

INFORME N°5:

ANALÍTICA D'AIGÜES 1ª PART:

DETERMINACIÓ D'AEROBIS TOTALS, COLIFORMES TOTALS I COLIFORMES FECALS.

• AEROBIS TOTALS:

*Objectiu:

- Determinar la presència i quantitat de bacteris aerobis totals en una mostra d'aigua de la Barceloneta.

*Fonament:

P

Per realitzar amb èxit aquesta pràctica hem de saber que els bacteris aerobis totals són bacteris mesòfils (que viuen a temperatures entre 20–50°C), heteròtrofs, aerobis i anaerobis facultatius; creixen sobre PCA a 37 i 22°C. També hem de saber que per seguir les BPL en el punt de mostratge es costum detectar i enregistrar la distància aproximada des del el trencant de l'aigua, la data i l'hora, la temperatura de l'aigua i de l'aire amb un termòmetre, l'estat del mar (moviment de les onades), la direcció i la intensitat del corrent superficial, la direcció i intensitat del vent, la presència d'olis i tensoactius (olfactiva i visivament), les variacions anòmales de color, la transparència (disc Secchi), l'oxigen i el PH (mètode electromètric). Acceptarem les plaques que presentin un creixement d'entre 30–300 cel/ml.

*Procediment:

- Esterilitzem el material i el PCA a l'autoclau (2 plaques de petri, 2 pipetes, 2 tubs amb 20ml de PCA)
- Un cop esterilitzat el material en portem al voltant del metxero bunsen per que no es contaminin
- Prenent les pipetes per l'extrem agafem una quantitat d'1ml i la posem dins de la placa de petri, repetim el procés posant 0'1ml d'aigua a l'altre placa
- Obrint les plaques el mínim indispensable introduïm el PCA dins de les plaques, sobre l'aigua (sembla en massa).
- Homogeneïtzem les plaques i deixem solidificar el PCA. Les rotulem amb el nom del grup, la quantitat d'aigua sembrada, el temps i la temperatura d'incubació
- Per decisió del grup classe els grups parells incuben les plaques a 37°C i els grups senars les incuben a 22°C; així donç nosaltres les incubem a 37°C.
- El temps d'incubació és de 24–48h, passat aquest temps prenem les plaques prenent com a correctes les plaques que presenten un creixement d'entre 30–300cel/ml.
- Realitzem la taula corresponent a aquests resultats. (taula 5.1)

*Dades i càlculs:

Taula 5.1:

	37°C		22°C		
GRUP	1ml	0'1ml	1ml	0'1ml	RESULTATS
1					
2					

3					
4					
5					
6					
7					

*Riscos previsibles:

Els propis de treballar amb gas, material elèctric, material de vidre i autoclau.

*Tractament de residus:

El PCA de les plaques es posa en tractament amb aigua i lleixiu, posteriorment es llencen al contenidor de residus sòlids.

*Conclusions i resultats:

grup 2 (el nostre): **N.B.A.T. (48h 37°C)** = cel/ml

Com a conclusió podem dir que hi ha una quantitat considerable de bacteris aerobis totals en l'aigua de mostra, per tant podem dir que les aigües de la Barceloneta tenen un bon nivell d'oxigenament.

• COLIFORMES TOTALS I FECALS:

*Objectiu:

- Determinar la presència i quantitat de coliformes totals i fecals en una mostra d'aigua de mar de la Barceloneta.

*Fonament:

P

Per realitzar amb el màxim profit aquesta pràctica hem de saber que els coliformes totals tenen morfologia bacil·lar, son GRAM –, aerobis o anaerobis facultatius, no formadors d'espores, fermentadors de la lactosa amb producció d'àcid i gas incubant 48h a 37°C; els coliformes fecals es diferencien dels totals en que fermenten la lactosa amb producció d'àcid i gas incubant 48h a 44°C. També hem de saber que són uns indicadors de bacteris patògens presents a les aigües, busquem els indicadors ja que tenen una vida més llarga que els patògens i es troben en major concentració. En aquesta pràctica es farà servir la taula del NMP presentada en l'annex 1.

*Procediment:

Colis totals

- Prova presumptiva:
 - Es prenen tres sèries de tres tubs amb campana durham i els corresponents taps. Rotulem els tubs.
 - En els tubs 1, 2, 3 posem 10ml de brou lactosat a concentració doble + 10ml d'aigua problema
 - En els tubs 4, 5, 6 posem 10ml de brou lactosat a concentració simple + 1ml d'aigua problema
 - En els tubs 7, 8, 9 posem 10ml de brou lactosat a concentració simple + 0'1ml d'aigua problema.

