

10-19-95 NORMA Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-112-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. DETERMINACION DE BACTERIAS COLIFORMES. TECNICA DEL NUMERO MAS PROBABLE.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 194 fracción I de la Ley General de Salud; 2o. fracción III, 34, 37, 40 y demás aplicables del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y

CONSIDERANDO

Que con fecha 28 de abril de 1994, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización la Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 15 de agosto de 1994, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana a efecto que dentro de los siguientes noventa días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que en fecha previa, fueron publicados en el **Diario Oficial de la Federación** las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-112-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. DETERMINACION DE BACTERIAS COLIFORMES. TECNICA DEL NUMERO MAS PROBABLE.

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

Comisión Nacional del Agua

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

INDUSTRIAS VINICOLAS PEDRO DOMEcq, S.A. DE C.V.

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LABORATORIO FERMI, S.A.

LABORATORIO ICCABI, S.A. DE C.V.
LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A. DE C.V. LICONSA
SIGMA ALIMENTOS, S.A. DE C.V.
SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.
NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION
1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. FUNDAMENTO
3. REFERENCIAS
4. DEFINICIONES
5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
6. REACTIVOS Y MATERIALES
7. APARATOS E INSTRUMENTOS
8. PREPARACION DE LA MUESTRA
9. PROCEDIMIENTO
10. EXPRESION DE LOS RESULTADOS
11. INFORME DE LA PRUEBA
12. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
13. BIBLIOGRAFIA
14. OBSERVANCIA DE LA NORMA
15. VIGENCIA

0. Introducción

Las bacterias coliformes son un grupo heterogéneo compuesto por varios. Existe poca evidencia que indique que estas bacterias coliformes pertenezcan a un solo género taxonómico.

La falta de certeza en cuanto a su filiación taxonómica y la imprecisa correlación entre los métodos recomendados para la detección de coliformes han presentado problemas. El primero, es que *Escherichia coli* es aceptada como bacteria coliforme, la especie contiene variantes que no producen gas de la lactosa o lo hacen después de 48 horas, por lo que no se les identifica por medio de esta técnica. Segundo, la capacidad de fermentar la lactosa está frecuentemente asociada a genes localizados en plásmidos. Estos determinantes extracromosomales son fácilmente transferidos entre otras bacterias Gram negativas no relacionadas a las coliformes, que pueden, en consecuencia, ser recuperadas en la etapa inicial del análisis. No obstante en la práctica, la técnica ha demostrado su efectividad.

El número de organismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias (NOM-113-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa) o el uso de la técnica del número más probable. Esta última, también llamada técnica de dilución en tubo, proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el método microbiológico para estimar el número de coliformes presentes en productos alimenticios, por medio del cálculo del número más probable (NMP) después de la incubación a 35 °C de la muestra diluida en un medio líquido.

Este procedimiento puede aplicarse a agua potable, agua purificada, hielo y alimentos procesados térmicamente, así como a muestras destinadas a evaluar la eficiencia de prácticas sanitarias en la

industria alimentaria. Este procedimiento debe seleccionarse cuando la densidad esperada es como mínimo de una bacteria en 10 ml de producto líquido o una bacteria por gramo de alimento sólido.

Cuando la densidad bacteriana sea menor que la aquí citada y si la naturaleza del alimento lo permite, utilizar el método de filtrado en membrana. Si la densidad microbiana se espera sea mayor a 100 por mililitro o gramo de muestra, ampliar el intervalo de diluciones o utilizar el método en placa.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Fundamento

El método se basa en que las bacterias coliformes, fermentan la lactosa incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas, resultando una producción de ácidos y gas el cual se manifiesta en las campanas de fermentación.

