

**Universidad Nacional Abierta y a Distancia**

**Vicerrectoría Académica y de Investigación**

**Guía de aprendizaje para el desarrollo del componente práctico del curso**  
(Control de la Contaminación de los Alimentos 303039)

**1. Información general del componente práctico.**

**Tabla 1.** *Información general del componente práctico*

<b>Aspecto</b>	<b>Descripción</b>
<b>1. Estrategia metodológica</b>	Tarea
<b>2. Tipología de curso</b>	<b>Metodológico</b>
<b>3. Momento de la evaluación</b>	<b>Intermedio</b>
<b>4. Puntaje de la actividad</b>	<b>90</b>
<b>5. Número de actividades del componente registradas en esta guía</b>	<b>16</b>
<b>6. Horas de trabajo independiente del estudiante</b>	<b>30</b>
<b>7. Horas de acompañamiento docente</b>	<b>16</b>
<b>8. Tipo de práctica formativa</b>	<b>De Laboratorio</b>

**2. Con esta/s actividad/es de componente práctico se espera que los estudiantes logren y evidencien el/los siguientes resultado/s de aprendizaje:**

*Evaluar las condiciones de calidad e inocuidad de los alimentos*

### 3. Descripción general de la(s) actividad(es) del componente práctico.

**Tabla 2.** Información actividad 1

Aspecto	Descripción
<b>1. Escenarios de componente práctico</b>	<b>Físico</b>
<b>2. Tipo de actividad</b>	Colaborativa
<b>3. Número de actividad</b>	2
<b>4. La actividad inicia el:</b>	lunes, 17 de febrero de 2025
<b>5. La actividad finaliza el:</b>	domingo, 11 de mayo de 2025

**Los recursos con los que debe contar para el desarrollo de la actividad son los siguientes:**

#### 1. Elementos necesarios para la práctica

##### 1.1. Protección personal

- Bata de laboratorio manga larga
- Zapatos cerrados
- Guantes
- Tapabocas
- Cofia

##### 1.2. Reactivos

- Medio de cultivo Eosina Azul de Metileno (EMB)<sup>1</sup>
- Medio de cultivo Saboraud (AS)<sup>1</sup>
- Medio de cultivo Baird Parker (BP)<sup>1</sup>
- Medio de cultivo Agar Nutritivo (AN)<sup>2</sup>
- Medio de cultivo Agar McConkey (MC)<sup>2</sup>
- Agua peptonada 0.1%<sup>3</sup>
- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Alcohol 95%
- Solución salina

- Muestras de alimentos

<sup>1</sup> Aproximadamente 500 mL para cada grupo de trabajo

<sup>2</sup> Aproximadamente 150 mL para cada grupo de trabajo

<sup>3</sup> Aproximadamente 200 mL para cada grupo de trabajo

### 1.3. Materiales y equipos\*

- Hisopos estériles (3)
- Cajas Petri (33)
- Mechero de alcohol (1)
- Asa bacteriológica de punta redonda (3)
- Tubos de ensayo estériles (10)
- Tapones tubos de ensayo estériles (10)
- Pipetas de 100 mL (1)
- Vidrio de reloj (1)
- Espátula (1)
- Marcador Sharpie de punta fina (1)
- Portaobjetos (3)
- Cubreobjetos (3)
- Cinta para rotular (1)
- Regla o cinta métrica (1)
- Balanza analítica (1)
- Microscopio (1)
- Incubadora (1)

## 2. Preparación medios de cultivo

- **Medio de cultivo Eosina Azul de Metileno (EMB):** Suspender 36 gramos del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos y después calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Disponer en cajas de Petri estériles y conservar a temperatura ambiente.
- **Medio de cultivo Saboraud (AS):** Suspender 42 gramos del medio en 1000 mL de agua destilada. Esperar 5 minutos, luego mezcle hasta que se obtenga una suspensión homogénea. Después caliente suavemente, agitando con frecuencia y lleve hasta ebullición para lograr dilución completa. Esterilice en la autoclave a 121°C durante 20 minutos y dispense en tubos o en placas de Petri.
- **Medio de cultivo Baird Parker (BP):** Suspender 63.8 gramos del medio en 1000 mL

de agua destilado. Dejar en reposo 5 a 10 minutos y después calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto, hasta disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°C-50°C.

