



Original

DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI EN BEBIDAS DE FRUTAS MIXTAS NO PASTEURIZADAS COMERCIALIZADAS EN ESTABLECIMIENTOS ESPECIALIZADOS EN SAN RAMÓN, ALAJUELA.

Determination of Escherichia coli in non-pasteurized mixed fruit drinks sold in specialized establishments in San Ramon, Alajuela

Sharon Miranda Chavarría¹

(1) Msc. Nutrición y biotecnología alimentaria. Email: sharonmcha@hotmail.com

Recibido: julio de 2015 | Aceptado: agosto de 2016

RESUMEN

La presencia de Escherichia coli en bebidas de frutas mixtas indica que las mismas tienen contaminación fecal, la cual puede provenir de las mismas frutas, el agua para la elaboración de los batidos o las manos del manipulador.

El objetivo de la investigación fue determinar la presencia o ausencia de Escherichia coli en las bebidas de frutas mixtas no pasteurizadas comercializadas en establecimientos especializados en San Ramón de Alajuela.

Para la investigación se analizaron seis bebidas mediante el método del número más probable, en donde un resultado <3 NMP/g representa la ausencia de E. coli. Se utilizó el caldo lauril sulfato, en el cual la aparición de gas y turbidez indica la presencia de coliformes totales; seguido del caldo EC, en donde igualmente el gas y la turbidez, pero a mayor temperatura, señala la existencia de coliformes fecales.

Todas las bebidas dieron un resultado negativo para coliformes fecales, por lo tanto no presentan contaminación fecal y por ende, E. coli. Sin embargo, hubo crecimiento de coliformes totales ambientales, quienes son parte de la flora normal de las frutas. Para reducirlos, se recomienda aplicar una desinfección a las frutas después del lavado.

Palabras clave: Intoxicaciones alimentarias, E. coli, Bebidas.

ABSTRACT

The presence of Escherichia coli in mixed fruits beverages indicates that they have fecal contamination, which could come from the fruits themselves, the water for making the beverages, or the hands of the food handler.

The objective of the investigation was to determine the presence or absence of Escherichia coli in the mixed non-pasteurized fruit beverages sold in specialized stores in San Ramón, Alajuela.

Six beverages were analyzed according to the most probable number, where a result of <3 MPN/g represents the absence of E. coli. Lauryl sulfate broth was used, in which the appearance of gas and turbidity indicates the presence of total coliforms; this was followed by EC broth, in which gas and turbidity also point to the existence of fecal coliforms, but at higher temperature.

All the beverages had a negative result for fecal coliforms; therefore, they did not have fecal contamination, nor E.coli. However, they had total coliform growth, which is part of the fruits' normal flora. To reduce them, it is recommended to apply disinfection to the fruits after they are washed.

Keywords: Beverage, Foodborne disease, E. coli.



INTRODUCCIÓN

Las bebidas de frutas mixtas no pasteurizadas o batidos están elaboradas con dos o más frutas diferentes trituradas, agua y/o hielo y, opcionalmente, azúcar. En Costa Rica, el consumo de estas bebidas ha aumentado considerablemente desde hace pocos años debido a la presencia de gran cantidad de pequeños negocios que se dedican únicamente a la venta de este producto.

Estas bebidas al ser altamente manipuladas podrían presentar contaminación fecal y con ello, enfermar al consumidor. Dicha contaminación puede provenir de las frutas, de la preparación de los batidos con agua o hielo contaminados, o de las malas prácticas de higiene del manipulador. Al contener agua, nutrientes y no estar pasteurizadas son el medio ideal para el crecimiento de microorganismos.

Escherichia coli, también conocida como *E. coli*, es una bacteria que pertenece al género de las enterobacterias y al grupo de los coliformes fecales. Más específicamente, es una bacteria gram negativa de forma de bastón, que se dispone en forma de racimos, no forma esporas, es aerobia y anaerobia facultativa y reduce los nitratos a nitritos. Su crecimiento se puede dar en un rango de pH de 4.4 a 8.8 y a una temperatura desde los 9 °C hasta los 45 °C. Se encuentra especialmente en el intestino de los seres humanos y en el de los animales como la res.

