



## Resumen de las actividades

1. Introducción
2. Presentación sobre el conteo de colonias
3. Ejercicio de conteo de colonias
4. Demostración y práctica del conteo de colonias
5. Repaso

## Objetivos de aprendizaje

Cuando finalice esta sesión, los participantes serán capaces de:

1. Explicar la importancia del conteo de colonias para el ACAC.
2. Debatir sobre los factores fundamentales del conteo de colonias.
3. Aplicar técnicas adecuadas de conteo de colonias.

### Preparación y materiales

- Actividad: Conteo de colonias
- PowerPoint: Conteo de colonias
- Actividad: Ejercicio de conteo de colonias
- Apunte: Guía a color de Coliscan para el conteo de colonias; disponible al final de la lección (imprímala a color, una página; una copia por grupo).  
Nota: lo mejor sería imprimir la guía anticipadamente y plastificarla.
- Actividad: Demostración y práctica del conteo de colonias
- Placas de Petri incubadas en la práctica de análisis microbiológico
- Linterna, 1 por participante
- Lupa, 1 por participante
- Alcohol en gel, 2 botellas
- Desinfectante
- Toallas de papel
- Lejía
- Pipeta o cuentagotas de plástico
- Contador manual (opcional)
- Actividad: Repaso "La palabra del sombrero"

### Lecturas recomendadas

- Resumen técnico: Aspectos microbiológicos del agua de consumo

5 minutos

## Introducción



1. Pídales a los participantes que conversen sobre una forma en la que podrían agrupar a los participantes del taller. Después de 1 o 2 minutos, pídale que compartan sus ideas.
2. Pídales a los participantes que se agrupen siguiendo una de las sugerencias mencionadas.
3. Deles unos minutos para que lo hagan. Podrían agruparse:
  - Todas las mujeres y todos los hombres.
  - Todas las personas que tienen ropa similar (p. ej.: todas las que tienen una camiseta amarilla).
  - Todas las personas que comparten alguna característica (p. ej.: todas las personas altas o bajas).
  - Todas las personas que provengan de una región geográfica en común.
4. Explique que han formado una colonia.
5. Pregunte: "¿Qué es una colonia? ¿Alguien podría dar una definición?"
  - Un grupo, un conjunto, una sociedad, una agrupación, una población que tiene características en común.
  - Por ejemplo: colonia de hormigas, de abejas, de personas, de bacterias.
6. Presente los objetivos de aprendizaje o haga un resumen de la lección.

10 minutos

## Conteo de colonias



Use el archivo de PowerPoint "Conteo de colonias" para esta presentación.

1. Pregunte: "¿Cómo se usan las colonias para medir los niveles de bacterias que hay en una muestra de agua?".
2. Explique que cada colonia representa una bacteria de la muestra original, pero que no es posible ver esas bacterias individuales, por lo cual hacemos que proliferen en un medio de cultivo para poder contarlas.
3. Muestre el video del archivo de PowerPoint (opcional) "Cómo se forma una colonia" para mostrar cómo se crea una colonia de bacterias idénticas a partir de una única bacteria.
4. Explique: "Una colonia representa una bacteria en la muestra original aunque la colonia se haya multiplicado e incluya millones de bacterias después de la incubación".

5. Use el archivo de PowerPoint para explicar las características del medio de cultivo y mostrar técnicas de conteo de colonias (opcional).
6. Si no, use la siguiente tabla para abordar las características de algunos ejemplos de medio de cultivo.

### **Consejos para el capacitador**

Los medios de cultivo varían mucho y dependen de la disponibilidad.

Lea detenidamente las especificaciones e instrucciones del fabricante.

