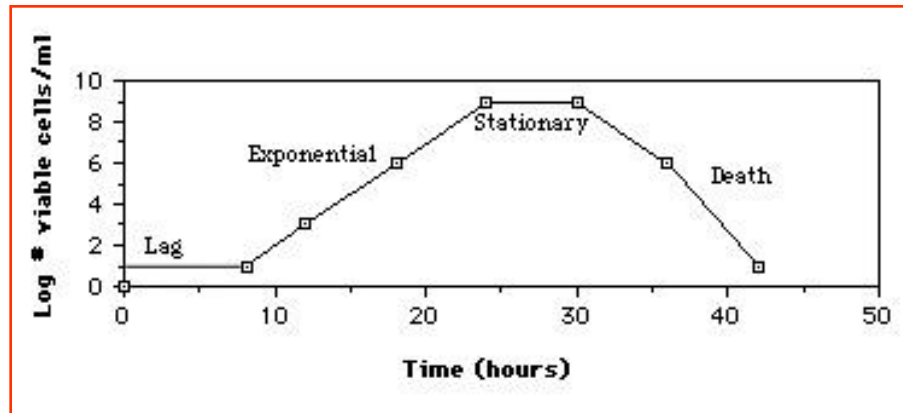


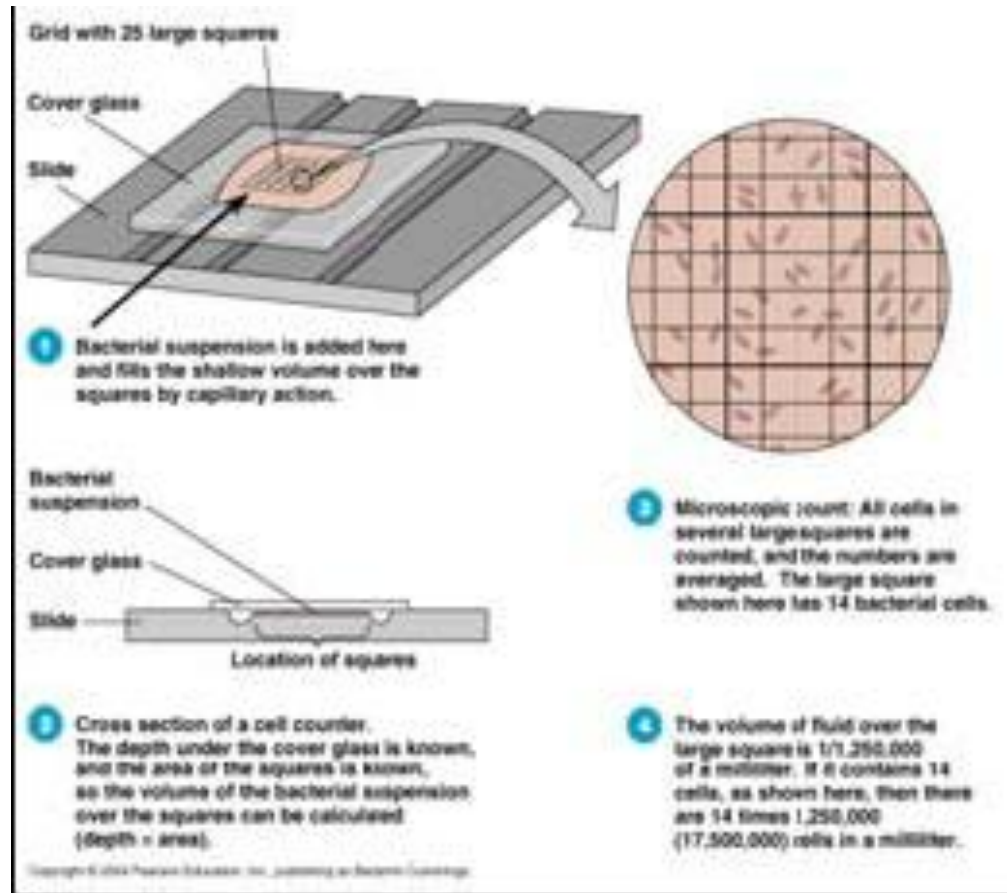
Métodos de estudio

Concentración celular bacteriana

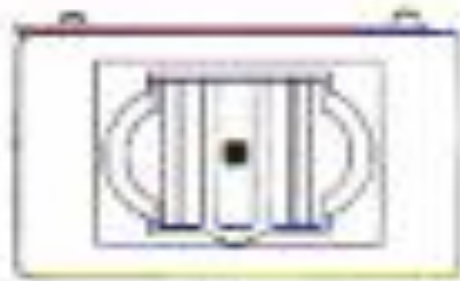


- 1) Concentración celular ó número de células bacterianas por volumen de cultivo
- 2) Concentración biomasa o peso seco de células bacterianas por volumen de cultivo

CONTEO DIRECTO EN CAMARA



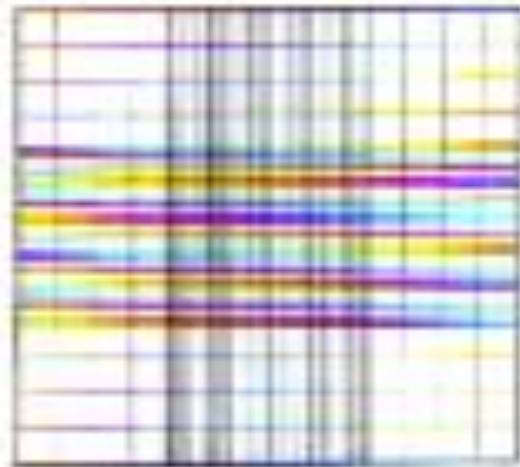
Metodo	Aplicación	Caract.
Recuento Directo	Conteo de bacteria en leche o vacunas	Cél viables y no viables