- **Medio de cultivo Agar Nutritivo (AN):** Suspender 31 gramos del medio en 1000 mL de agua destilada. Mezclar y dejar reposar 5 minutos. Después calentar y agitar frecuentemente y hervir 1 o 2 minutos hasta su disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
- **Medio de cultivo agar McConkey (MC):** Suspender 50 gramos del cultivo en 1 litro de agua destilada. Después calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición 1 a 2 minutos hasta disolver completamente. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

### 3. Seguimiento a microorganismos en el ambiente

- Seleccione como ambiente de trabajo cualquier sitio o dependencia de la universidad el mismo día de la práctica. Puede elegir puntos para este análisis como el baño, laboratorio y recepción (Pueden considerar pertinente elegir otros sitios de trabajo y/o análisis. Modificar la información de los sitios en las tablas 1 y 2).
- Exponga cada una las placas con los medios de cultivo EMB, BP, AS, durante un periodo de 15 minutos.
- Después incube las placas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  en posición invertida durante 24 a 48 horas
- Para el medio de cultivo AS incube la placa a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 75 horas.
- En la segunda sesión cuente el número de colonias en cada placa y registre los resultados en la tabla 1.
- Calcule el número de microorganismos que caen por  $\text{cm}^2$  durante 1 minuto con la ecuación 1 y los datos de la tabla 1.

Nota. Se recomienda para la preparación de los reactivos revisar las recomendaciones del proveedor de cada medio de cultivo y ajustar las cantidades de acuerdo con los requerimientos de la práctica

**Libreta de apuntes.**

**Tabla 3.** Resultados de análisis microbiológico a microorganismos en el ambiente.

Tiempo de exposición (min)				
Sitio	Medio de cultivo	Número de colonias (NC)	Área de la placa (cm <sup>2</sup> )	Resultado flujo microbiano (NC/cm <sup>2</sup> *min)
Lugar 1	BP			
	EMB			
Lugar 2	BP			
	EMB			
Lugar 3	BP			
	EMB			

**Tabla 4.** Resultados de análisis microbiológico para hongos en el ambiente.

Tiempo de exposición (min)				
Sitio	Medio de cultivo	Ausencia (X)	Presencia (X)	Observaciones (Breve descripción del tipo de hongos, según su coloración, formas)
Lugar 1	AS			
Lugar 2	AS			

<b>Lugar 3</b>	AS			
----------------	----	--	--	--

#### 4. Seguimiento a microorganismos en superficies

Revisar vídeo con explicación sobre toma de muestras en las superficies:  
[https://www.youtube.com/watch?v=VuV22w0fKP8&t=6s&ab\\_channel=LaboratorioINLASAGT](https://www.youtube.com/watch?v=VuV22w0fKP8&t=6s&ab_channel=LaboratorioINLASAGT)

- A. Definir los sitios donde se van a tomar las muestras (Puede tomar las muestras en la cafetería de la universidad, mesón de laboratorio u escritorio de oficina).
- B. Delimitar la superficie con cinta para rotular. Medir cada lado y calcular el área del lugar.
- C. Tome el hisopo estéril y humedézcalo con agua peptonada y proceda a realizar el frotis sobre la superficie a evaluar, en por lo menos dos direcciones distintas, rotándolo ligeramente.
- D. Nota. Utilice un hisopo diferente para realizar la siembra en cada medio de cultivo.
- E. Sembrar en cada medio de cultivo como se indica a continuación:
  - i. **Agar AS:** Siembra directa por estría.
  - ii. **Agar BP:** Siembra directa por estría.
  - iii. **Agar EMB:** Sembrar la muestra de ensayo por estría cruzada.
- F. Incubar a 37°C por 24 a 48 horas y a una temperatura de 25°C por un tiempo de 72 horas para los cultivos de hongos (Sabouraud).
- G. Realizar el conteo de colonias en la segunda sesión de la práctica.
- H. Registrar todos los resultados en las tablas 3 y 4. No olvidar registro fotográfico para el informe.
- I. Repetir el procedimiento después de desinfectar las superficies con alcohol o con solución de hipoclorito de sodio.
- J. Calcular el número de microorganismos por área para los resultados de la tabla 3.