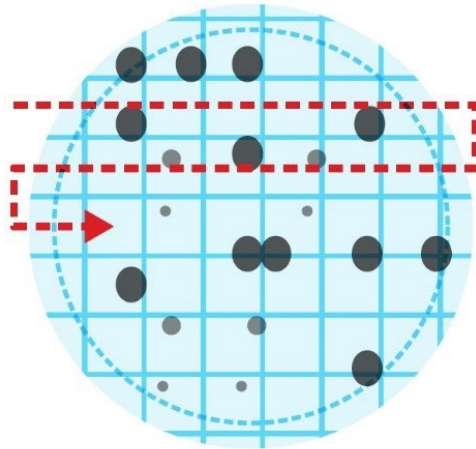
El producto MLSB se consigue en forma de polvo y se debe regenerar con agua y esterilizar antes de usarlo.

Tabla 1: Características del medio de cultivo

Medios de comunicación	Color del medio	Color de las colonias de E. coli	Color de las colonias de coliformes
Coliscan®	Amarillo claro, transparente	Entre azul oscuro y púrpura	Rosa
mColiBlue®	Celeste	Azul oscuro	Rojo
Caldo de lauril sulfato para membrana (MLSB)	Rojo anaranjado	Amarillo	Amarillo

- Use el archivo de PowerPoint para mostrar la técnica de conteo de colonias.
- Si no cuenta con la presentación de PowerPoint, describa la técnica usando el patrón cuadrículado que se muestra a continuación.

**Técnica de conteo de colonias**



**Consejos para el capacitador**

El círculo interno es la zona de filtración eficaz. No cuente las colonias que aparecen por fuera de este círculo.

Algunas colonias tocarán las líneas de la grilla. Recomiende contar las colonias que están por debajo de la línea de la grilla que tocan. La uniformidad es importante para reducir los errores de conteo.

**Puntos clave**

- Un medio de cultivo es un alimento para que proliferen las bacterias, tiene elementos necesarios para su crecimiento y tiene componentes para diferenciar un tipo de bacteria de otro (se muestran con colores distintos).
- Contar las colonias del papel filtro después de la incubación representa la cantidad de bacterias de la muestra original.
- "Bacteria" es singular; "bacterias" es plural.

10 minutos

**Ejercicio de conteo de colonias**



- Divida a los participantes en parejas.
- Entréguele a cada pareja una copia de la guía a color de Coliscan para el conteo de colonias.

3. Pregunte: "¿Cuántas colonias de *E. coli* (entre azules oscuras y púrpuras) y coliformes (rosadas) hay en este ejemplo?". Registre los resultados de cada grupo.
  
4. Pregunte: "¿Por qué hay diferencias en los resultados?".
  - Hay diferencias en la percepción de los colores.
  - La interpretación de los colores es subjetiva (rosa versus púrpura claro).
  - Es difícil percibir el tamaño de las colonias.
  - Hay distintos grados de agudeza visual.
  - Iluminación.
  
5. Solución del ejercicio: 22 colonias de *E. coli* (entre azul y púrpura) y 30 colonias de coliformes (rosadas).

25 minutos

## Demostración y práctica del conteo de colonias



1. Ubique a los participantes en una mesa, con las linternas y las lupas.
2. Entrégueles a las personas correspondientes las placas de Petri incubadas en la práctica de análisis microbiológico.
3. Pídales a los participantes que cuenten las colonias de *E. coli* y de coliformes totales de su placa.  
*Consejo para los capacitadores: A fin de evitar la contaminación, no permita que los participantes usen un bolígrafo u otro elemento para contar las colonias.*
4. Solucionen dificultades del conteo:
  - Buscar resultados poco comunes, como una cantidad numerosa de no coliformes (colonias transparentes) que indican contaminación que no es fecal.
  - Busquen señales claras de contaminación secundaria, por ejemplo: papel filtro rasgado o perforado, marcas de dedos o cualquier otra alteración del papel filtro.
  - Una cantidad insuficiente de medio de cultivo hace que el papel filtro se seque y que las bacterias no proliferen.
  - El exceso de medio de cultivo puede hacer que el papel filtro se adhiera a la parte superior de la placa de Petri.
  - Si se forman bolsas de aire debajo del papel filtro, se pueden generar puntos secos donde no haya proliferación bacteriana.
  - Si hay más de 200 colonias, se considera que son demasiado numerosas para contar (DNPC).
  - La aparición de muchas colonias pequeñas puede indicar que la muestra estaba muy contaminada y que se consumieron todos los nutrientes (era necesario diluir la muestra).