La *E. coli* fermenta la lactosa produciendo indol, lo que la diferencia de otras bacterias. Sobrevive a las temperaturas de refrigeración y es bastante tolerante a

la sal, la sequedad y la acidez, siendo más sensible al calor (1).

Su resistencia a la acidez ha sido investigada en estudios como el de Kanjee y Houry (2). Cuando la *E. coli* se enfrenta a un estrés por acidez, su membrana exterior se daña debido a que es la que se encuentra en contacto directo con el medio. Por esta razón, la bacteria sufre adaptaciones físicas, que incluyen un cambio en la composición de sus membranas mediante una disminución en su fluidez y permeabilidad. Esto se logra a causa de una reducción en los ácidos grasos insaturados y aumentando la concentración del ácido graso ciclopropano (2). Esta resistencia a la acidez es la que hace posible que la *E. coli* pueda sobrevivir en bebidas de frutas ácidas. Por ejemplo, en la investigación llevada a cabo por Rai et al (3), de 30 muestras de jugos de naranja y zanahoria el 20% presentaron *E. coli*. Estos jugos tenían un pH que oscilaba entre 4,34-5,89. También se ha observado la supervivencia de la bacteria en sidra de manzana a un pH de 4 y temperatura de 8 °C durante 31 días (4).

Como se mencionó anteriormente, la *E. coli* puede vivir en refrigeración. En este sentido, se ha observado su supervivencia en mangos, papayas y manzanas refrigeradas hasta por un mes, así como en frutas congeladas y cortadas hasta por 180 días (4). Se ha reportado también que la *E. coli* enterohemorrágica puede sobrevivir hasta 120 horas en jugos de frutas tropicales, tanto a temperatura ambiente como en refrigeración (4).

La FAO menciona que “debido a su alta presencia en el intestino, la *E. coli*



CARACTERIZACIÓN DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL EN EL ÁREA DE SALUD HEREDIA CUBUJUQUÍ DEL 2008 AL 2012

se utiliza como el indicador principal para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad del agua y de los alimentos” (5). Al respecto, cuanto mayor es la cantidad de bacterias *E. coli* en el alimento, mayor es la contaminación fecal. Además, la presencia de la bacteria no significa una contaminación fecal reciente, sino que esta se dio en cualquier etapa de la producción del alimento.

En los alimentos, las infecciones se han relacionado más comúnmente con productos lácteos y jugos no pasteurizados, carne manipulada y cocinada insuficientemente, frutas, embutidos fermentados, agua contaminada y vegetales crudos como la espinaca y lechuga.

El propósito de la investigación es identificar la calidad microbiológica de estas bebidas, específicamente la ausencia o presencia de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal; y para reconocer, indirectamente, si los manipuladores de alimentos aplican sus conocimientos sobre buenas prácticas de higiene.

MÉTODOS

Para el estudio el muestreo fue no probabilístico de tipo intencional, ya que las muestras no se eligieron al azar, sino de acuerdo al criterio de la investigadora.

En el cantón de San Ramón, distrito central, existen seis establecimientos especializados en la venta de bebidas de frutas mixtas no pasteurizadas. Por ello, se tomó una muestra de cada establecimiento seleccionando la mayor variedad de frutas posible. En total se tomaron seis muestras, las cuales se caracterizan en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de las muestras.

Muestra	Composición
#1	Banano, fresa, mango
#2	Limón, naranja, piña
#3	Sandía, fresa, melocotón
#4	Sandía, fresa, limón
#5	Mango, banano, papaya
#6	Fresa, guanábana, banano

Fuente: Elaboración propia.

