

TE3. TÉCNICOS/AS LABORATORIO

SEGUNDO EJERCICIO

Tiempo máximo: 120 minutos

Escriba aquí su clave de identificación personal para esta prueba:

Código examen: TE32202	
---------------------------	--

No abra el cuadernillo hasta que se le indique y lea atentamente las instrucciones de esta portada.

- **Móviles apagados** y, al igual que los relojes, pulseras de actividad y similares, retirados de la mesa.
- Se informará por voz del tiempo que falta para la realizar la prueba: 60-30-15-10-5 y último minuto.
- Sobre la mesa exclusivamente cuadernillo de preguntas, hoja de identificación personal, DNI y bolígrafo (azul o negro) y calculadora científica. No Está permitido el uso de TIPEX® o similares.
- Si se le ha facilitado una **hoja de identificación** con una CLAVE rellénela con su DNI, nombre, apellidos y código/denominación de la prueba.
- La Hoja de Identificación se recogerá transcurridos los primeros minutos de la prueba.
- Indique la **CLAVE de identificación personal** en esta página y en las hojas del cuadernillo donde se indique.
- Salvo instrucción contraria, NO escriba su nombre, DNI o firme la prueba ya que es causa de NO CORRECCIÓN.
- Utilice en su ejercicio un tipo de **letra que permita su lectura** por el Tribunal.
- Las respuestas deberán ser concretas y precisas. La corrección se realizará conforme a criterios predeterminados.
- Cada supuesto tiene **delimitado el espacio para responder**. No se corrigen supuestos que lo superen.
- La puntuación máxima de la prueba son 35 puntos. En caso de que existan más ítems será proporcional.
- La valoración máxima de cada pregunta, en el caso de ser diferentes, viene señalada en el enunciado de la misma.
- Si desea un **certificado de asistencia** solicítelo en el momento en el que se le realice el control de presencia.
- Si ha finalizado antes de tiempo levante la mano para que se le recoja el cuadernillo o la hoja de respuestas
- No se recogen exámenes individualmente en los últimos 3 minutos del ejercicio y si ha finalizado en este plazo permanezca en su sitio, en silencio, hasta la recogida final.
- Mantenga en todo momento las medidas de seguridad tales como la mascarilla y la distancia de seguridad.

Gracias por su colaboración

Caso práctico Número 1. (10 puntos)

Se reciben en el Laboratorio de Microbiología cuatro muestras de alimentos para su análisis. Las muestras han sido recogidas en la cocina de una residencia de ancianos, y corresponden a alimentos que se van a consumir en dicha residencia el día de entrega de las mismas en el laboratorio. La cantidad de muestra entregada de cada una de ellas es mínimo 200 g. Las muestras n.º 1, 2 y 3 son del menú del mediodía (primero y segundo elaborados con tratamiento térmico, el postre es un producto comercial, sin manipular). La muestra n.º 4 se servirá frita en la cena: por tanto, se analizará la materia prima suministrada por el proveedor correspondiente. Los datos de las muestras y la analítica a realizar se resumen en la siguiente tabla:

Muestras	Ensayo	Norma (PNTE)	Acreditado
1.- Lentejas con verduras (plato elaborado el día de análisis)	Recuento en placa de coliformes totales	ISO 4832	SI
2.- Albóndigas de pollo en salsa (plato elaborado el día de análisis)	Recuento en placa de <i>E. coli</i> β -glucuronidasa +	ISO 16649-2	SI
3.- Queso fresco de Burgos envasado (Marca comercial X, lote: 23D1, caducidad: 10/04/2022)	Recuento en placa de estafilococos coagulasa +	UNE-EN ISO 6888-2	SI
4.- Chistorra cruda envasada al vacío (Marca comercial Y, 40% grasa, lote: 20:12, caducidad: 6/05/2022)	Recuento en placa de <i>Listeria monocytogenes</i>	UNE-EN ISO 11290-2	SI
	Detección de <i>Salmonella</i> spp (resultado en 25 g)	UNE-EN ISO 6579-1	SI

Las muestras se entregan en el laboratorio el lunes, y los análisis comienzan el mismo lunes. Como se trata de muestras programadas, para el lunes que comienzan los análisis se dispone de TODOS los medios de cultivo y reactivos necesarios. Eres la persona asignada para realizar los análisis desde inicio a fin. Los ensayos de recuento en placa se llevarán a cabo sembrando una única placa por dilución, pero varias diluciones decimales consecutivas.

Pregunta 1.1 (1 punto). Preparación de las muestras y suspensión inicial. Se utilizará un diluidor gravimétrico para la preparación de la suspensión inicial de todas las muestras y el diluyente será agua de peptona tamponada.