A



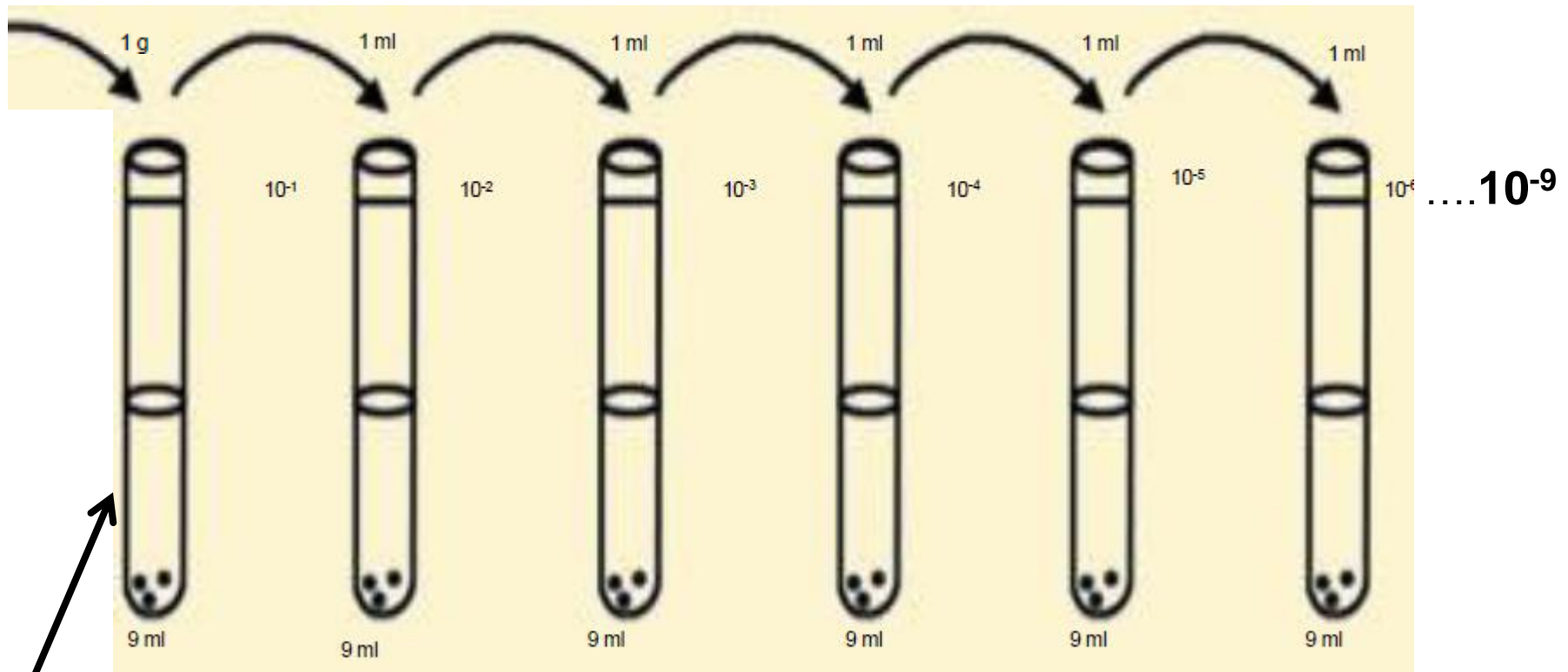
B Plataforma con estrías micrométricas. El líquido en el cual está suspendida la bacteria ocupa el espacio entre la plataforma y el cubreobjetos.



C

RECuento CELULAR DIRECTO

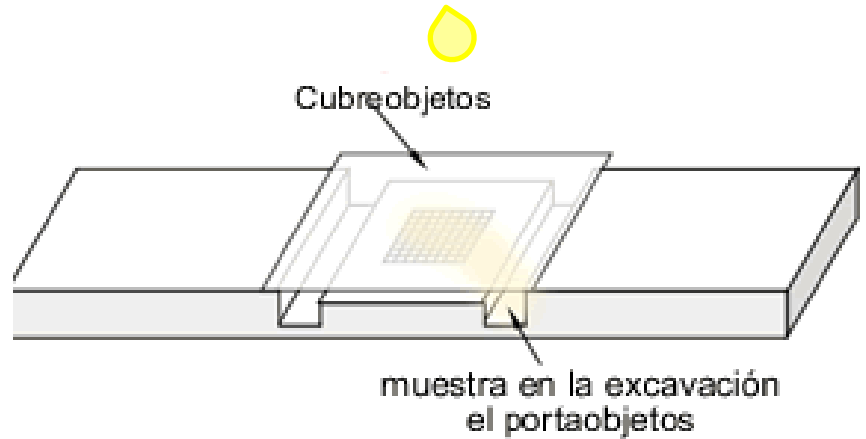
Muestra
de cultivo



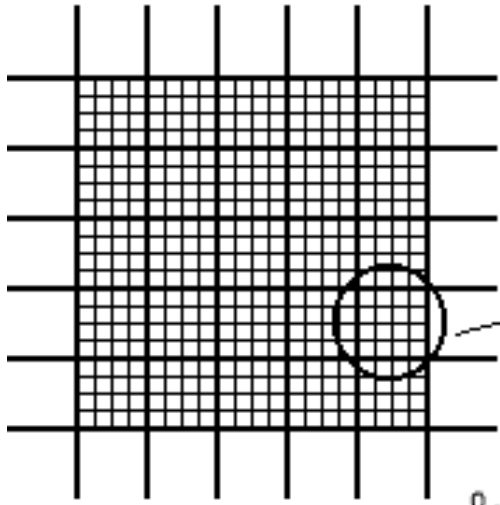
Suero
Fisiológico

Muestra diluida

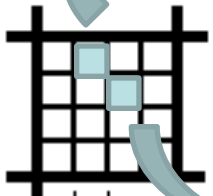
10^{-5}



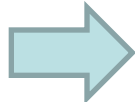
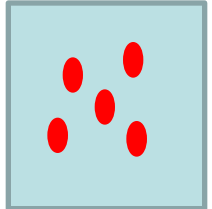
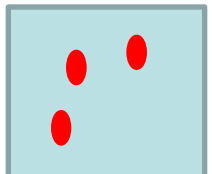
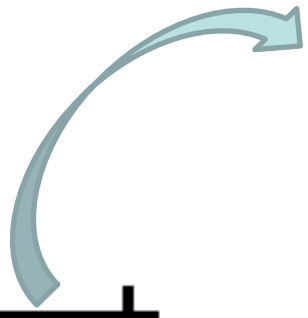
Cámara de Nee Bauer