Para la recolección de las muestras se lavó y desinfectó con cloro la hielera en la cual se iban a transportar las bebidas. Seguidamente, se llenó la hielera con 3,5 kg de hielo en cubos. Se visitó cada establecimiento especializado en la venta de bebidas de frutas mixtas en la ciudad de San Ramón. Cada muestra se compró en su envase original de 500 mL e inmediatamente se llevó a la hielera, tratando de cubrir el envase completamente con hielo.

Una vez recolectadas todas las muestras estas se llevaron hasta la ciudad de San José, ya que es allí donde se encuentra el laboratorio. Cuando se llegó al mismo (alrededor de 2 horas después), se sacaron las muestras de la hielera y se les tomó la temperatura con un termómetro infrarrojo.

Posteriormente se tomó la muestra #1, se desinfectó la tapa con alcohol y se secó con una toalla de papel desechable. Sobre la balanza se colocó un recipiente plástico y dentro de él una bolsa estéril. El envase se abrió, se agitó la bebida con una pipeta desechable de 10 mL y con la misma se tomó una alícuota de 10 mL, la cual se depositó dentro de la bolsa estéril. La balanza se taró y se agregó buffer fosfato en la bolsa hasta alcanzar 90 g.

Seguidamente, la bolsa se cerró y se llevó a agitar al stomacher durante dos minutos, con el objetivo de homogenizar la mezcla y los microorganismos. Los restantes 490 mL de bebida se depositaron en una bolsa estéril y se les midió el pH mediante un pH-metro portátil. Luego la bolsa se cerró y se almacenó en refrigeración.

Después del homogenizado en el stomacher, se tomó con una micropipeta desechable 1 mL de la mezcla y se agregó a 9 mL de caldo lauril sulfato, que se encontraba en un tubo de ensayo de vidrio con campana Durham; luego se tapó el tubo. Esto se hizo así para 3 tubos, y así se obtuvieron las diluciones de 10-1.

A continuación, se tomó 1 mL de la mezcla (bebida más buffer fosfato) y se agregó a un tubo de ensayo de vidrio con 9 mL de buffer fosfato. Esto se agitó en un vórtex para homogenizar la nueva mezcla y así se obtuvo la dilución de 10-2. Se tomaron otros 3 tubos con caldo lauril sulfato y campana Durham, se depositó en cada uno 1 mL de la dilución 10-2 con uso de una micropipeta desechable, y se taparon. De la última mezcla realizada (mezcla original más 9 mL de buffer fosfato), se tomó 1 mL y se depositó dentro de otro tubo de ensayo con 9 mL de buffer fosfato, se agitó en el vórtex y así se obtuvo la dilución 10-3. Se tomaron otros 3 tubos con caldo lauril sulfato y campana Durham, en cada uno se colocó 1 mL de la muestra anterior con una micropipeta desechable y se taparon.

El procedimiento anterior se llevó a cabo con cada muestra, que eran seis en total. En seguida se llevaron todos

los tubos (9 de cada muestra) a la incubadora a una temperatura de 35 °C por 48 horas.

Pasados los dos días, se observó con detenimiento cada tubo y para aquellos que produjeron gas se empezó un nuevo procedimiento. Se agitó cada tubo en el vórtex, y con una micropipeta desechable se tomaron 50 µL de cada uno y se depositaron en tubos con 6,5 mL de caldo E.C y campana Durham. Los tubos se llevaron al baño María por 24 horas a 44,5 °C. Un día después, se observó cada tubo para detectar si tenían producción de gases.

RESULTADOS

En las figuras 1 y 2 se detallan los resultados de la medición de temperatura y pH de las muestras. Para el procesamiento de las muestras se utilizó primero el caldo lauril sulfato mediante la dilución seriada. Cada dilución estuvo conformada por 3 tubos, entendiéndose un resultado positivo como la formación de gas, el cual se observó dentro de las campanas Durham, así como presencia de turbidez en el caldo; y un resultado negativo como la ausencia de gas y turbidez. En la tabla 2 se detallan los resultados de cada muestra y dilución.