¿Cuánta cantidad de muestra tomas para la suspensión inicial? ¿Y de diluyente? (0,5 puntos)

¿Cómo llevas a cabo la preparación de la muestra de la chistorra (con piel)? Breve explicación de la respuesta (0,5 puntos)

Pregunta 1.2 (2 puntos). Del siguiente listado de medios de cultivo, selecciona los que vas a usar para cada ensayo de recuento, y rellena en la tabla siguiente sus temperaturas iniciales de incubación (sin tolerancias, las estufas a usar están caracterizadas correctamente), así como sus respectivos tiempos de incubación y brevemente, el aspecto de las colonias características que tendrás en cuenta en los recuentos posteriores. (Cada fila de la tabla 0,5 puntos).

Listado: MEDIOS DE CULTIVO (abreviaturas habituales)			
MYP	TSA	Manitol	Agar nutritivo
MacConkey	CCA	ALOA	BGBL
BP-RPF	DG18	Palcam	OF
Columbia agar	Oxford	VRBL	TBX
VRBG	Colilert	PCA	GVPC

Ensayo	Medio de cultivo	T ^a (°C)	Tiempo de incubación (horas)	Colonias características
Recuento en placa de coliformes totales				
Recuento en placa de estafilococos coagulasa +				
Recuento en placa de <i>E. coli</i> β-glucuronidasa +				
Recuento en placa de <i>Listeria monocytogenes</i>				

Pregunta 1.3 (1 punto). En la tabla superior, en una de las muestras, y en un análisis en concreto, hay una excepcionalidad a la generalidad en cuanto a su incubación. Menciona de qué muestra/alimento se trata, y los detalles concretos de su incubación (t^a y tiempo) (0,5 puntos). Explica brevemente el motivo (0,5 puntos).

Pregunta 1.4 (2,5 puntos). En la siguiente tabla se muestran las lecturas de las placas y/o del proceso de la muestra n.º 4. Rellena la última columna con la expresión del resultado del recuento final y sus unidades, teniendo en cuenta el criterio general en el recuento de colonias en placa en un laboratorio de microbiología (ISO 7218) acreditado y con las cifras significativas correctas. Completar también el resultado del ensayo de detección.

MUESTRA	Chistorra cruda					RESULTADO (con unidades)
Parámetros	mL / placa	Nº total colonias características/placa			Nº total colonias NO características/placa	
		Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³		
Coliformes totales	1 mL	0	0	0	No hay en ninguna dilución	
Estafilococos coagulasa +	1 mL	0	0	0	En 10 ⁻¹ : > 150 ufc En 10 ⁻² : > 150 ufc En 10 ⁻³ : 109 ufc	
<i>E. coli</i> β-glucuronidasa +	1 mL	> 150	83	5	No hay en ninguna dilución	
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,1 mL	12 (confirmadas positivas: 3 de 5)	1 (confirmadas positivas: 1 de 1)	0	No hay, excepto las obtenidas como no típicas después de la confirmación	
<i>Salmonella</i> spp.	Procedimiento de detección sin colonias confirmadas					

Coliformes totales, Estafilococos y *E.coli*: siembra en profundidad (1 mL) en placas de Petri de 90 mm.

Listeria monocytogenes: siembra en superficie (0,1 mL) en agar comercial en placas de Petri de 90 mm.

Pregunta 1.5 (1,5 puntos). En los resultados mostrados en la tabla del ejemplo de la muestra de la pregunta 1.4, habrás observado una incoherencia al poner los resultados finales. Describe la incoherencia (0,5 puntos), da una explicación breve de qué ha podido pasar (0,5 puntos) y qué se puede hacer que sea correcto: justifícalo (0,5 puntos).

Pregunta 1.6 (2 puntos). Al usar el medio RVS (Rappaport-Vassiliadis con soja) en el análisis de “Detección de *Salmonella* spp”, te has dado cuenta que hay que hacer urgentemente los ensayos de rendimiento (Productividad y Selectividad) del lote del RVS en uso. Pero, no tienes las cepas de trabajo que necesitas preparadas. Dispones de todas las cepas que necesitas en alícuotas congeladas (< - 20 °C) como lotes de reserva de referencia.

a) Nombra las cepas de control que tienes que preparar como cultivos de trabajo por cada ensayo de rendimiento (0,5 puntos).

b) Una vez que ya sabes las cepas que necesitas, describe (de forma general y breve) cómo preparas los cultivos de trabajo y tiempos (puedes ayudarte de un pequeño diagrama o esquema) (0,5 puntos).

c) ¿Qué criterios de crecimiento debes observar en los ensayos de rendimiento (Productividad y Selectividad) para dar por válido el uso del medio RVS? Brevemente, no es necesario explicar todo el proceso (1 punto).