0.02 cm



0.005 cm



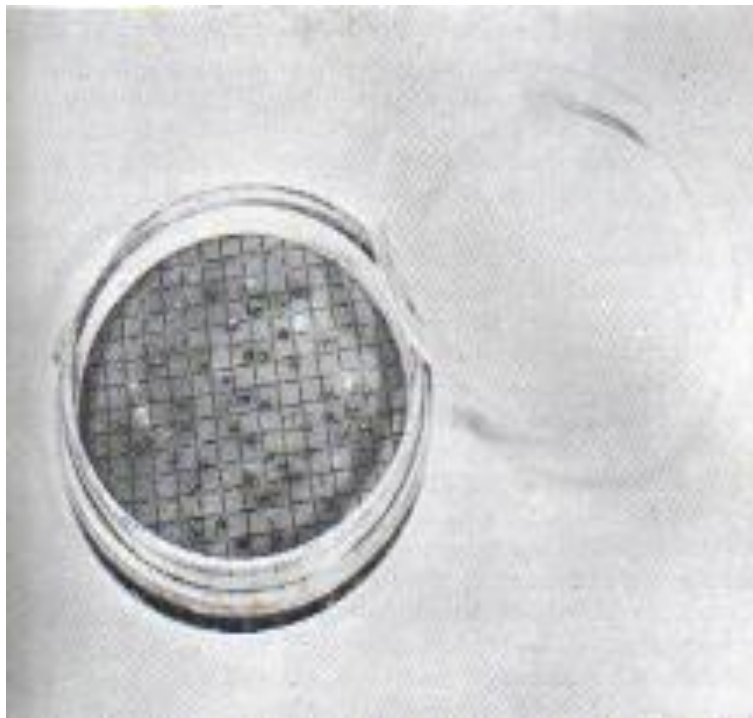
Promediar

Ej.: 4 \times 256 (4x4x4x4) = 1024

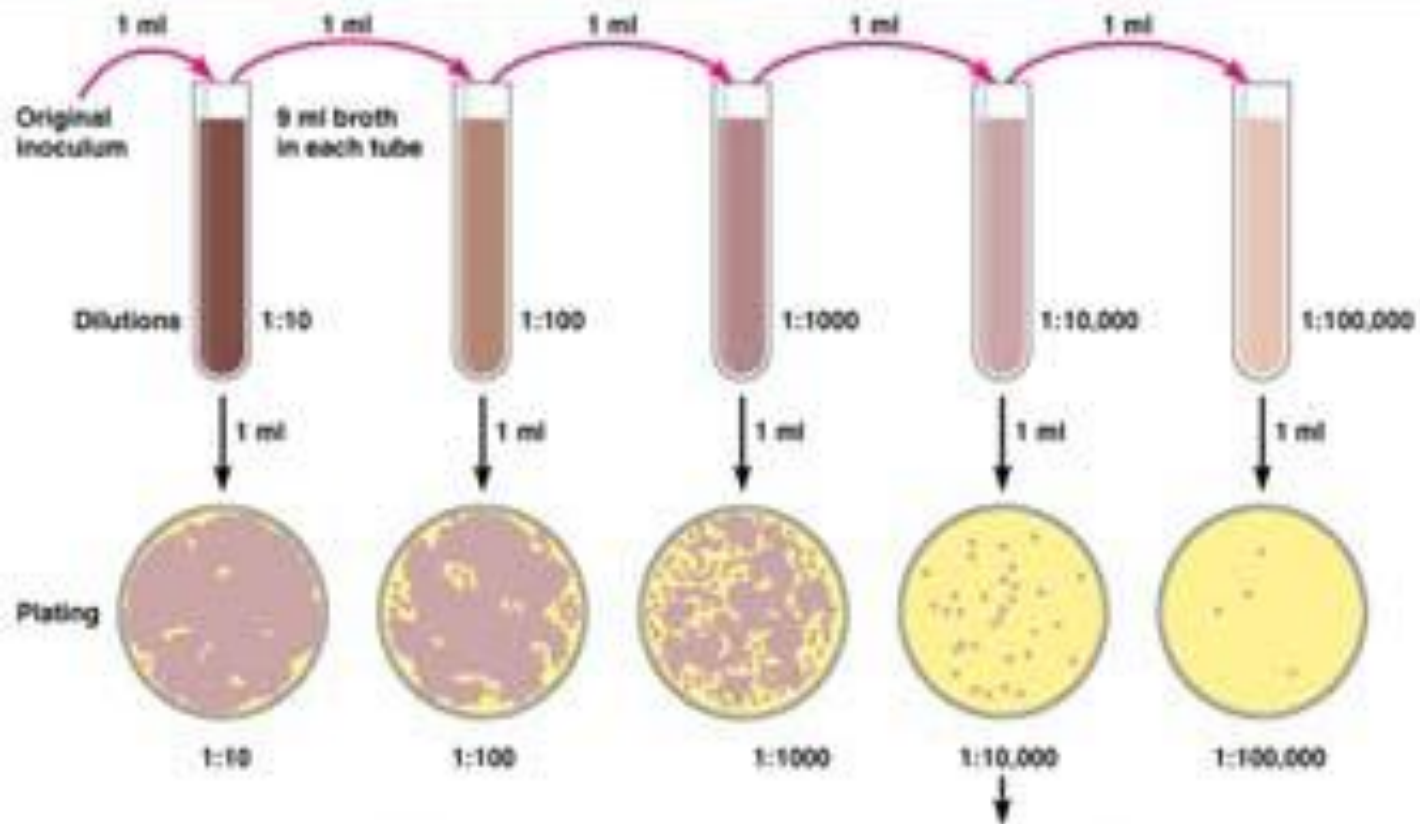
Ej.: 1024 \times Dilución elegida (Ej. 10^5) = Ej.: 1024×10^5

Ej.: 1024×10^5 \times 10^2 (mm³ a cm³) = $\left\{ \begin{array}{l} 1024 \times 10^7 \text{ bacterias/cc} \\ 1024 \times 10^7 \text{ bacterias/mL} \end{array} \right.$

Metodo	Aplicación	Caract.
Recuento Directo	Conteo de bacteria en leche o vacunas	Cél viables y no viables
Recuento en placas	Conteo de bacteria en leche, alimento, suelo, agua, cultivos,	Altamente sensibles en cond óptimas