3. Referencias

Esta norma se complementa con lo siguiente:

- NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
- NOM-110-SSA1-1994 Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

4. Definiciones

Para fines de esta norma se entiende por:

Coliformes, bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, que a 35°C fermentan la lactosa con la producción de gas bajo las condiciones especificadas en esta norma.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

g	gramo
ml	mililitro
l	litro
mm	milímetro
$^\circ\text{C}$	grado Celsius
%	por ciento
pH	potencial de hidrógeno
N	normal
NMP	número más probable

6. Reactivos y materiales

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico. Cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada con pH cercano a la neutralidad.

6.1 Reactivos

6.1.1 Soluciones diluyentes

6.1.1.1 Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada)

FORMULA

INGREDIENTES

Fosfato monopotásico
Agua

CANTIDADES

34,0 g
1,0 l

Preparación:

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1 N.

Llevar a un litro con agua.

Esterilizar durante 15 minutos a $121 \pm 1,0$ °C.

Conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a un litro con agua.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar durante 15 minutos a 121 ± 1 °C.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2. Agua peptonada

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Peptona	1,0 g
Cloruro de sodio	8,5 g
Agua	1,0 l

Preparación:

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a 7,0 con hidróxido de sodio 1 N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml o en cualquier volumen múltiplo de nueve según se requiera.

Esterilizar durante 15 minutos a $121 \pm 1,0$ °C.

Después de la esterilización los volúmenes finales de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

Si este diluyente no es usado inmediatamente, almacenar en lugar obscuro a una temperatura entre 0 a 5 °C por un tiempo no mayor de un mes, en condiciones tales que no alteren su volumen o composición.

6.1.2 Medios de cultivo.

Caldo lactosado (medio de enriquecimiento para agua potable y hielo).

Caldo lauril sulfato triptosa (medio de enriquecimiento selectivo).

Caldo lactosa bilis verde brillante (medio de confirmación).

En el caso del análisis de agua potable y hielo puede utilizarse caldo lactosado o caldo lauril sulfato triptosa con púrpura de bromocresol (concentración 0,01 g/l de medio), como alternativa al uso de campanas de fermentación. Los tubos positivos se manifiestan por el vire del indicador a color amarillo.

6.1.2.1 Caldo lactosado

CUADRO 1

Ingrediente	Medio de concentración 1,5	Medio de concentración sencilla
Extracto de carne	4,5 g	3,0 g
Peptona de gelatina	7,5 g	5,0 g
Lactosa	7,5 g	5,0 g
Agua destilada	1000,0 ml	1000,0 ml

Disolver los ingredientes en 1 l de agua, calentando si es necesario o el medio completo deshidratado, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ajustar el pH final de tal manera que después de la esterilización éste sea de $6,9 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos con dimensiones de 16 x 160 mm el medio de concentración sencilla y de 20 ml en tubos de 20 x 200 mm el medio de concentración 1,5, cada tubo debe tener campana de fermentación.

Esterilizar en autoclave por 15 minutos a $121 \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Enfriar rápidamente para evitar una exposición excesiva al calor. El aspecto del caldo es claro y de color beige.

Se puede utilizar una concentración doble del medio de cultivo, en cuyo caso se emplearán 10 ml del caldo preparado, cuando se agreguen 10 ml de la muestra.

6.1.2.2 Caldo lauril sulfato triptosa.

CUADRO 2

Ingrediente	Medio de concentración 1,5		Medio de concentración sencilla	
Triptosa	30,0	g	20,0	g
Lactosa	7,5	g	5,0	g
Fosfato dipotásico	4,125	g	2,75	g
Fosfato monopotásico	4,125	g	2,75	g
Cloruro de sodio	7,50	g	5,0	g
Lauril sulfato de sodio	0,15	g	0,1	g
Agua destilada	1000,0	ml	1000,0	ml

Disolver los componentes en 1 l de agua, calentando si es necesario o el medio de cultivo completo deshidratado, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ajustar el pH de tal manera que después de la esterilización éste sea de $6,8 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos con dimensiones de 16 x 160 mm el medio de concentración sencilla y de 20 ml en tubos de 20 x 200 mm el medio de concentración 1,5, cada tubo debe tener campana de fermentación.