Caso práctico Número 2. (8 puntos)

El martes, a las 11:30, la Inspección del Laboratorio Municipal entrega en el Laboratorio de Microbiología, 10 muestras de agua de consumo de grifos de centros cívicos. Los análisis se hacen en el día de la toma de muestra por métodos de filtración por membrana. Se filtran 100 mL de las muestras sin diluir. El miércoles tendrás el mismo número de muestras, misma analítica. Eres la persona asignada para realizar los análisis desde inicio a fin los 2 días. Analítica acreditada:

- Recuento de coliformes totales y de *E. coli* por ISO 9308-1 (Agar **CCA**=*Chromogenic Coliform Agar*)
- Recuento de enterococos intestinales por ISO 7899-2 (Agar **SB**=*Slanetz-Bartley*)
- Recuento de *Clostridium perfringens* por ISO 14189 (Agar **TSC**=*Tryptose Sulfite Cycloserine*)

El mismo martes de los análisis, al ir a preparar el material que necesitas para el trabajo asignado en la semana, ves que tienes 30 placas de 90 mm con agar CCA con lote factible de uso en la semana, no tienes nada de SB preparado, y tienes bastantes botes preparados con agar base TSC (sin suplemento) con lotes de uso correcto para toda la semana, pero ninguna placa.

Pregunta 2.1 (2 puntos).

a) Prepara el medio **SB** en placas de 90 mm que necesitas para hoy y mañana: describe su preparación, cantidad que preparas (mL) para cuántas placas, precauciones a tener en cuenta en su preparación. Partes de medio deshidratado (añadir 42 g por litro) (1 punto).

b) Prepara las placas de 90 mm de medio **TSC** que necesitas para hoy y mañana a partir del agar base de TSC que tienes en botes (ya autoclavados): describe su preparación, cantidad que preparas (mL) para cuántas placas, menciona el suplemento que añades y cuando, conservación de placas preparadas para usar mañana (1 punto).

Pregunta 2.2 (3 puntos). Una de las muestras que has analizado, no tenía cloro en el momento de la toma. Después de las filtraciones, siembras e incubaciones correspondientes, has hecho las lecturas de esa muestra y se reflejan en la tabla inferior. Describe las confirmaciones a realizar (n.º de colonias “n” que confirmas, pruebas de confirmación, descripción esperable de la prueba). Vamos a suponer que las colonias características seleccionadas para la confirmación pertinente han sido positivas para el microorganismo en análisis. En base a esos datos, expresa los resultados finales teniendo en cuenta el criterio general para recuento de colonias en placa de filtración por membranas (ISO 8199). (Cada fila de la tabla 1 punto).

Medios de cultivo	Colonias observadas en la membrana	CONFIRMACIONES	RESULTADO (con unidades)
CCA	2 colonias azules 16 colonias amarillas 8 colonias blancas 25 colonias rosas-rojas		Coliformes totales: <i>E. coli</i> :
SB	8 colonias rojas		Enterococos intestinales:
TSC	35 colonias negras		<i>Clostridium perfringens</i> :

Pregunta 2.3 (2 puntos). Siguiendo las pautas habituales de los ensayos de rendimiento de los medios de cultivo (ISO 11133), calcula la **Productividad** de los siguientes medios que has usado en los análisis de aguas y justifica si la Productividad obtenida es correcta o no.

- (0,5 puntos) Agar **CCA**: Inóculo con *Escherichia coli*: en la membrana en CCA hay 82 colonias características, y en la membrana colocada en el TSA, hay 129 colonias.

- (0,5 puntos) Agar **CCA**: Inóculo con *Citrobacter freundii*: en la membrana en CCA hay 87 colonias características, y en la membrana colocada en el TSA, hay 114 colonias.

- (0,5 puntos) Agar **SB**: Inóculo con *Enterococcus faecalis*: en la membrana en SB hay 76 colonias características, y en la membrana colocada en el TSA, hay 119 colonias.

- (0,5 puntos) Agar **TSC**: Inóculo con *Clostridium perfringens*: tienes 3 membranas en TSC, con 26, 19 y 21 colonias características respectivamente, y 3 membranas en TSA, con 41, 31 y 38 colonias respectivamente.

Pregunta 2.4 (1 punto). Además, estás evaluando la **Selectividad** del **SB**, con la cepa *Staphylococcus aureus*, pero no ha crecido nada en el SB, y sin embargo, el control en paralelo que has hecho de viabilidad y pureza de la cepa ha sido correcto. ¿Qué crees que ha pasado? Entonces, ¿cuál será la evaluación de la prueba de rendimiento de la Selectividad?

