PRÁCTICA 2.

DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES POR EL MÉTODO DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP).

1. FASE PRESUNTIVA

**INTRODUCCIÓN**

Debido a que un gran número de enfermedades son transmitidas por vía fecal-oral utilizando como vehículo los alimentos y el agua, es necesario contar con microorganismos que funcione como indicador de contaminación fecal. Estos deben de ser constantes, abundantes y exclusivos de la materia fecal, deben tener una sobrevivencia similar a la de los patógenos intestinales y debe de ser capaces de desarrollarse extraintestinalmente. El grupo coliforme es constante, abundante y casi exclusivo de la materia fecal, sin embargo, las características de sobrevivencia y la capacidad para multiplicarse fuera del intestino también se observan en aguas potables, por lo que el grupo coliforme se utiliza como indicador de contaminación fecal en agua; conforme mayor sea el número de coliformes en agua, mayor será la probabilidad de estar frente a una contaminación reciente. Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican, por lo que en los alimentos el grupo coliforme adquiere un significado distinto al que recibe en el agua. En productos alimenticios que han recibido un tratamiento térmico (pasteurización, horneado, cocción, etc.), se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias.

Los microorganismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra. El grupo de bacterias coliformes totales comprende todos los bacilos Gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h. a 35°C ± 1ºC1. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter, Escherichia, Citrobacter y Klebsiella*. El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a 44.5 ± 0.1°C. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo, la más prominente es *Escherichia coli.* La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales.

El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a 44.5 ± 0.1°C. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo, la más prominente es *Escherichia coli.*

OBJETIVO

Recuperar microorganismos en muestras de alimentos que sean capaces de fermentar a la lactosa, y que muy probablemente sean coliformes totales (fase presuntiva).

MATERIALES Y REACTIVOS.

1. Materiales.
	* 1 Gradilla.
	* Tubos con caldo lauril sulfato de sodio (preparados previamente).
	* 5 tubos con rosca estériles.
	* Tabla para picar.
	* Cuchillo estéril.
2. Reactivos
* Agua peptonada al 0.1%.
* Etanol.
* Agua destilada.
1. Equipos
* Balanza analítica.
* Licuadora.
* Autoclave.

**PROCEDIMIENTO.**

1. Homogenizar 10 gramos de la muestra en la licuadora o con cubiertos estériles.
2. Adicionar 90.0 mL de agua peptonada al 0.1 %, licuar y dejar en reposo de 2-3 minutos.
3. Realizar diluciones hasta 10- 3 g/mL con agua peptonada al 0.1 %.
4. Añadir 1.0 mL de la dilución 10- 1 g/mL a cada uno de los 2 tubos con 10.0 mL de caldo lauril sulfato de sodio.
5. Añadir 1.0 mL de las diluciones 10- 2 g/mL y 10- 3 g/mL a las dos series de 2 tubos cada una con caldo lauril sulfato de sodio.
6. Incubar a 35-37 °C durante 24-48 h.
7. Los tubos después de la incubación, se registrarán como positivos si presentan crecimiento y producción de gas.
8. A los tubos positivos se les puede realizar la prueba confirmativa de la determinación del NMP.

**REFERENCIAS**

Nom, N. O. M. (2000). 127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, 13.

Ortiz, B., Cano, F., & de Miranda, T. A. (2015). Desarrollo de una metodología sencilla para establecer la presencia de coliformes en agua de consumo humano y su correlación con el método de fermentación de tubos múltiples (NMP). Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 13(1).

Rivera-Vázquez, R., Palacios-Vélez, Ó. L., Chávez Morales, J., Belmont, M. A., Nikolski-Gavrilov, I., DE LA ISLA DE BAUER, M., ... & Carrillo-Gonzalez, R. (2007). Contaminación por coliformes y helmintos en los ríos Texcoco, Chapingo y San Bernardino tributarios de la parte oriental de la cuenca del Valle de México. Revista internacional de contaminación ambiental, 23(2), 69-77.