Nota. Para los datos de la tabla 4, no es necesario estimar la carga de hongos, únicamente indicar ausencia y/o presencia. Explicar los resultados.

**Tabla 5.** Resultados de análisis microbiológico a microorganismos en superficies.

Sitio	Medios de cultivo	Desinfección		Números de colonias (NC)	Área toma de muestras (cm <sup>2</sup> )
		Si (X)	No (X)		
Lugar 1	BP				
	BP				
	EMB				
	EMB				
Lugar 2	BP				
	BP				
	EMB				
	EMB				
Lugar 3	BP				
	BP				
	EMB				
	EMB				

**Tabla 6.** Resultados de análisis microbiológico a microorganismos en superficies.

Sitio	Medios de cultivo	Desinfección		Presencia	Ausencia	Observaciones
		Si (X)	No (X)			
Lugar 1	AS					
	AS					
Lugar 2	AS					

	AS					
Lugar 3	AS					
	AS					

## 5. Análisis microbiológico de alimentos

### 5.1. Procedimiento para la toma de muestras

- El estudiante debe llevar la muestra al laboratorio. Se recomienda llevar muestras de alimentos que venden en vía pública o que el estudiante reconoce con un potencial de riesgo para el consumidor.
- Comprar el alimento el día anterior o el mismo día y refrigerar.

### 5.2. Procedimiento para la determinación analítica y cuantificación de microorganismos

Al iniciar el laboratorio se deben mantener todas las condiciones de asepsia. Para ello deben utilizar siempre el material esterilizado y trabajar muy cerca al mechero de alcohol.

- Ubicar la muestra del alimento y los demás materiales necesarios para la práctica al frente del mechero encendido, con la finalidad de no contaminar la muestra ni los materiales.
- Tomar un peso aproximado de 10 gramos de la muestra si es un producto sólido o 10 mL si es un producto líquido.
- Si la muestra de alimento es sólida se debe abrir la muestra cerca al mechero y con ayuda del vidrio de reloj y la espátula pesar en la báscula una muestra de 10 gramos del alimento.
- Si la muestra es líquida medir las cantidades cerca del mechero.
- Medir 90 mL de la solución peptonada y adicionar a la muestra sólida (10g) o líquida (10 mL). Homogenizar.
- A partir de la solución anterior preparar diluciones para siembra  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$ .
- Siembre las muestras de todas las diluciones, tanto en el agar nutritivo como en el agar McConkey.
- Puede sembrar 0.1 mL de muestra de cada tubo de forma extendida o por el método de estría. Se recomienda siembra por estría por cuadrantes.  
Tapar la caja de Petri y rotular cada caja, con el nombre o código del grupo y la dilución a la que corresponde.

- Incubar todas las cajas de Petri con agar AN y AMC a 37°C durante 48 – 72 horas.
- Flamear el asa antes de dejarla sobre el mesón.

### 5.3. Observación y Conteo: Sesión 2

Los estudiantes por grupos de trabajo deben asistir a la segunda sesión de práctica de laboratorio de acuerdo con el lugar, fecha y hora preestablecidos con el tutor.