Caso práctico Número 3. (3 puntos)

Se reciben en el laboratorio varias muestras de agua potable. Eres la persona encargada de realizar la medición de pH de las muestras. El laboratorio cuenta con un pH-metro equipado con un electrodo combinado de vidrio estándar y soluciones patrón de pH 4,00, 7,02 y 12,00 a 20 °C.

Pregunta 3.1. (1,5 puntos)

El potencial medido en milivoltios (mv) para cada solución patrón de pH a 20°C ha sido el siguiente:

pH 4,00: 178 mv

pH 7,02: 6 mv

pH 12,00: -271 mv

Indica el potencial de asimetría obtenido y calcula la pendiente del electrodo en el rango ácido y rango básico.

Pregunta 3.2. (0,5 puntos)

Indica el valor teórico esperado para el potencial de asimetría y la pendiente del electrodo a 20 °C .

Pregunta 3.3. (1 punto)

En relación a la pendiente del electrodo, si la tolerancia fijada por el laboratorio es del 5% respecto al valor teórico a 20°C, indica si el electrodo cumple o no cumple tolerancia.

Caso práctico Número 4. (5 puntos)

Para la determinación de nitritos en productos cárnicos curados el laboratorio realiza una extracción acuosa de los iones nitrito del alimento, desproteinización, reacción química para generar un producto coloreado y cuantificación espectrofotométrica de la absorbancia a 520 nm.

Pregunta 4.1. (2 puntos)

Realiza los cálculos e indica el material necesario para preparar una solución patrón de 1000 mg/L de NaNO_2 a partir de un patrón certificado de NaNO_2 de 98,5% de pureza (Peso molecular=69g/mol).

Pregunta 4.2. (3 puntos)

A partir de la solución patrón de 1000 mg/L de NaNO_2 de la pregunta anterior, se prepara una solución de 50 mg/L (solución madre). Prepara los patrones de la recta de calibrado a partir de la solución madre. Realiza los cálculos necesarios y rellena los datos que faltan en la siguiente tabla:

Volumen (mL) necesarios de la solución madre	Volumen del matraz aforado a utilizar (mL)	Concentración del patrón NaNO_2 (mg/L) de la recta de calibrado
		0,05
		0,1
		0,2
		0,5
		1
		2
		4

Caso práctico Número 5. (5 puntos)

Como técnic@ de laboratorio estás participando en la validación del ensayo de determinación de Cadmio en agua potable por ICP-MS. Para la validación en el valor paramétrico en agua potable, se utiliza un material de referencia certificado (valor certificado 5,00 $\mu\text{g/L}$; incertidumbre expandida 0,05 $\mu\text{g/L}$ para $K=2$).

Has realizado el análisis del material de referencia en 10 días diferentes. Los resultados que has obtenido son los siguientes:

Día de la medición	Concentración Cd ($\mu\text{g/L}$)
1	5,12
2	5,10
3	5,11
4	5,09
5	5,10
6	5,08
7	5,10
8	4,98
9	4,99
10	4,99

Pregunta 5.1. (1 punto)

Calcula la media, mediana y moda de la serie de datos.

Pregunta 5.2. (2 puntos)

Calcula la precisión en reproducibilidad de la técnica expresada como coeficiente de variación y recorrido.

Pregunta 5.3. (2 puntos)

Calcula la exactitud y la recuperación.

Caso práctico Número 6. (4 puntos)

Eres la persona encargada de realizar la determinación de sulfitos en una muestra de langostinos por el método de Monier-Williams.

Pregunta 6.1. (1 punto)

Entre los reactivos necesarios para el análisis se encuentra el HCl 4N. Realiza los cálculos necesarios para preparar 100 ml de HCl 4N a partir de HCl al 35% de pureza (Peso molecular HCl 36,46; densidad=1,185 g/ml).

Pregunta 6.2. (1 punto)

La etapa final de método es la titulación con una solución valorada de NaOH 0,1N. Realiza los cálculos e indica el material necesario para la preparación de la solución titulante de NaOH 0,1N a partir de un patrón certificado de NaOH de 97% de pureza (Peso molecular NaOH=40).

Pregunta 6.3. (2 puntos)

Tienes que normalizar la solución de NaOH 0,1N utilizando la especie química primaria (EQP) potasio hidrógeno ftalato (Peso molecular= 204,23). A partir de los datos de la tabla calcula el factor medio de la solución titulante de NaOH 0,1N.

Peso (mg)tomado de la EQP	Volumen gastado en la valoración con NaOH 0,1N
166	8,15
126	6,20
140	6,85