Los tubos positivos en la prueba anterior se sometieron a la prueba con caldo E.C. Al respecto, se interpreta un resultado positivo como la producción de gas y un resultado negativo como la ausencia de este. Los datos obtenidos se anotan en la tabla 3.

En resumen, todos los tubos a los que se les realizó la prueba en caldo E.C dieron un resultado negativo.



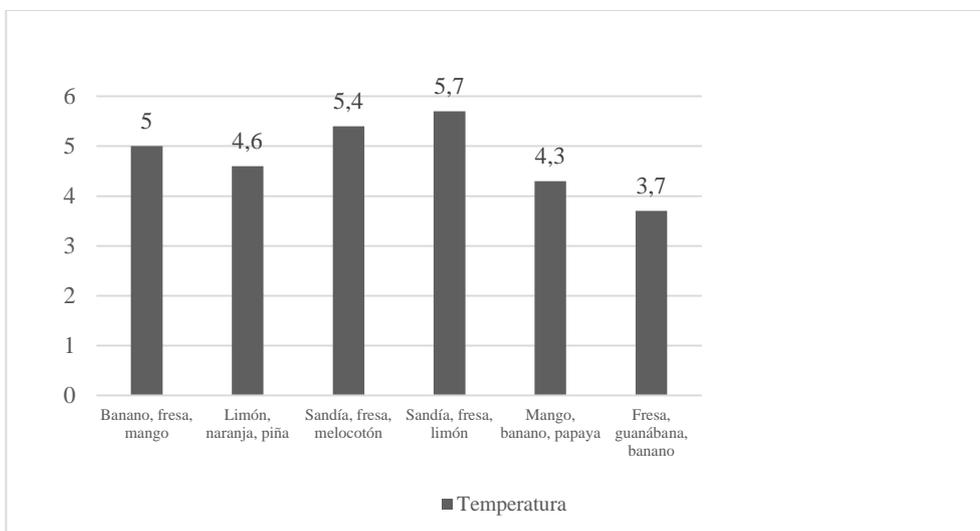


Figura 1. Temperaturas de las muestras.
Fuente: *Elaboración propia.*

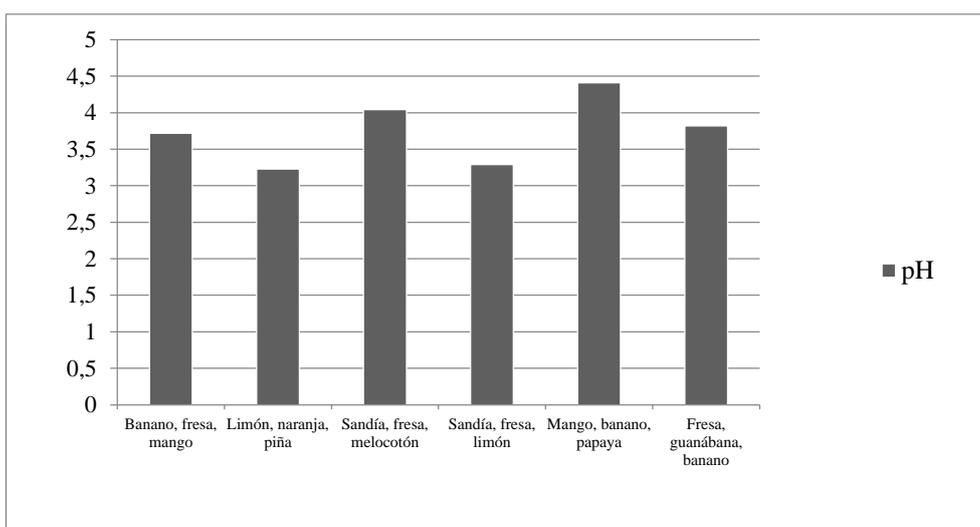


Figura 2. pH de las muestras.
Fuente: *Elaboración propia.*

DISCUSIÓN

Como se distingue en la figura 1, la temperatura de las bebidas a la llegada al laboratorio se encontró en un rango de 3,7 a 5,7 °C, lo que corresponde a una temperatura de refrigeración. La diferencia en las temperaturas puede deberse a una distribución no

homogénea del hielo que rodeaba cada envase.