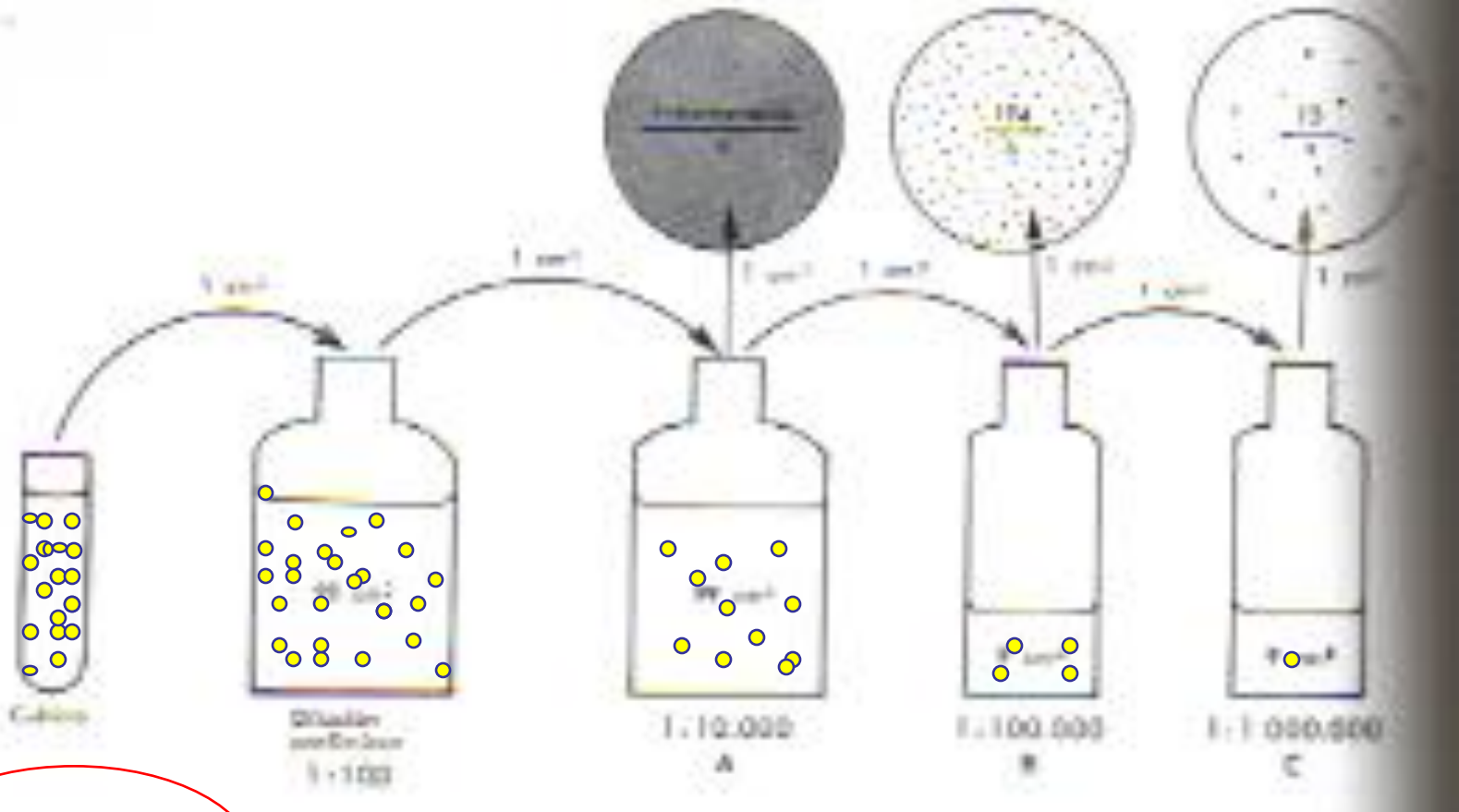


RECUENTO EN PLACA



Calculation: Number of colonies on plate \times reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml
(For example, if 32 colonies are on a plate of $1/10,000$ dilution, then the count is $32 \times 10,000 = 320,000/\text{ml}$ in sample.)

Recuento colonias

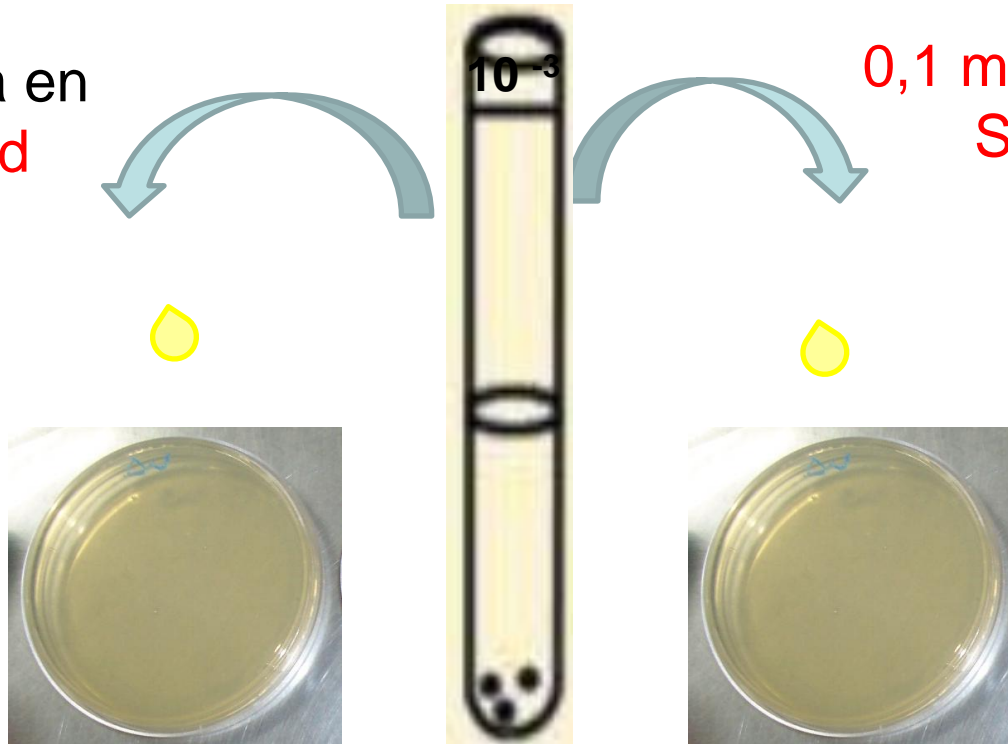


UFC/ml. En el ejemplo: 13×10^6 ufc/ml

Muestra
diluida

1 mL siembra en
Profundidad

0,1 mL siembra en
Superficie

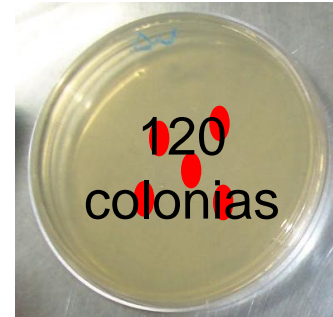
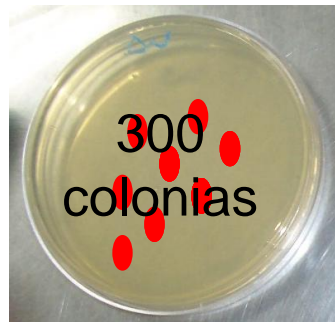


Agar Nutritivo

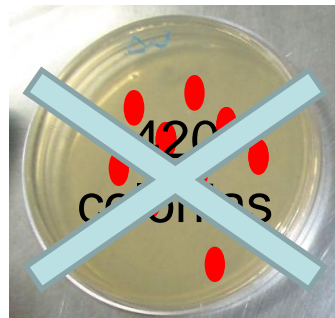
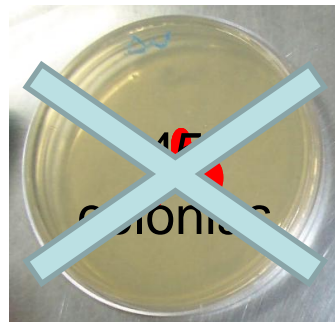
37°C por 24 hr.