Esterilizar en autoclave por 15 minutos a $121 \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se recomienda almacenar el medio una vez preparado.

Las campanas de fermentación no deben de contener burbujas de aire después de la esterilización.

Se puede utilizar una concentración doble del medio de cultivo, en cuyo caso se emplearán 10 ml de caldo preparado, cuando se agreguen 10 ml de muestra.

6.1.2.3 Caldo lactosa bilis verde brillante

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES	
Peptona	10,0	g
Lactosa	10,0	g
Sales biliares	20,0	g
Verde brillante	0,0133	g
Agua	1,0	l

Disolver los componentes o el medio completo deshidratado en agua, calentar si es necesario.

Ajustar el pH, de tal manera que después de la esterilización éste sea de 7,2 a 25 °C.

Distribuir el medio en cantidades de 10 ml en tubos de 16 X 160 mm conteniendo campana de fermentación.

Esterilizar en autoclave por 15 minutos a $121 \pm 1,0$ °C.

Las campanas de fermentación no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.

6.2 Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 11 y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Tubos de cultivo 20 x 200 mm y de 16 x 160 mm con tapones metálicos o de rosca.

Campanas de fermentación (tubos de Durham).

Pipetas bacteriológicas graduadas de 10 y 1 ml.

Gradillas.

Asa de platino o nicromel de aproximadamente 3 mm de diámetro.

Todo el material que tenga contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 horas a 170 a 175 °C o 1 h a 180 °C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0$ °C.

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

7. Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170 °C.

Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0$ °C, provista con termómetro calibrado.

Termómetro de máximas y mínimas.

Autoclave que alcance una temperatura mínima de $121 \pm 1,0$ °C.

Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25 °C.

8. Preparación de la muestra

Las muestras deben prepararse y diluirse, siempre que sea posible, de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

9. Procedimiento

9.1 Para agua potable y hielo

9.1.1 Prueba presuntiva

9.1.1.1 Inoculación. Agitar la muestra. Transferir volúmenes de 10 ml de muestra a cada uno de 5 tubos con 20 ml de caldo lactosado de mayor concentración y 1,0 ml y 0,1 ml de muestra a cada uno de los tubos de las series de 5 respectivamente con 10 ml de caldo lactosado de concentración sencilla o caldo lauril sulfato triptosa con púrpura de bromocresol. (Ver punto 6.1.2)

9.1.1.2 Incubación. Incubar los tubos a 35 °C. Examinar a las 24 ± 2 h y observar si hay formación de gas o la formación de gas no se observa en este tiempo, incubar por 48 ± 2 h.

9.1.2 Prueba confirmativa

De cada tubo que muestre formación de gas, tomar una azada y sembrar en un número igual de tubos con medio de confirmación, caldo lactosa lauril bilis verde brillante. Incubar a $35 \pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas o si la formación de gas no se observa en este tiempo, incubar por 48 ± 2 horas.

En esta Norma Oficial Mexicana, para el análisis de agua potable, agua purificada así como hielo, se emplea la serie de 5 tubos inoculados, 5 tubos con 10 ml, 5 tubos con 1 ml y 5 tubos con 0,1 ml, veáse el cuadro 4.

9.2 Para alimentos.

Preparar suficiente número de diluciones para asegurar que todos los tubos correspondientes a la última dilución rindan un resultado negativo.

9.2.1 Prueba presuntiva

9.2.1.1 Inoculación. Tomar tres tubos de medio de enriquecimiento de mayor concentración. Usar una pipeta estéril para transferir a cada tubo 10 ml de la muestra si es líquida o 10 ml de la dilución primaria inicial, en el caso de otros productos.

9.2.1.1.1 Tomar tres tubos de concentración sencilla del medio selectivo de enriquecimiento. Usar una pipeta estéril para transferir a cada uno de estos tubos 1 ml de la muestra si es líquida o 1 ml de la dilución primaria en el caso de otros productos.