Todas las bebidas de frutas presentaron un pH ácido que se encontró entre 3,23 y 4,41. La bebida de mayor acidez fue la compuesta por limón, naranja y piña, lo cual se debe a la gran cantidad de ácido cítrico que

contienen las tres frutas. La bebida de menor acidez fue la de mango, banano y papaya, ya que las tres son frutas mucho más dulces y con menor contenido de ácidos totales. Para la presente investigación se utilizó la técnica del número más

probable (NMP), ya que como mencionan Bartram y Pedley (6), “es el único procedimiento que puede ser utilizado si las muestras de agua son muy turbias”. En este caso, las muestras son un líquido turbio, debido a la presencia de la pulpa de las frutas.

Tabla 2. Cantidad de tubos positivos, por serie, de cada muestra.

Bebida	Serie 10 ⁻¹	Serie 10 ⁻²	Serie 10 ⁻³
Banano, fresa, mango	0	1	0
Limón, naranja, piña	2	1	0
Sandía, fresa, melocotón	3	2	0
Sandía, fresa, limón	0	1	0
Mango, banano, papaya	3	2	0
Fresa, guanábana, banano	3	3	2

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3. Resultados por tube en caldo E.C.

Bebida	Serie 10-1			Serie 10-2			Serie 10-3		
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3
Banano, fresa, mango	N/A	N/A	N/A	Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Limón, naranja, piña	Negativo	Negativo	N/A	Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Sandía, fresa, melocotón	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A
Sandía, fresa, limón	N/A	N/A	N/A	Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Mango, banano, papaya	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A
Fresa, guanábana, banano	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	N/A	N/A

N/A (no aplica)= tubos con resultado negativo en la prueba con caldo lauril sulfato

Fuente: Elaboración propia.

El NMP es de utilidad especialmente cuando la cantidad de microorganismos en la muestra es reducida. La misma se basa en el

enriquecimiento de la muestra con un caldo de crecimiento, el cuál favorecerá el desarrollo de ciertos microorganismos, en este caso

CARACTERIZACIÓN DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL EN EL ÁREA DE SALUD HEREDIA CUBUJUQUÍ DEL 2008 AL 2012

Escherichia coli, el cual se distingue por la producción de gas y la aparición de turbidez.

El primer caldo utilizado fue el lauril sulfato, que es específico para los coliformes totales ya que contiene lauril sulfato de sodio que inhibe el crecimiento de otros microorganismos, y lactosa que lleva a la producción de gas debido a que es el carbohidrato fermentable por los coliformes. Como se observa en la tabla 2, en todas las bebidas de frutas mixtas hubo crecimiento de coliformes totales, siendo la bebida de fresa, guanábana y banano la que presentó una mayor cantidad de tubos positivos, con un total de 8.

En el caso de las bebidas de banano, fresa y mango, y de sandía, fresa y limón se observa que únicamente hubo crecimiento en un tubo de la serie 10-2. Al respecto, aunque la serie 10-1 contiene mayor cantidad de muestra y haya otros dos tubos idénticos (10-2), el único tubo positivo se debe a que por azar, fue este el que recibió una célula bacteriana.

De las seis muestras, cinco no presentaron crecimiento en los tubos 10-3, esto se debe a que es la serie más diluida y por tanto es más difícil que se hayan tomado bacterias con la alícuota.

El segundo caldo utilizado fue el EC, en el cual se incubaron alícuotas de los tubos que dieron positivo en el caldo lauril sulfato. El caldo EC contiene sales biliares que evitan el crecimiento de bacterias Gram positivas y lactosa, que es el carbohidrato fermentable.