5. Escriba los resultados en una hoja de rotafolio. Registre el número de placa, el medio usado, una descripción de la muestra, el factor de dilución (si lo hubiere) y resultados atípicos. Exhiba los resultados para debatir.
6. Debatan sobre los resultados de forma grupal. *Consejo para los capacitadores: Prepárese para un intercambio activo. Tome nota de lo siguiente, en particular:*
  - Las muestras en blanco no deberían tener proliferación bacteriana de ningún tipo (el crecimiento de bacterias indica contaminación).
  - La muestra del enjuague de manos es en general la más contaminada, seguida de la muestra del agua proveniente de una fuente sin protección o sin tratamiento.
  - El agua de los puestos de suministro o camiones de distribución suele estar contaminada.
7. Pídales a los participantes que desinfecten las placas de Petri con lejía y eliminen los residuos de manera segura.
  - Añada cloro líquido (lejía) en cada placa de Petri (aproximadamente 2 mL) y deje reposar durante 10 minutos (tiempo de contacto).
  - Después de la cloración, deseche los residuos sólidos en la basura y lave las placas de Petri con agua y jabón.
8. Recuérdeles a los participantes que usen alcohol en gel o que se laven las manos antes de volver a sentarse.

### Puntos clave

- Se prefieren las placas de entre 20 y 80 colonias.
- Las muestras >200 colonias se consideran demasiado numerosas para contar (DNPC)
- Recuérdeles a los participantes que están aprendiendo estas técnicas y que mejorarán sus habilidades con la práctica.

10 minutos

### Repaso



1. Dentro de un sombrero u otro recipiente, coloque los pedazos de papel donde figuran las palabras de la lección.
2. Haga circular el sombrero y pídale a cada participante que saque uno de los pedazos de papel.
3. Los participantes tendrán que explicar el significado de la palabra o qué aprendieron sobre ella.

## Repaso alternativo

1. Organice un debate sobre el resultado más llamativo (o controvertido) obtenido en la actividad.
2. Si hubo resultados desconcertantes o llamativos, este debate posibilita hacer un resumen final sobre ellos y atenuar las reacciones al respecto, recordándoles a los participantes que son nuevos en esta tarea y que podría haber resultados inesperados por diversos motivos, entre ellos:
  - Una técnica deficiente.
  - Equipamiento defectuoso u otros motivos.

### Consejos para el capacitador

Los resultados inesperados les pueden resultar molestos a las personas. Recuérdeles a los participantes que este análisis representa un punto único en el tiempo y que se precisaría llevar a cabo más análisis para evaluar una situación.

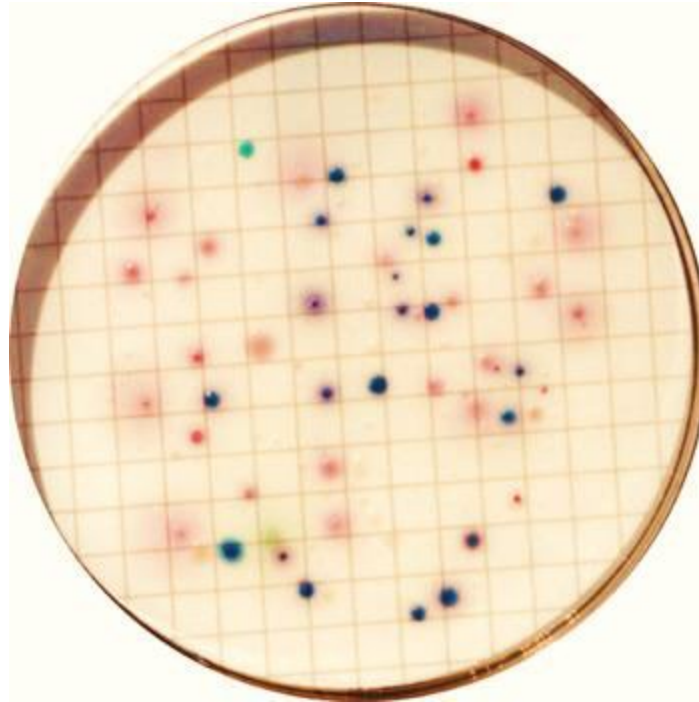
Este documento es de contenido abierto y está elaborado bajo la licencia [Creative Commons Atribución-Compartir Igual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). Consulte las guías de CAWST para distribuir, traducir, adaptar o citar los recursos de CAWST ([resources.cawst.org/cc](https://resources.cawst.org/cc)).