9.2.1.1.2 Para las diluciones subsecuentes, continuar como se indica en el párrafo anterior, usando una pipeta diferente para cada dilución. Mezclar suavemente el inóculo con el medio.

9.2.1.2 Incubación. Incubar los tubos a $35 \pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas y observar si hay formación de gas, en caso contrario prolongar la incubación hasta 48 ± 2 horas.

9.2.2 Prueba confirmativa

De cada tubo que muestre formación de gas, tomar una azada y sembrar en un número igual de tubos con medio de confirmación. Incubar a $35 \pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas o si la formación de gas no se observa en este tiempo, prolongar la incubación por 48 ± 2 horas.

En esta Norma Oficial Mexicana se considera una combinación de tres tubos por cada dilución de la serie. Para algunos productos y siempre que se requiera una mayor precisión en los resultados, será necesario inocular una serie de cinco o diez tubos.

10. Expresión de los resultados

Tomar la serie de tubos de la prueba confirmativa que dé formación de gas después del periodo de incubación requerido y buscar el NMP en los cuadros correspondientes.

El cuadro 3 muestra algunos ejemplos que se pueden presentar.

Ejemplos: Ejemplo 1. Cuando sólo una dilución muestra tres tubos positivos, elegir ésta y las diluciones mayores posteriores.

Ejemplo 2. Cuando más de una dilución muestra tres tubos positivos y la última da menos de tres, elegir esta última y las dos diluciones anteriores más bajas.

Ejemplo 3. Cuando en ninguna dilución hay tres tubos positivos y éstos se encuentran en más de tres diluciones, seleccionar las dos diluciones mayores positivas y la siguiente.

Ejemplos 4 y 5. Cuando los tubos positivos sólo se encuentran en la muestra sin diluir (10 ml o 1 g) y en la primera dilución (1 ml o 10^{-1} g), seleccionar las tres primeras diluciones para el cálculo del número más probable.

En cada caso se obtiene un número de tres cifras, lo cual es representado en los cuadros 4 al 7, según corresponda. En la columna que indica el número de tubos positivos se busca el índice del NMP.

La técnica de NMP puede admitir gran cantidad de variaciones. Los resultados obtenidos con esta técnica deben ser utilizados con precaución. Los límites de confianza están representados en los cuadros 4 al 7. Por ejemplo, para una muestra sólida con un NMP de 70 coliformes por gramo, los límites de confianza en el 95% de los casos variarán de 10 a 230 coliformes por gramo (ejemplo 3 del cuadro 3) y en un producto con 24 de NMP de coliformes por gramo, los límites de confianza son de 3,6 a 130 coliformes por gramo (ejemplo 2 cuadro 3).

CUADRO 3.- Ejemplos de la selección de resultados positivos para el cálculo del NMP.

		Número de tubos positivos obtenidos de tres					NMP			
E	tubos incubados, para las siguientes cantidades									
J	de muestra inoculada por tubo									
E	Producto									
M	líquido (ml)	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	Producto	Otros		
P										
L	Otros									
O	productos (g)	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	líquido	productos		
mayor dilución = menor concentración										
							ml ⁻¹	g ⁻¹		
1		3	<u>3</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	0	15 (5)	150 (6)		
2		3	<u>3</u>	<u>3</u>	0		24 (5)	240 (6)		
3		2	2	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>0</u>	7 (6)	70 (7)		
4		<u>3</u>	<u>3</u>	<u>0</u>	0	0	2,4 (4)	24 (5)		
5		<u>2</u>	<u>2</u>	<u>0</u>	1	0	0,21 (4)	2,1 (5)		