Los tubos en caldo EC se incuban a una temperatura de 44,5 °C para que

sea específica para coliformes fecales, quienes producen gas y turbidez a partir de la fermentación de la lactosa. Sin embargo, como se anota en la tabla 3, todos los tubos incubados en caldo EC dieron un resultado negativo, determinado por una ausencia de gas, por lo que ninguna bebida está contaminada con coliformes fecales y por ende, con *Escherichia coli*.

En este sentido, las bebidas de frutas mixtas analizadas contienen coliformes totales ambientales, pero no coliformes fecales. Por lo tanto, la presencia de los coliformes totales en las bebidas proviene del ambiente: suelo, aire, superficies de trabajo y las mismas frutas, como parte de su microflora natural.

Acorde al Reglamento Técnico Centroamericano sobre Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos (7), las bebidas de frutas no pasteurizadas tienen un límite máximo permitido de <3 NMP/g de muestra, lo que de acuerdo a la tabla del NMP se define como ningún tubo positivo en el análisis. Debido a que en la investigación ningún tubo dio positivo para *Escherichia coli*, se demuestra que todas las bebidas analizadas se encuentran libres de *E. coli*.

La existencia de coliformes totales en los batidos no indica contaminación ni amenaza a la salud del consumidor, ya que estos forman parte de la flora normal de un alimento no pasteurizado, así como de la piel y cáscara de las frutas. Para reducir la cantidad presente, además de aplicar un lavado más intenso a las frutas, puede seguirse con una desinfección con algún agente desinfectante apto

para alimentos, como el cloro. Debido a que los coliformes totales pueden encontrarse también en las superficies y utensilios de trabajo, debe asegurarse el correcto saneamiento de los mismos.

Los resultados obtenidos de la presente investigación son contrarios a los derivados en otras investigaciones sobre el mismo tipo de productos. En el estudio llevado a cabo por Olorunjuwon, Temitope, Muibat y Afolabi (8), de un total de 120 muestras, el 6% presentó *E. coli*. Sin embargo, en este estudio el muestreo fue mucho más amplio, se buscaron otros microorganismos y se utilizó la técnica de placas. Además, se determinó que solo un 45,83% de los manipuladores tenían entrenamiento en buenas prácticas higiénicas en la manipulación de los alimentos. Caso contrario es en Costa Rica, en donde el 100% de los manipuladores debe tener conocimientos sobre el tema, ya que es un requisito para poder laborar en los establecimientos de venta y elaboración de alimentos.

En la investigación elaborada por Castellón y Torres (9) en El Salvador, de 24 muestras analizadas mediante el NMP el 100% tubo presencia de *E. coli*. Finalmente, en el estudio llevado a cabo por Cacay y Torres (10), de 12 bebidas analizadas mediante el NMP, 8 presentaron coliformes totales y solo 2 tuvieron crecimiento de coliformes fecales.

Con estos datos se demuestra que la *E. coli* puede crecer en las bebidas de frutas mixtas a pesar de la acidez que suelen tener, sin embargo en la presente investigación la ausencia de la bacteria se puede deber a la calidad

microbiológica del agua que se emplea para lavar las frutas y elaborar los batidos, así como a las buenas prácticas higiénicas de los manipuladores durante la elaboración de las bebidas.