- S'incuben 48h (+/-3h) a 37°C (+/- 1°C)
- Els tubs que presentin gas i terbolesa els considerarem positius. Llegirem a la taula del NMP (taula de resultats 5.2) el nombre de tubs positius i les cel/100ml que li corresponen
- Prova confirmativa:
 - Es prenen tantes plaques de petri com tubs positius hi hagi a la presumptiva
 - S'introdueix 20ml de medi EMB (eosine metil blue), es rotulen amb el nom del grup, el tub de procedència, la temperatura i el temps d'incubació
 - S'incuben les plaques 24h (+/-2h) a 37°C (+/- 1°C)
 - Si un cop incubades tenen creixement de colònies opaques, roses, blaves, violetes, amb o sense reflex metàl·lic es consideren positives (taula de resultats 5.3). Si presenten altres colònies el NMP serà 0cel/100ml.
 - Es prenen tants tubs amb campana durham i tap, i tants tubs amb PCA en slant com colònies diferents hi hagi en les plaques EMB.
 - En els tubs amb campana durham es posa brou lactosat a concentració simple i s'inocula la colònia de la placa EMB, es rotula el tub amb la procedència, temps i temperatura d'incubació.
 - S'incuba 24h (+/-2h) a 37°C (+/- 1°C)
 - Si els tubs presenten gas i terbolesa els considerarem positius; llegirem el resultat a la taula del NMP (taula dels resultats 5.4) i aquest serà el nombre definitiu de coliformes totals presents en 100ml d'aigua.
 - D'altre banda, en els tubs de PCA en slant sembrem la mateixa colònia que en els tubs de brou lactosat, es rotulen amb la procedència, el temps i la temperatura d'incubació.
 - S'incuben 24h (+/-2h) a 37°C (+/- 1°C)
 - A les colònies resultants sel's hi fa la prova de l'oxidasa (resultats taula 5.5), si surten oxidasa+ no hi ha presència de coliformes totals, si resulten oxidasa- el NMP és igual que el NMP dels tubs amb brou lactosat

Colis fecals

- Es prenen tants tubs amb campana durham i els corresponents taps com tubs positius hi hagi a la presumptiva. Sel's afegeix 10ml de brou verd brillant (BVB).
- S'inocula cada tub amb el tub corresponent de la presumptiva, es rotulen amb el tub de procedència, el temps i la temperatura d'incubació.
- S'incuba 24h (+/-2h) a 44°C (+/- 0'5°C).
- Els tubs que presentin gas i terbolesa els considerem positius. Fem la lectura dels tubs positius en la taula del NMP.
- Realitzem una taula amb aquests resultats (taula 5.6)

*Dades i càlculs:

calculem la quantitat de brou lactosat (presumptiva)

calculem la quantitat de medi EMB

Calculem la quantitat de brou lactosat (confirmativa)

Calculem la quantitat de PCA

Calculem la quantitat de BVB

Taula 5.2

GRUP	SÈRIE 1			SÈRIE 2			SÈRIE 3			RESULTAT	NMP (cel/100ml)	9		
		1	2	3	4	5	6	7	8					
1	+	+	+	-	+	+	-	-	-	3 2 0	93			
2	+	+	-	-	-	+	-	-	+	2 1 1	20			
3	+	+	+	-	+	-	-	-	-	3 1 0	43			
4	+	+	+	-	-	+	-	-	-	3 1 0	43			
5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	3 1 1	75			
6	+	+	+	+	+	+	-	-	-	3 3 0	240			
7	+	+	+	-	-	+	-	-	+	3 1 1	75			

Taula 5.3

GRUP	TUB DE PROCEDÈNCIA										TIPUS DE COLÒNIES	9		
		1	2	3	4	5	6	7	8					
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														

Taula 5.4

GRUP	COLÒNIES DE PROCEDÈNCIA	TUBS	RESULTAT	NMP (cel/100ml)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				

Taula 5.5

GRUP	COLÒNIES DE PROCEDÈNCIA	OXIDASA
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

Taula 5.6

GRUP	TUBS DE PROCEDÈNCIA								TUBS	RESULTAT	NMP (cel/100ml)				
		1	2	3	4	5	6	7	8			9			
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															

*Riscos previsibles:

Els propis de treballar amb material de vidre, foc, autoclau, aparells elèctrics i els riscos de cada medi de cultiu.

*Tractament de residus:

Tots els residus generats es tractaran amb lleixiu, els residus sòlids després del tractament amb lleixiu s'abocaran al contenidor de residus sòlids

*Conclusions:

(per al nostre grup, el 2)

NMP. coliformes totals = cel/100ml

NMP. coliformes fecals = cel/100ml

Podem afirmar que en la mostra d'aigua de la Barceloneta hi ha un nombre quasi nul de coliformes fecals i un nombre molt reduït de coliformes totals.

*Bibliografia:

www.google.es analítica d'aigües costeres.

ANNEX 1

Taula NMP

3 TUBS DE 10ml	3 TUBS DE 1ml	3 TUBS DE 0'1ml	NMP (cel/100ml)
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11

2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

PEPO MAÑOSO VÁZQUEZ MICROBIOLOGIA

CFGM. LABORATORI 9