Conteo de colonias

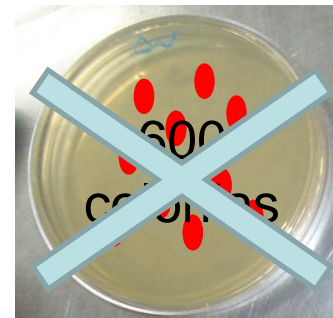
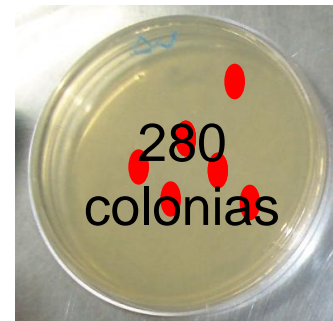
Seleccionar placas: ≥ 50 y ≤ 300 colonias



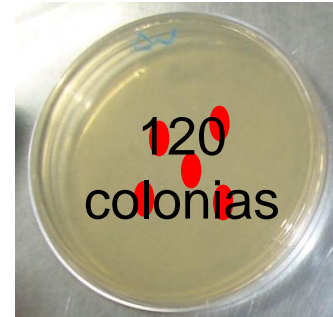
1 mL siembra en
Profundidad



0,1 mL siembra en
Superficie

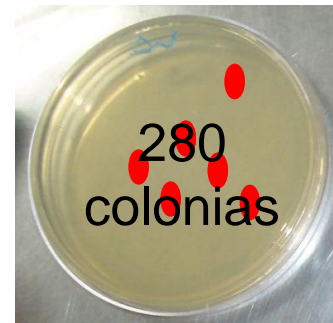


Promediar



1 mL siembra en
Profundidad

0,1 mL siembra en
Superficie



300 colonias



200 colonias

Realizar cálculos matemáticos

Siembra en **Profundidad**

300 colonias



10^3



1



300×10^3 UFC/mL

Factor de dilución

Factor de Siembra (tamaño del inóculo)