- Por grupos de trabajo reciba las cajas de Petri, verifique que la información coincida con la de su grupo.
  - Revise el crecimiento bacteriano
  - Realice un conteo de morfotipos (colonias similares).
  - Elija 1 colonia del morfotipo más abundante
- Utilice el método de conteo de células viables que se expresa en unidades formadoras de colonia (UFC) en cada una de las secciones en las que realizó la siembra, utilice el rango de 25 a 250 colonias. Aquellas secciones que tengan más de 250 colonias se deben reportar como incontables.
  - Realice conteo de colonias (UFC) y repórtelos en la tabla 7.

**Tabla 7.** Resultados de los análisis microbiológicos a los alimentos.

Muestra	Dilución	Conteo AN (NC)	Conteo AMC (NC)	Densidad microbiana (NC/mL o gramo)
<b>Agar nutritivo (AN)</b>	10 <sup>-1</sup>			
	10 <sup>-3</sup>			
	10 <sup>-5</sup>			
<b>Agar McConkey (MC)</b>	10 <sup>-1</sup>			
	10 <sup>-3</sup>			
	10 <sup>-5</sup>			

- Recuerde que para este método es necesario aplicar la siguiente fórmula para obtener el No. de UFC/ml.

**Nota.** Si la muestra es sólida, revisar y calcular la densidad microbiana en función del número de colonias por gramo de alimento.

#### 5.4. Tinción de Gram (opcional)

- En la lámina de vidrio colocar una gota de solución salina
- Del medio de cultivo Agar Nutritivo tomar parte de las colonias y extender sobre la solución salina. Se recomienda tomar asépticamente con el filamento una pequeña muestra del cultivo sólido.
  - Dejar secar la lámina a temperatura ambiente.
- Fijar la muestra extendida a la lámina utilizando calor. Es necesario pasar la lámina por el mechero. No se debe calentar mucho.
- Colocar la lámina extendida y fijada en una bandeja adecuada y cubrir su superficie con el reactivo de cristal violeta por un minuto.
- Después lavar con agua destilada y escurrir.
- Cubrir la superficie de la lámina con la solución de Lugol por un minuto. Lavar con agua destilada y escurrir.
- Colocar cada una de las láminas en posición inclinada y decolorarlas con alcohol a 95° hasta que el color libre deje de salir. Lavar con agua destilada y escurrir.
- Cubrir las láminas con safranina por 30 segundos. Lavar con agua destilada y escurrir.
- Secar las láminas utilizando papel absorbente.
- Colocar una gota de aceite de inmersión sobre las láminas teñidas y secas y examinarlas bajo un microscopio de luz, utilizando el objetivo de inmersión (90X-100X).
- Puede repetirse este procedimiento para las colonias del agar McConkey.

#### 6. Análisis microbiológico a manipuladores (opcional)

- Tome las manos y uñas de cada uno de los manipuladores y frótelas directamente en las cajas de Agar EMB, BP y AS. Pueden ser los trabajadores de la cafetería o los compañeros de laboratorio.
- También se pueden realizar barridos con hisopos estériles impregnados con solución salina en los dedos y en las uñas.
- Selle las cajas y rotúlelas (antes del lavado de manos).
- Luego del lavado y desinfección de manos, realizar el mismo procedimiento.
- Incubar las cajas a 37°C por 24 a 48 horas y el análisis de hongos entre 48 a 72 horas.
- Realizar el recuento de las colonias y registrar en las tablas 6 y 7. No olvidar registro fotográfico.
- Revisar el vídeo con la explicación toma de muestras manipuladores: [https://www.youtube.com/watch?v=9p8tV210ZSs&t=2s&ab\\_channel=Asebiol](https://www.youtube.com/watch?v=9p8tV210ZSs&t=2s&ab_channel=Asebiol)

**Tabla 8.** Resultados de análisis microbiológico a manipuladores.

Manipulador	Medios de cultivo	Número de colonias
Previa desinfección	BP	
	EMB	
Después de desinfección	BP	
	EMB	

**Tabla 9.** Resultados de análisis microbiológico a manipuladores (hongos).

Manipulador	Medios de cultivo	Ausencia (X)	Presencia (X)
Previa desinfección	AS		
Después de desinfección	AS		