CUADRO 4. Índice del NMP y límites de confianza 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando son usados varios números de tubos. (Diluciones 10, 1,0 y 0,1 g)

combinación de positivos	índice del NMP por g	3 tubos por dilución		5 tubos por dilución		
		95% Límites de confianza		índice del NMP por g	95% Límites de confianza	
		bajo	alto		bajo	alto
0-0-0	<0,03	<0,005	<0,09	<0,02	<0,005	<0,07
0-0-1	0,03	<0,005	<0,09	0,02	<0,005	0,07
0-1-0	0,03	<0,005	0,13	0,02	<0,005	0,07
0-2-0	--	--	--	0,04	<0,005	0,11
1-0-0	0,04	<0,005	0,20	0,02	<0,005	0,07
1-0-1	0,07	0,01	0,21	0,04	<0,005	0,11
1-1-0	0,07	0,01	0,23	0,04	<0,005	0,11
1-1-1	0,11	0,03	0,36	0,06	<0,005	0,15
1-2-0	0,11	0,03	0,36	0,06	<0,005	0,15
2-0-0	0,09	0,01	0,36	0,05	<0,005	0,13
2-0-1	0,14	0,03	0,37	0,07	0,01	0,17
2-1-0	0,15	0,03	0,44	0,07	0,01	0,17
2-1-1	0,20	0,07	0,89	0,09	0,02	0,21
2-2-0	0,21	0,04	0,47	0,09	0,02	0,21
2-2-1	0,28	0,10	1,50	--	--	--
2-3-0	--	--	--	0,12	0,03	0,28
3-0-0	0,23	0,04	1,20	0,08	0,01	0,19
3-0-1	0,39	0,07	1,3	0,11	0,02	0,25

3-0-2	0,64	0,15	3,80	--	--	--
3-1-0	0,43	0,07	2,1	0,11	0,02	0,25
3-1-1	0,75	0,14	2,3	0,14	0,04	0,34
3-1-2	1,20	0,30	3,8	--	--	--
3-2-0	0,93	0,15	3,80	0,14	0,04	0,34
3-2-1	1,50	0,30	4,40	0,17	0,05	0,46
3-2-2	2,10	0,35	4,70	--	--	--
3-3-0	2,40	0,36	13,0	--	--	--
3-3-1	4,60	0,71	24,0	--	--	--
3-3-2	11,0	1,50	48,0	--	--	--
3-3-3	>11,0	>1,50	>48,0	--	--	--
4-0-0	--			0,13	0,03	0,31
4-0-1	--			0,17	0,05	0,46
4-1-0	--			0,17	0,05	0,46
4-1-1	--			0,21	0,07	0,63
4-1-2	--			0,26	0,09	0,78
4-2-0	--			0,22	0,07	0,67
4-2-1	--			0,26	0,09	0,78
4-3-0	--			0,27	0,09	0,80
4-3-1	--			0,33	0,11	0,93
4-4-0	--			0,34	0,12	0,93
5-0-0	--			0,23	0,07	0,70
5-0-1	--			0,31	0,11	0,89
5-0-2	--			0,43	0,15	1,14
5-1-0	--			0,33	0,11	0,93
5-1-1	--			0,46	0,16	1,2
5-1-2	--			0,63	0,21	1,5
5-2-0	--			0,49	0,17	1,3
5-2-1	--			0,70	0,23	1,70
5-2-2	--			0,94	0,28	2,2
5-3-0	--			0,79	0,25	1,9
5-3-1	--			1,10	0,31	2,5
5-3-2	--			1,4	0,37	3,4
5-3-3	--			1,80	0,44	5,0
5-4-0	--			1,30	0,35	3,0
5-4-1	--			1,70	0,43	4,9
5-4-2	--			2,20	0,57	7,0
5-4-3	--			2,80	0,90	8,5
5-4-4	--			3,50	1,20	10,0

5-5-0	--	2,40	0,68	7,5
5-5-1	--	3,50	1,60	10,0
5-5-2	--	5,40	1,80	14,0
5-5-3	--	9,20	3,0	32,0
5-5-4	--	16,09	6,40	58,0
5-5-5	--	--	--	--