Siembra en **Superficie**

200 colonias



10^3



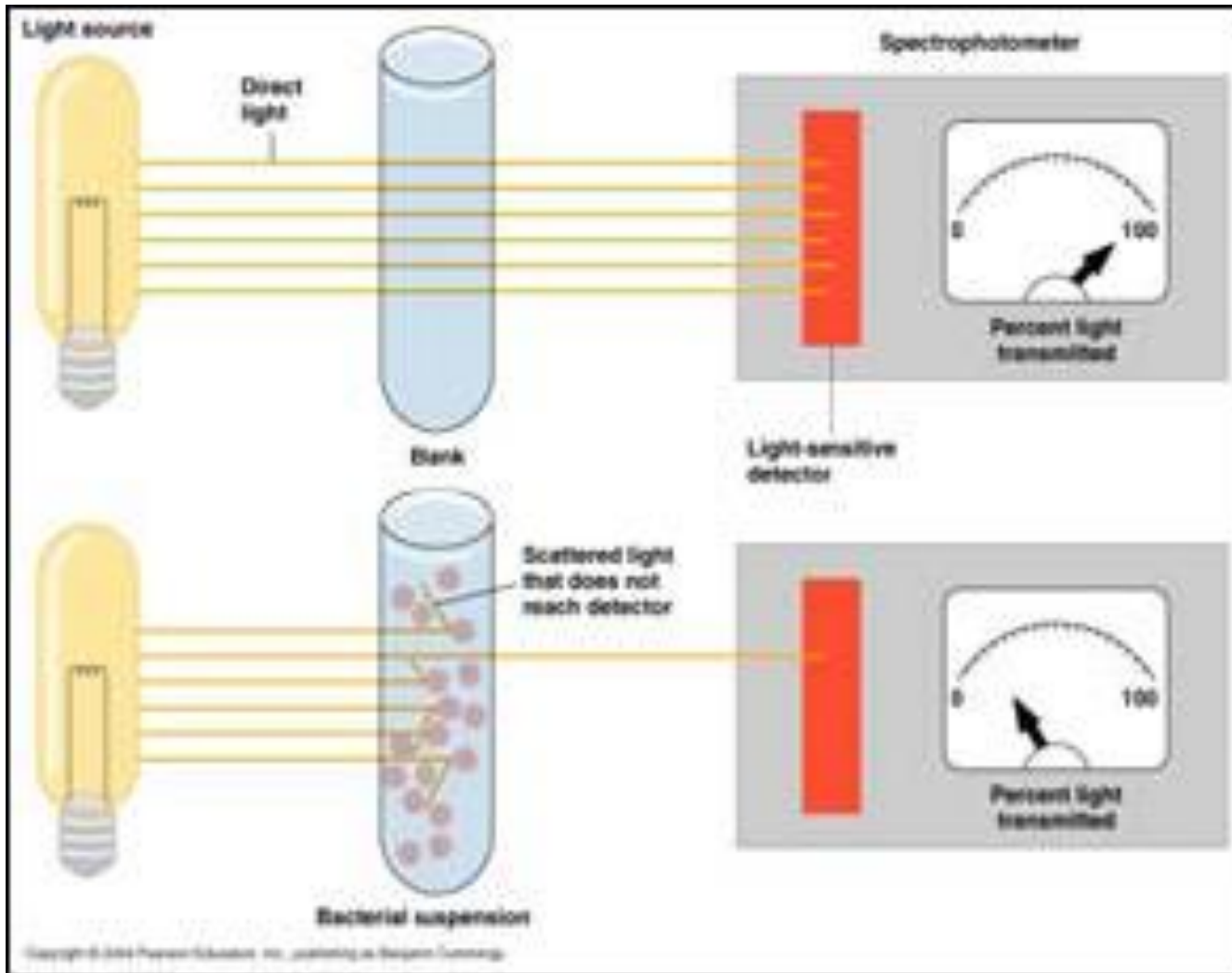
10



200×10^4 UFC/mL

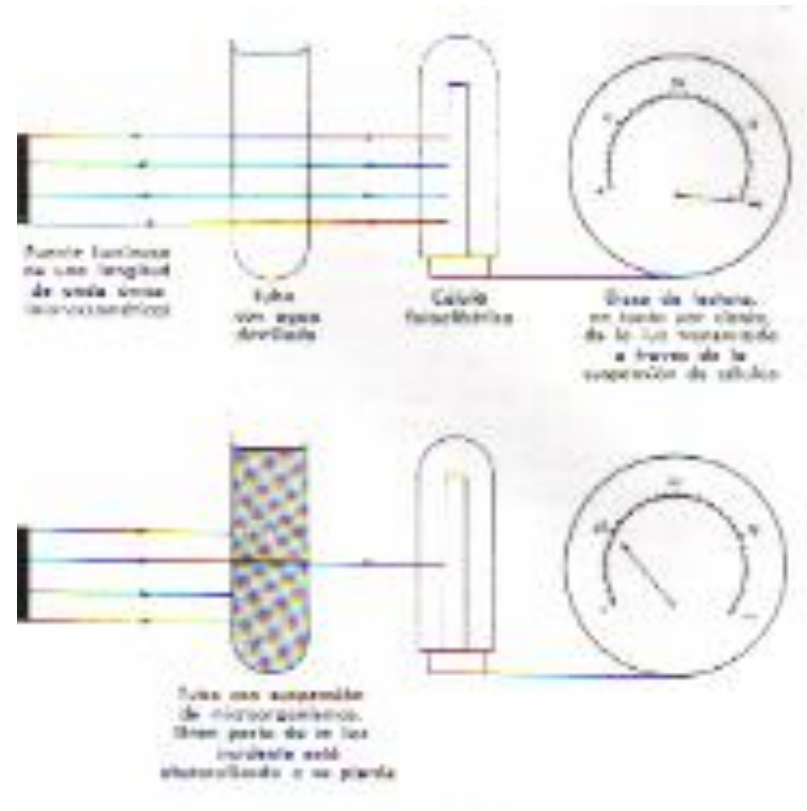
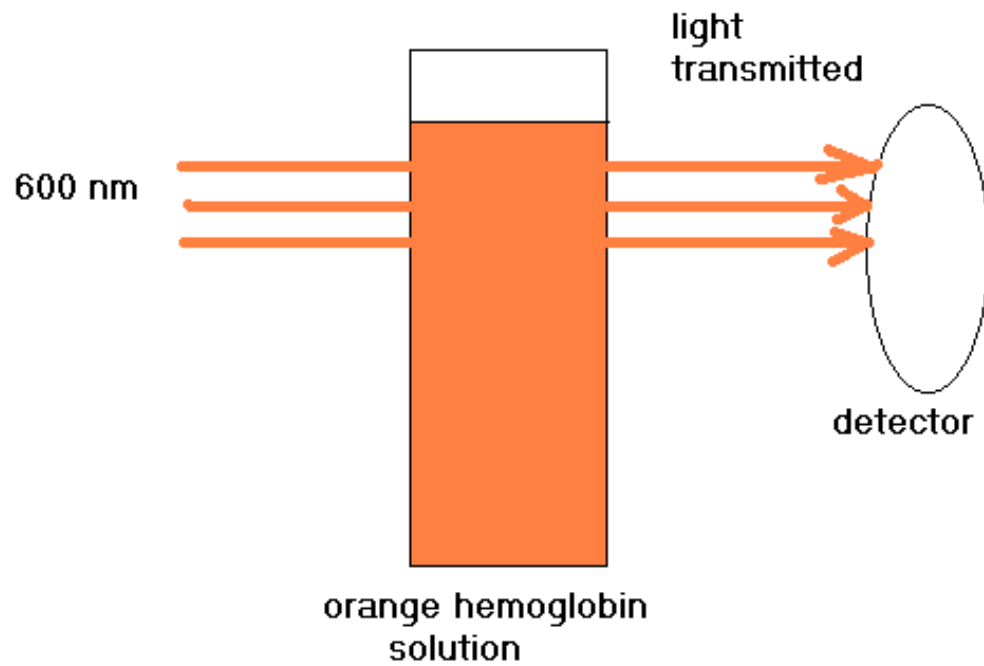
Metodo	Aplicación	Caract.
Recuento Directo	Conteo de bacteria en leche o vacunas	Cél viables y no viables
Recuento en placas	Conteo de bacteria en leche, alimento, suelo, agua, cultivos,	Altamente sensibles en cond óptimas
Densidad Optica	Medios líquidos	No detecta densidad menor 10^7 cel por ml

MEDICION DE TURBIDEZ



DO

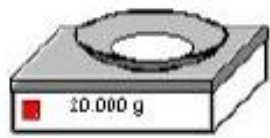
T



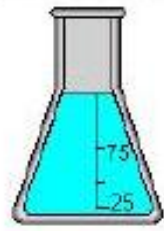
Metodo	Aplicación	Caract.
Recuento Directo	Conteo de bacteria en leche o vacunas	Cél viables y no viables
Recuento en placas	Conteo de bacteria en leche, alimento, suelo, agua, cultivos,	Altamente sensibles en cond óptimas
Densidad Optica	Medios líquidos	No detecta densidad menor 10^7 cel por ml
Nitrogeno ó prot Total	Células totales (cultivos densos)	Para investigación
Act bioquimica, O ₂ , CO ₂ , ATP,	Microbiologia	Requiere standard
Peso ó Vol (centrifugación)	Células totales	Mejor que N y prot Total

DETERMINACION DEL NMP DE COLIFORMES EN MUESTRAS SOLIDAS O ALIMENTOS

Pesar 10.0 g de muestra en condiciones de asepsia



Homogenizar la muestra con 90.0 mL de solución diluyente



10^{-1}

Realizar 2 diluciones decimales más en tubos con 9.0 mL de solución diluyente

1.0 mL



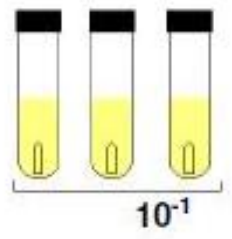
10^{-2}

1.0 mL

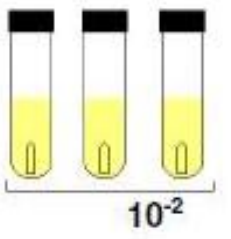


10^{-3}

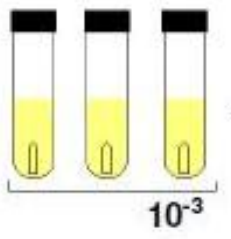
Sembrar por triplicado cada dilución en tubos de caldo lauril sulfato triptosa (LST)



10^{-1}

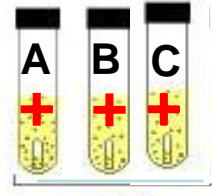


10^{-2}

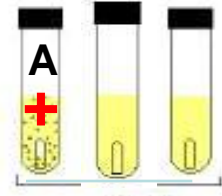


10^{-3}

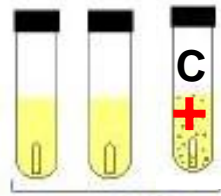
35°C
24 - 48 h



10^{-1}



10^{-2}



10^{-3}

Tubos con 10.0 mL de LST concentración sencilla (1X) + 1.0 mL de muestra

LST

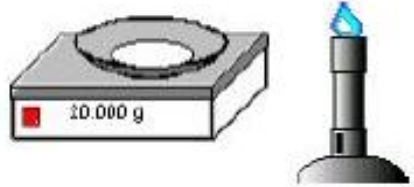
3 1 1

PRESUNTIVO

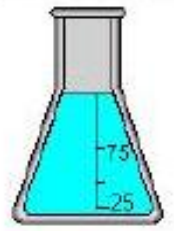
<u>Pos*</u> 10;1;0,1	MPN	<u>Pos*</u> 10;1;0,1	MPN	<u>Pos*</u> 10;1;0,1	MPN
300	7.8	310	11	320	14
301	11	311	14	321	17
302	13	312	17	322	20
303	16	313	20	323	24
304	20	314	23	324	27
305	23	315	27	325	31

DETERMINACION DEL NMP DE COLIFORMES EN MUESTRAS SOLIDAS O ALIMENTOS

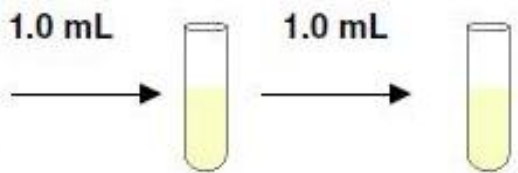
Pesar 10.0 g de muestra en condiciones de asepsia