## 7. Entrega del informe de laboratorio al docente de práctica

- Reúnase con su grupo de trabajo de laboratorio para desarrollar el informe de la práctica.
- Envíe el documento a su docente de práctica, según el medio que le haya indicado (por favor, no enviar a su docente de acompañamiento virtual).
- Por favor, revise el contenido que debe tener el informe en la parte inferior de esta guía en la parte de evidencias de trabajo grupal.
- Así mismo, revise y verifique los criterios de evaluación de la rúbrica, para cumplir a cabalidad con todos los lineamientos.

### La actividad consiste en:

Realizar toma de muestras para análisis microbiológico de indicadores de inocuidad.

### Evidencias de trabajo independiente:

Las evidencias de trabajo independiente para entregar son:

- Asistir a las dos sesiones del componente práctico del laboratorio.
- Participar junto a sus compañeros en la construcción del producto final y sustentación.

## Evidencias de trabajo grupal:

Las evidencias de trabajo grupal a entregar son:

- I. *Informe de trabajo en el laboratorio.* Documento en PDF que se entregará al docente de práctica con el siguiente contenido:
  - Portada con nombres y apellidos completos para los integrantes del grupo.
  - Resumen de la práctica
  - Diagrama de flujo para cada procedimiento
  - Tabla de resultados para cada procedimiento.
  - Análisis de resultados (apoyarse con el uso de gráficos de barras para los resultados obtenidos de flujo, carga y densidad microbiana para cada medio de cultivo). Usar el registro fotográfico para explicar los resultados obtenidos para hongos con el agar Sabouraud.
  - Conclusiones y recomendaciones.
  - Referencias bibliográficas.

## 5. Lineamientos generales para la elaboración de las evidencias

Para evidencias elaboradas **colaborativamente**, tenga en cuenta las siguientes orientaciones:

Todos los integrantes del grupo deben participar con sus aportes en el desarrollo de la actividad.

En cada grupo deben elegir un solo integrante que se encargará de entregar el producto solicitado en el entorno o escenario que haya señalado el docente.

Antes de entregar el producto solicitado deben revisar que cumpla con todos los requerimientos que se señalaron en esta guía de actividades de componente práctico.

Solo se deben incluir como autores del producto entregado, a los integrantes del grupo que hayan participado con aportes durante el tiempo destinado para la actividad.

Tenga en cuenta que todos los productos escritos independientes o grupales deben cumplir con las normas de ortografía y con las condiciones de presentación que se hayan definido.

En cuanto al uso de referencias considere que el producto de esta actividad debe cumplir con las normas Elija un elemento.

En cualquier caso, cumpla con las normas de referenciación y evite el plagio académico, para ello puede apoyarse revisando sus productos escritos mediante la herramienta Turnitin que encuentra en el campus virtual.

## **6. Situaciones de orden académico**

Considere que en el acuerdo 029 del 13 de diciembre de 2013, artículo 99, se considera como faltas que atentan contra el orden académico, entre otras, las siguientes: literal e) "El plagiar, es decir, presentar como de su propia autoría la totalidad o parte de una obra, trabajo, documento o invención realizado por otra persona. Implica también el uso de citas o referencias faltas, o proponer citas donde no haya coincidencia entre ella y la referencia" y liberal f) "El reproducir, o copiar con fines de lucro, materiales educativos o resultados de productos de investigación, que cuentan con derechos intelectuales reservados para la Universidad."

Las sanciones académicas a las que se enfrentará el estudiante son las siguientes:

- a) En los casos de fraude académico demostrado en el trabajo académico o evaluación respectiva, la calificación que se impondrá será de cero puntos sin perjuicio de la sanción disciplinaria correspondiente.
- b) En los casos relacionados con plagio demostrado en el trabajo académico cualquiera sea su naturaleza, la calificación que se impondrá será de cero puntos, sin perjuicio de la sanción disciplinaria correspondiente.