CUADRO 5. Índice del NMP y límites de confianza 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando son usados varios números de tubos. (Diluciones 1,0, 0,1 y 0,01 g)

combinación de positivos	3 tubos por dilución			5 tubos por dilución		
	índice del NMP por g	95% Límites de confianza		índice del NMP por g	95% Límites de confianza	
		bajo	alto		bajo	alto
0-0-0	<0,3	<0,05	<0,9	<0,2	<0,05	<0,7
0-0-1	0,3	<0,05	<0,9	0,2	<0,05	0,7
0-1-0	0,3	<0,05	1,3	0,2	<0,05	0,7
0-2-0	--	--	--	0,4	<0,05	0,11
1-0-0	0,4	<0,05	2,0	0,2	<0,05	0,7
1-0-1	0,7	0,1	2,0	0,4	<0,05	1,1
1-1-0	0,7	0,1	2,3	0,4	<0,05	1,1
1-1-1	1,1	0,3	3,6	0,6	<0,05	1,5
1-2-0	1,1	0,3	3,6	0,6	<0,05	1,5
2-0-0	0,9	0,1	3,6	0,5	<0,05	1,3
2-0-1	1,4	0,3	3,7	0,7	0,1	1,7
2-1-0	1,5	0,3	4,4	0,7	0,1	1,7
2-1-1	2,0	0,7	8,9	0,9	0,2	2,1
2-2-0	2,1	0,4	4,7	0,9	0,2	2,1
2-2-1	2,8	1,0	15,0	--	--	--
2-3-0	--	--	--	1,2	0,3	2,8
3-0-0	2,3	0,4	12,0	0,8	0,1	1,9
3-0-1	3,9	0,7	13,0	1,1	0,2	2,5
3-0-2	6,4	1,5	38,0	--	--	--
3-1-0	4,3	0,7	21,0	1,1	0,2	2,5
3-1-1	7,5	1,4	23,0	1,4	0,4	3,4
3-1-2	12,0	3,0	38,0	--	--	--
3-2-0	9,3	1,5	38,0	1,4	0,4	3,4
3-2-1	15,0	3,0	44,0	1,7	0,5	4,6
3-2-2	21,0	3,5	47,0	--	--	--
3-3-0	24,0	3,6	130,0	--	--	--
3-3-1	46,0	7,1	240,0	--	--	--
3-3-2	110,0	15,0	480,0	--	--	--

3-3-3	>110,0	>15,0	>480,0	--	--	--
4-0-0	--			1,3	0,3	3,1
4-0-1	--			1,7	0,5	4,6
4-1-0	--			1,7	0,5	4,6
4-1-1	--			2,1	0,7	6,3
4-1-2	--			2,6	0,9	7,8
4-2-0	--			2,2	0,7	6,7
4-2-1	--			2,6	0,9	7,8
4-3-0	--			2,7	0,9	8,0
4-3-1	--			3,3	1,1	9,3
4-4-0	--			3,4	1,2	9,3
5-0-0	--			2,3	0,7	7,0
5-0-1	--			3,1	1,1	8,9
5-0-2	--			4,3	1,5	11,4
5-1-0	--			3,3	1,1	9,3
5-1-1	--			4,6	1,6	12,0
5-1-2	--			6,3	2,1	15,0
5-2-0	--			4,9	1,7	13,0
5-2-1	--			7,0	2,3	17,0
5-2-2	--			9,4	2,8	22,0
5-3-0	--			7,9	2,5	19,0
5-3-1	--			11,0	3,1	25,0
5-3-2	--			14,0	3,7	34,0
5-3-3	--			18,0	4,4	50,0
5-4-0	--			13,0	3,5	30,0
5-4-1	--			17,0	4,3	49,0
5-4-2	--			22,0	5,7	70,0
5-4-3	--			28,0	9,0	85,0
5-4-4	--			35,0	12,0	100,0
5-5-0	--			24,0	6,8	75,0
5-5-1	--			35,0	12,0	100,0
5-5-2	--			54,0	18,0	140,0
5-5-3	--			92,0	30,0	320,0
5-5-4	--			161,0	64,0	580,0
5-5-5	--			>161,0	>64,0	>580,0