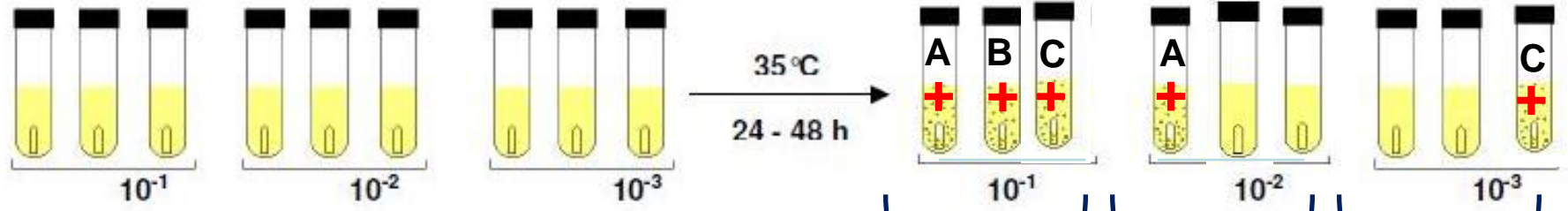
Homogenizar la muestra con 90.0 mL de solución diluyente



Realizar 2 diluciones decimales más en tubos con 9.0 mL de solución diluyente



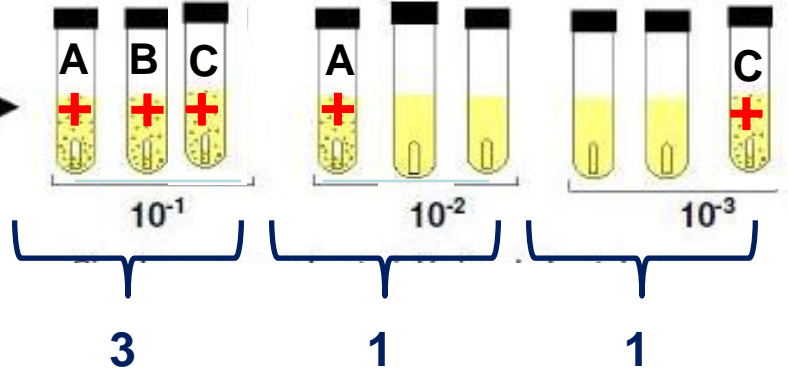
Sembrar por triplicado cada dilución en tubos de caldo lauril sulfato triptosa (LST)



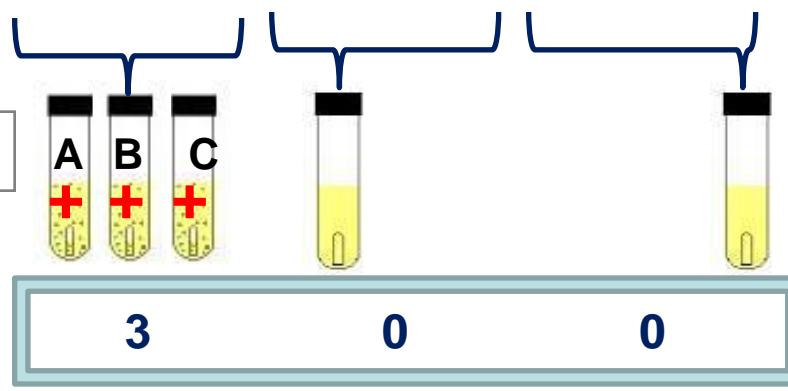
Tubos con 10.0 mL de LST concentración sencilla (1X) + 1.0 mL de muestra

CONFIRMATORIO

LST



EC



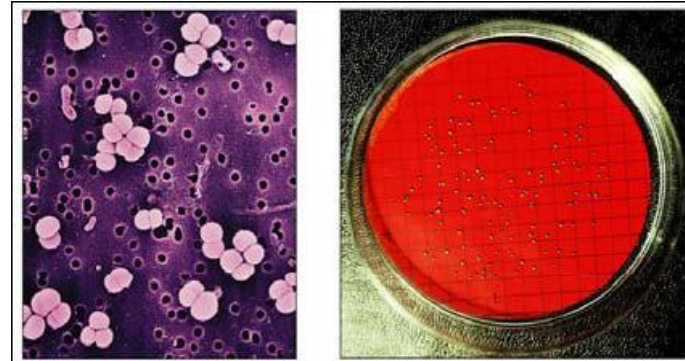
Pos*	MPN	Pos*	MPN	Pos*	MPN
10;1;0,1		10;1;0,1		10;1;0,1	
300	7.8	310	11	320	14
301	11	311	14	321	17
302	13	312	17	322	20
303	16	313	20	323	24
304	20	314	23	324	27
305	23	315	27	325	31

- Test multitubos; Prueba NMP
- Se cuentan los tubos positivos (Turbidez) y luego el “código” se compara con la tabla.

FILTRACIÓN

Combination of Positives	MPN Index/ 100 ml	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
4-2-0	22	9	56
4-2-1	26	12	65
4-3-0	27	12	67
4-3-1	33	15	77
4-4-0	34	16	80
5-0-0	23	9	86
5-0-1	30	10	110
5-0-2	40	20	140
5-1-0	30	10	120
5-1-1	50	20	150
5-1-2	60	30	180
5-2-0	50	20	170
5-2-1	70	30	210
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360

(b) MPN table
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Otros:

Recuento electrónico:

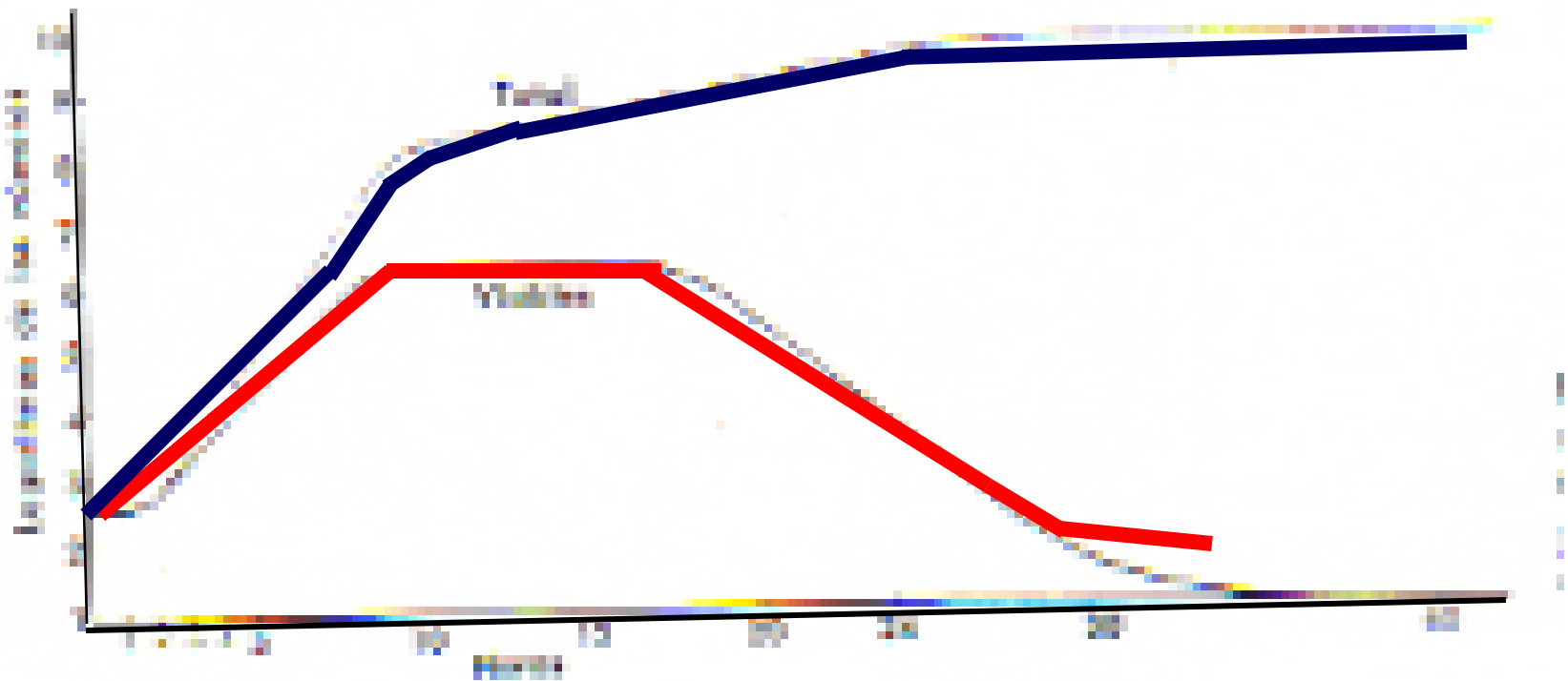
Rápido y automático. Cuenta cél. vivas y muertas