Referencias

1. Davis J.G, Kendall P. Preventing *E. coli* from garden to plate [Internet]. Estados Unidos: Colorado State University; (2012) [consultado 12 febrero 2015]. Disponible en: <http://www.ext.colostate.edu/pubs/foodnut/09369.pdf>
2. Kanjee U, Houry W. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Microbiol* [Internet]. 2013 [consultado 12 febrero 2015]; 67: 65-81. Disponible en: <http://www.annualreviews.org.talamanca.uned.ac.cr/doi/pdf/10.1146/annurev-micro-092412-155708>
3. Rai K, Dhiman R, Kumar N, Kumar V, Kaur M. Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrot. *Int. J. Food Sci.* [Internet]. 2014 [consultado 27 enero 2015]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ijfs/2014/408085/>
4. Chauret C. Survival and control of *Escherichia coli* O157:H7 in foods, beverages, soil and water. *Virulence.* [Internet]. 2011 [consultado 12 febrero 2015]; 2(6): 593-601. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/viru.2.6.18423>
5. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Prevención de la *E. coli* en los alimentos [Internet]. Estados Unidos: FAO; (2011) [consultado 12 febrero 2015]. Disponible en:



**CARACTERIZACIÓN DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN
SEXUAL EN EL ÁREA DE SALUD HEREDIA CUBUJUQUÍ DEL 2008 AL 2012**

http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf

6. Bartram, J, Pedley, S. Microbiological analysis. En: Bartram J, Ballance, R, editores. Water quality monitoring - A practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programmes. [Internet]. Estados Unidos: UNEP/WHO; 1996 [consultado 29 marzo 2015]. Disponible en:

http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/wqmchap10.pdf

7. Reglamento Técnico Centroamericano sobre Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos. RTCA 67.04.50:08 de 19 de mayo de 2009.

8. Olorunjuwon B, Temitope B, Muibat F, Afolabi O. Microbiological quality of some locally-produced fruit juices in Ogun State, South western Nigeria. J. Microbiol. Res. [Internet]. 2014 [consultado 8 abril 2015]; 2(1): 1-8. Disponible en:

http://www.e3journals.org/cms/articles/1389093910_Galley%20Proof-no%201.pdf

9. Castellón, K, Torres, M. Determinación de la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del centro histórico de San Salvador. [Tesis]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2009.

10. Cacay B, Torres A. Calidad microbiológica de bebidas frías de frutas consumidas en los bares y/o comedores de la Universidad de Cuenca [Tesis]. Ecuador: Universidad de Cuenca; 2012.

11. Escalante L, Ortiz R. Evaluación de la calidad microbiológica de refrescos naturales no pasteurizados comercializados en el interior y los

alrededores de la Universidad de El Salvador [Tesis]. San Salvador: Universidad de El Salvador; 2010.

12. Mihajlovic B, Dixon B, Couture H, Farber J. Qualitative microbiological risk assessment of unpasteurized fruit juice and cider. Int. Food Risk Anal. J. [Internet]. 2013 [consultado 15 noviembre 2014]; 3(06): 1-19. Disponible en: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/45696.pdf>

13. Ryan K, Ray G, editores. Microbiología médica. 5ª ed. México D.F: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2011

14. Food and Drug Administration. Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins [Internet]. Segunda edición. Estados Unidos: FDA; 2012 [consultado 15 febrero 2015]. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>

15. Food and Drug Administration. Safe handling of raw produce and fresh-squeezed fruit and vegetables juices [Internet]. Estados Unidos: FDA; (s.f) [consultado 15 febrero 2015]. Disponible en:

<http://ucfoodsafety.ucdavis.edu/files/26396.pdf>

16. Sutton, S. The most probable number method and its uses in enumeration, qualification, and validation. Microbiology Topics. [Internet]. 2010 [consultado 29 marzo 2015]; 35-38. Disponible en: http://www.microbiologynetwork.com/content/jvt_2010_v16n3_most-probable-number-mpn-method-its-uses-in-enumeration-qualification-and-validation.pdf

17. Britania. Lauril sulfato caldo. [Internet]. Argentina: Laboratorios Britania; (2010) [consultado 29 marzo 2015]. Disponible en: http://www.britanialab.com/productos/385_hoja_tecnica_es.pdf

18. Britania. E.C medio. [Internet]. Argentina: Laboratorios Britania; (2010) [consultado 29 marzo 2015]. Disponible en: http://www.britanialab.com/productos/379_hoja_tecnica_es.pdf