CUADRO 6. Índice del NMP y límites de confianza 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando son usados varios números de tubos. (Diluciones 0,1, 0,01 y 0,001 g)

combinación de	3 tubos por dilución		5 tubos por dilución	
	índice del NMP	95% Límites de confianza	índice del NMP	95% Límites de confianza

positivos	por g	bajo	alto	por g	bajo	alto
0-0-0	<3	<0,5	<9	<2	<0,5	<7
0-0-1	3	<0,5	9	2	<0,5	7
0-1-0	3	<0,5	13	2	<0,5	7
0-2-0	--	--	--	4	<0,5	11
1-0-0	4	<0,5	20	2	<0,5	7
1-0-1	7	1	21	4	<0,5	11
1-1-0	7	1	23	4	<0,5	11
1-1-1	11	3	36	6	<0,5	15
1-2-0	11	3	36	6	<0,5	15
2-0-0	9	1	36	5	<0,5	13
2-0-1	14	3	37	7	1,0	17
2-1-0	15	3	44	7	1,0	17
2-1-1	20	7	89	9	2,0	21
2-2-0	21	4	47	9	2,0	21
2-2-1	28	10	150	--	--	--
2-3-0	--	--	--	12	3,0	28
3-0-0	23	4	120	8	1,0	19
3-0-1	39	7	13	11	2,0	25
3-0-2	64	15	380	--	--	--
3-1-0	43	7	210	11	2,0	25
3-1-1	75	14	230	14	4,0	34
3-1-2	120	30	380	--	--	--
3-2-0	93	15	380	14	4,0	34
3-2-1	150	30	440	17	5,0	46
3-2-2	210	35	470	--	--	--
3-3-0	240	36	130	--	--	--
3-3-1	460	71	240	--	--	--
3-3-2	1100	150	480	--	--	--
3-3-3	>1100	>150	>480	--	--	--
4-0-0	--	--	--	13	3,0	31
4-0-1	--	--	--	17	5,0	46
4-1-0	--	--	--	17	5,0	46
4-1-1	--	--	--	21	7,0	63
4-1-2	--	--	--	26	9,0	78
4-2-0	--	--	--	22	7,0	67
4-2-1	--	--	--	26	9,0	78
4-3-0	--	--	--	27	9,0	80
4-3-1	--	--	--	33	11,0	93

4-4-0	--	34	12,0	93
5-0-0	--	23	7,0	70
5-0-1	--	31	11,0	89
5-0-2	--	43	15,0	114
5-1-0	--	33	11,0	93
5-1-1	--	46	16,0	120
5-1-2	--	63	21,0	150
5-2-0	--	49	17,0	130
5-2-1	--	70	23,0	170
5-2-2	--	94	28,0	220
5-3-0	--	79	25,0	190
5-3-1	--	110	31,0	250
5-3-2	--	140	37,0	340
5-3-3	--	180	44,0	500
5-4-0	--	130	35,0	300
5-4-1	--	170	43,0	490
5-4-2	--	220	57,0	700
5-4-3	--	280	90,0	850
5-4-4	--	350	120,0	1000
5-5-0	--	240	68,0	750
5-5-1	--	350	120,0	1000
5-5-2	--	540	180,0	1400
5-5-3	--	920	300,0	3200
5-5-4	--	1600	640,0	5800
5-5-5	--	>1600	>640,0	>5800

