	1.0×10^1 UFC/g
D1	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D2	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D3	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D4	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D5	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D6	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D7	Mercado pequeño productor Las Pitas.	4 colonias	4.0×10^1 UFC/g
D8	Mercado pequeño productor Las Pitas.	2 colonias	2.0×10^1 UFC/g
D9	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D10	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D11	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D12	Mercado pequeño productor Las Pitas.	5 colonias	5.0×10^1 UFC/g
D13	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g

A continuación:

D14	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D15	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D16	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D17	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D18	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g
D19	Mercado pequeño productor Las Pitas.	1 colonias	1.0×10^1 UFC/g
D20	Mercado pequeño productor Las Pitas.	0 colonias	$<1.0 \times 10^1$ UFC/g

ANEXO 11



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Nikolay Aguirre, Ph.D.
**DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

CERTIFICA:

Que la **Srta. Erika Johanna Mejía Rogel**, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, realizó el muestreo de la Tesis denominada: **Determinación de Coliformes Totales, Escherichia Coli en muestras de lechugas expeditas en mercados de la ciudad de Loja** durante los meses de noviembre y diciembre de 2017 y enero de 2018, actividades cumplidas en el laboratorio de Análisis Químico.

Lo certifico en honor a la verdad.

Loja, 28 de marzo de 2018


Nikolay Aguirre, Ph.D.
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN UNL



ANEXO 12

Ing. María Belén Novillo Sánchez
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.



CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis titulada "DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES, ESCHERICHIA COLI EN MUESTRAS DE LECHUGA EXPANDIDAS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA" autoría de la Srta. Erika Johanna Mejía Rogel con cédula 1105128704, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifica en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 20 de Julio de 2018



Ing. María Belén Novillo Sánchez
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.

Líderes en la Enseñanza del Inglés

Fine-Tuned English Cía. Ltda. | Teléfono 2578899 | Email venalfine@finetunedenglish.edu.ec | www.finetunedenglish.edu.ec

LOJA: Fine-Tuned English, Macará entre Miguel Riofrío y Rocafuerte. 2578899, 2563224, 2574702
ZAMORA: Fine-Tuned Zamora, García Moreno y Pasaje 12 de Febrero. Teléfono: 2608169
CATAMAYO: Fine-Tuned Catamayo, Av. 24 de Mayo 08-21 y Juan Montalvo. Teléfono: 2678442