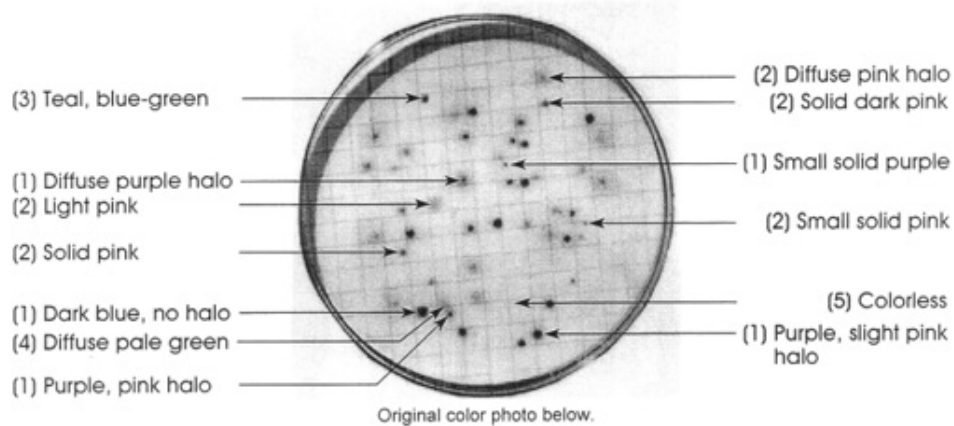
# Ejercicio de conteo de colonias

Apunte

## Guía a color de Coliscan para el conteo de colonias



Coliscan® Colony Color Guide



Original color photo below.

Specific colonies above are designated 1, 2, 3, 4 or 5 and their interpretation is described below with the corresponding number.

- Colonies with (1) are interpreted as *E.coli*. (glucuronidase +, galactosidase-)
- Colonies with (2) are interpreted as coliform. (glucuronidase-, galactosidase +)
- Colony with (3) could be *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella* or other genus. Specific ID would require further tests. Do not interpret as *E.coli* or coliform without further tests. (glucuronidase+, galactosidase-)
- Colony with (4). The color is from the bacteria, not the chromogens. Identified as *Pseudomonas* sp. Do not interpret as *E.coli* or coliform. (glucuronidase-, galactosidase-)
- Colony with (5) has no color. Do not interpret as *E.coli* or coliform. (glucuronidase-, galactosidase-)



# Actividad "La palabra del sombrero"

Apunte

## Palabras mencionadas en la lección "Conteo de colonias"

Recorte las palabras y colóquelas en un sombrero (u otro recipiente). Haga que el sombrero circule entre los participantes. Cada uno tiene que sacar un pedazo de papel del sombrero y explicar el significado de la palabra o contar lo que aprendió sobre eso.



Medios de cultivo	DNPC
Papel filtro	Pinzas
CALDO DE LAURIL SULFATO PARA MEMBRANA (MLSB)	Lupa
Coliscan	Incubación
Cuadrícula	Temperatura
mColiBlue	Contaminación
Colonia	UFC

Muestra en blanco	Errores en el conteo de colonias
-------------------	----------------------------------