CUADRO 7. Índice del NMP y límites de confianza 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando son usados varios números de tubos. (Diluciones 0,01, 0,001 y 0,0001 g)

combinación de positivos	3 tubos por dilución			5 tubos por dilución		
	índice del NMP por g	95% Límites de confianza		índice del NMP por g	95% Límites de confianza	
		bajo	alto		bajo	alto
0-0-0	<30	<5	<90	<20	<5	<70
0-0-1	30	<5	<90	20	<5	70
0-1-0	30	<5	130	20	<5	70
0-2-0	--	--	--	40	<5	110
1-0-0	40	<5	200	20	<5	70
1-0-1	70	10	210	40	<5	110
1-1-0	70	10	230	40	<5	110
1-1-1	110	30	360	60	<5	150
1-2-0	110	30	360	60	<5	150

2-0-0	90	10	360	50	<5	130
2-0-1	140	30	370	70	10	170
2-1-0	150	30	440	70	10	170
2-1-1	200	70	890	90	20	210
2-2-0	210	40	470	90	20	210
2-2-1	280	100	1500	--	--	--
2-3-0	--	--	--	120	30	280
3-0-0	230	40	1200	80	10	190
3-0-1	390	70	1300	110	20	250
3-0-2	640	150	3800	--	--	--
3-1-0	430	70	2100	110	20	250
3-1-1	750	140	2300	140	40	340
3-1-2	1200	300	3800	--	--	--
3-2-0	930	150	3800	140	40	340
3-2-1	1500	300	4400	170	50	460
3-2-2	2100	350	4700	--	--	--
3-3-0	2400	360	13000	--	--	--
3-3-1	4600	710	24000	--	--	--
3-3-2	11000	1500	48000	--	--	--
3-3-3	>11000	>1500	>48000	--	--	--
4-0-0	--			130	30	310
4-0-1	--			170	50	460
4-1-0	--			170	50	460
4-1-1	--			210	70	630
4-1-2	--			260	90	780
4-2-0	--			220	70	670
4-2-1	--			260	90	780
4-3-0	--			270	90	800
4-3-1	--			330	110	930
4-4-0	--			340	120	930
5-0-0	--			230	70	700
5-0-1	--			310	110	890
5-0-2	--			430	150	1140
5-1-0	--			330	110	930
5-1-1	--			460	160	1200
5-1-2	--			630	210	1500
5-2-0	--			490	170	1300
5-2-1	--			700	230	1700
5-2-2	--			940	280	2200

5-3-0	--	790	250	1900
5-3-1	--	1100	310	2500
5-3-2	--	1400	370	3400
5-3-3	--	1800	440	5000
5-4-0	--	1300	350	3000
5-4-1	--	1700	430	4900
5-4-2	--	2200	570	7000
5-4-3	--	2800	900	8500
5-4-4	--	3500	1200	10000
5-5-0	--	2400	680	7500
5-5-1	--	3500	1200	10000
5-5-2	--	5400	1800	14000
5-5-3	--	9200	3000	32000
5-5-4	--	16000	6400	58000
5-5-5	--	>16000	>6400	>58000

11. Informe de la prueba

Informar "Número más probable (NMP) de coliformes por gramo o mililitro de muestra".

En caso de muestras de agua informar NMP/100 ml.

12. Concordancia con normas internacionales

Esta norma no tiene concordancia con normas internacionales.

13. Bibliografía

13.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

13.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-008-SCFI-1993. Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.

13.5 Bacteriological Analytical Manual. 1984. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. 6a Ed. Washington, D.C.

13.6 Norma ISO 4831 2a. 1991. Microbiology - General guidance for the enumeration of coliforms - Most probable number technique. International Organization for Standardization.

13.7 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NORMA-Z-013/02. 1981. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas.

13.8 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1989. American Public Health Association. APHA-WWA-WPCF. 17o. Ed. Washington D.C.

13.9 Vanderzant F., Carland S. y Don F. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. Washington, D.C.

14. Observancia de la norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente norma corresponde a la Secretaría de Salud.

15. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatorio a los 30 días siguientes a partir de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General, **José Meljem Moctezuma**.- Rúbrica.