Determinación de ácidos Nucleicos.

Escala de Mac Farland

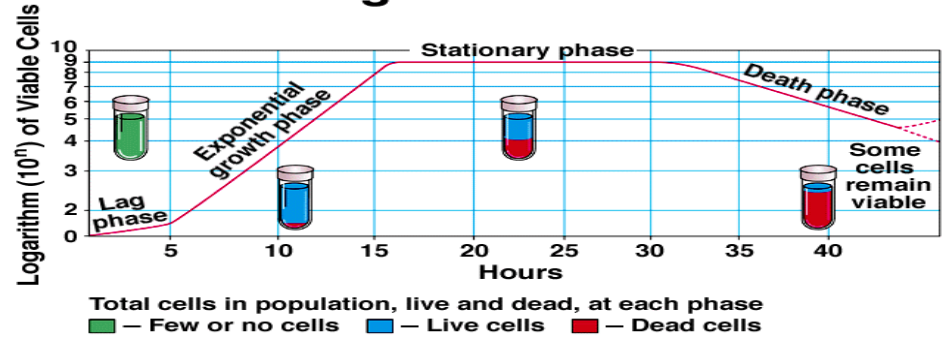
Poco exacto. Subjetivo

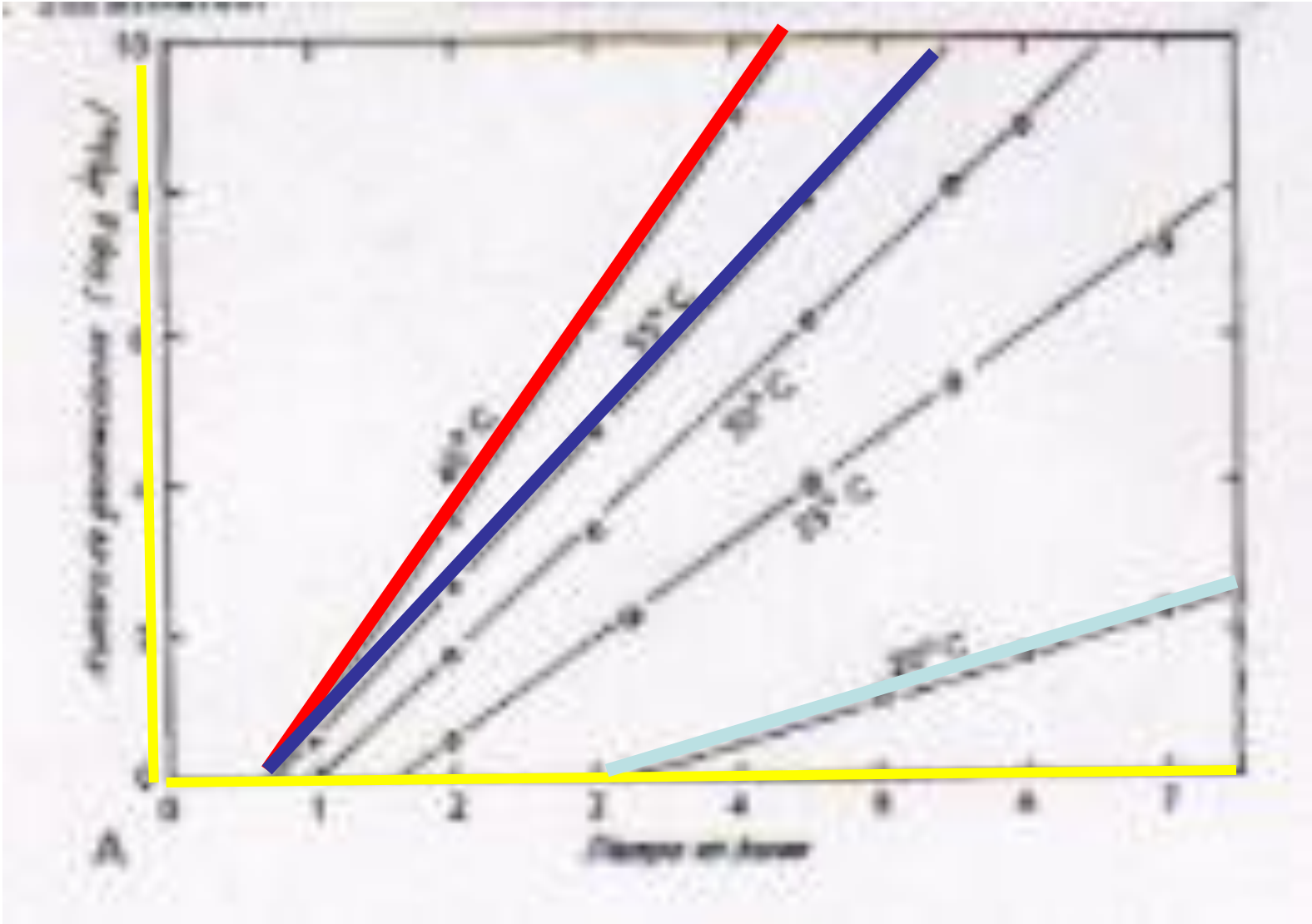
Curva de recuento de **células Viables** (Por cultivos y se expresan en **u.f.c.**) y **no viables** (Cámaras de recuento, DO, Peso seco)



Kathleen Park Talaro and Arthur Talaro, *Foundations in Microbiology*, 3e Copyright © 1999 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

The growth curve





Cultivo continuo y Cultivo sincronizado:

Renovación de nutrientes, ajuste de pH,
proporcionar ambiente óptimo...

