

## 5.4: Teórico Práctico 5. Métodos de recuento de poblaciones microbianas

Llegan a su laboratorio **5 muestras de leche entera pasteurizada** (muestras A–E) y debe determinarle la calidad microbiológica.

El Art. 558. Res. MSyAS N° 047/98 del Código Alimentario Argentino establece que la leche entera pasteurizada debe estar exenta de gérmenes patógenos. Esta exigencia no se dará por cumplida si presenta:

1. Recuento total en placa:  $>5 \times 10^4$  bacterias mesófilas/cm<sup>3</sup> en los meses de abril a septiembre inclusive y,  $>1 \times 10^5$  bacterias/cm<sup>3</sup> en los meses de octubre a marzo, inclusive.

2. Bacterias coliformes (recuento en placa en agar-violeta-rojo-bilis):  $>50$  bacterias/cm<sup>3</sup>.

3. *Escherichia coli*: presencia en 1 cm<sup>3</sup>. Debe ser confirmada por pruebas bioquímicas.

1. De acuerdo a las exigencias del Código Alimentario Argentino, decide realizar un **recuento microscópico directo**. ¿Es esto correcto? ¿Por qué? ¿Qué resultado esperaría obtener? Enumere las ventajas y desventajas de este método de estimación.

2. Luego, realiza el **recuento total de bacterias mesófilas en placa** en Agar Recuento en Placa (APC). ¿De acuerdo a la composición de dicho medio, cómo lo clasificaría? ¿Qué método de siembra y condiciones de cultivo debe utilizar? ¿Por qué? ¿Qué materiales necesita preparar para realizar dicha determinación? ¿Cómo los esterilizaría?

Al realizar el recuento total de bacterias aerobias mesófilas en el medio APC obtiene los resultados presentados en la **Tabla 1**. Informe los resultados de las 5 determinaciones. Enumere las ventajas y desventajas de este método de estimación.

**Tabla 5.4.1.** Recuento total de bacterias aerobias mesófilas en las 5 muestras de leche.

Dilución	A	B	C	D	E
	(placa1/placa2)	(placa1/placa2)	(placa1/placa2)	(placa1/placa2)	(placa1/placa2)
1/10	CF	945/899	780/820	45/52	CF
1/100	890/921	208/160	105/112	5/10	925/885
1/1000	175/197	40/48	32/27	0/0	135/129
1/10000	43/50	3/12	2/0	0/0	35/28

CF: crecimiento confluyente

3. El **recuento de coliformes totales** lo realiza por el método del número más probable (NMP) en medio Caldo Verde Brillante Lactosa 2% sales biliares. ¿De acuerdo a su composición, cómo lo clasificaría? Fundamente su respuesta. ¿Qué método de siembra y condiciones de cultivo utilizaría? ¿Por qué? ¿Cómo esterilizaría dicho medio de cultivo?

Al determinar el NMP de coliformes totales en el medio Caldo Verde Brillante Lactosa 2% sales biliares obtiene los resultados presentados en la **Tabla 5.4.2**. Informe los resultados de las 5 determinaciones. Indique la reacción positiva típica. Enumere las ventajas y desventajas de este método de estimación.

Indique cómo confirmaría la presencia de coliformes a partir de los tubos positivos en el medio Caldo Verde Brillante Lactosa 2% sales biliares (NMP). Fundamente su respuesta.

**Tabla 5.4.2.** Determinación de coliformes totales por el método de NMP en las 5 muestras de leche.

Serie	Tubos	Volumen de medio (ml)	Volumen de muestra (ml)	Muestras				
				A	B	C	D	E
1	1	10 DC	10	+	+	+	+	+
	1			+	+	-	+	+
	1			-	+	-	-	+
2	2	10 SC	1	+	+	-	-	-

Serie	Tubos	Volumen medio (ml)	de	Volumen muestra (ml)	Muestras				
	2				-	+	-	-	-
	2				-	-	-	-	-
3	3	10 SC	de	0,1	-	+	-	-	+
	3				-	-	-	-	+
	3				-	-	-	-	-
Resultado									

DC: doble concentración; SC: simple concentración

4. De acuerdo a los resultados obtenidos, ¿podría aceptar o rechazar las muestras de leche?

¿Por qué? Fundamente su respuesta.

5. A partir del análisis de las 5 muestras de leche Ud. ha podido aislar una cepa de *Escherichia coli* y decide realizar una curva de calibración de recuento en placa vs. turbidez (D.O. leída a 600 nm). A partir de la misma establece una relación UFC/ml por unidad de D.O. de  $4 \times 10^7$ . ¿Qué ventajas tiene realizar una curva de calibración de recuento vs turbidez?

Al realizar una curva de turbidez de la cepa de *E. coli*, Ud. obtiene los resultados expresados en la **Tabla 5.4.3**. Calcule el N° cél/ml de acuerdo a la relación obtenida. Grafique los datos en escala aritmética y semilogarítmica. ¿Qué ventajas obtiene si la representación gráfica la efectúa en escala semilogarítmica? ¿Cuál es la ecuación que refleja el crecimiento en esta etapa logarítmica o exponencial (partiendo del número inicial N0)? Fundamente su respuesta. Enumere las ventajas y desventajas del método turbidimétrico.

**Tabla 5.4.3.** D.O. obtenida a 600 nm de un cultivo de *E. coli*

Tiempo (h)	D.O.	Nf= N° cél/ml	Log <sub>10</sub> N° cél/ml
8:00	0,03		
8:30	0,041		
9:00	0,102		
9:30	0,282		
10:00	0,425		
11:00	0,620		
12:00	0,850		
13:00	1,215		
14:00	1,416		
15:00	1,612		

Calcule el número de generaciones que ocurren en el cultivo bacteriano si pasó de 1.000 células/ml a  $1.5 \times 10^8$  células/ml. Calcule la velocidad de crecimiento, sabiendo que la variación ocurrió en 12 h. ¿Cuál fue el tiempo de generación y qué representa dicho tiempo?

¿Cómo influye la velocidad de crecimiento sobre el tamaño y composición macromolecular de las células? ¿En qué caso el incremento de la masa celular no refleja crecimiento?

6. ¿Qué curva de crecimiento obtendrá, si el cultivo de *E. coli* que crece exponencialmente en un caldo nutritivo es inoculado en el medio fresco, bajo las mismas condiciones de crecimiento?

¿Cómo es la curva de crecimiento si dicho cultivo que crece exponencialmente es inoculado en un medio fresco más pobre al que estaba creciendo? ¿Cómo será la curva de crecimiento si el inóculo se toma a partir de un cultivo en fase estacionaria y se inocula en un medio fresco de la misma composición? ¿Y si se inocula a otro de diferentes composición? En todos los casos, fundamente su respuesta.

---

This page titled [5.4: Teórico Práctico 5. Métodos de recuento de poblaciones microbianas](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso](#), [Carina E. Magnoli](#), [Germán G. Barros](#) y [Mirta S. Demo](#).