

SUPUESTO PRÁCTICO 1.

De U.T. XIV. Control del agua.

Preparar un análisis de “Aguas de Piscinas de uso colectivo en la Comunidad de Madrid”.

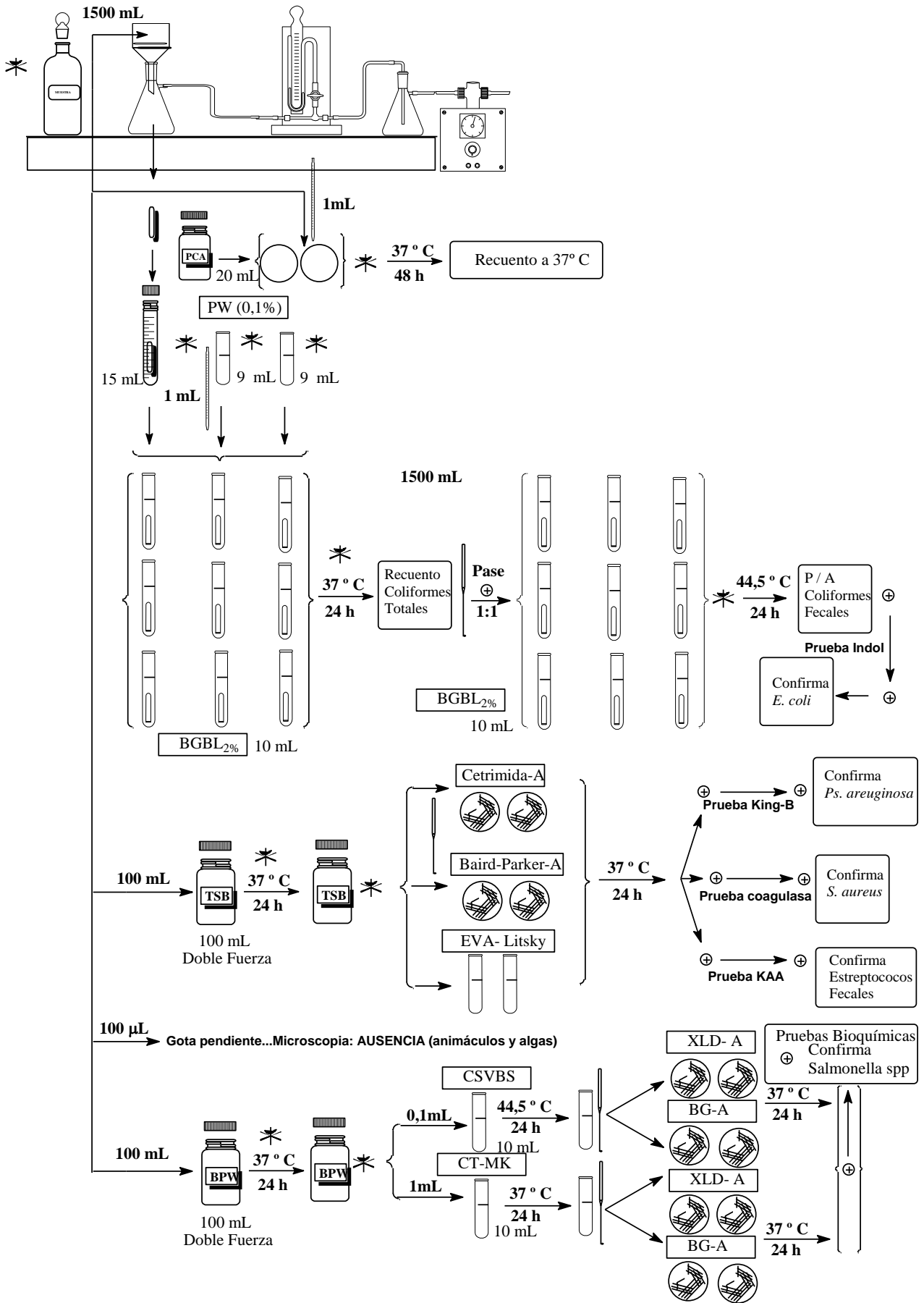
1. Preparación de la documentación necesaria.

- Real Decreto 742/2013, de 27 de setiembre por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de las piscinas. (B.O.E. núm. 244 de 11 de octubre de 2013).
- Decreto 80/1998, de 14 de mayo. Condiciones higiénico- sanitarias de piscinas de uso colectivo. (B.O.C.M. de 27-05-1988).
- EN ISO 6222.
- ISO 9308-1.
- ISO 7899-2.
- ISO 6888-1.
- ISO 16266.
- UNE-EN-ISO 6579.

2. Organización del trabajo a realizar.

Parámetro	Valor paramétrico	Análisis
Recuento aerobios 37 °C	Hasta 200 UFC / mL	Recuento en Masa
Coliformes totales	≤ 10 UFC / 100 mL	Método Miniaturizado NMP
Coliformes fecales	Ausencia / 100 mL	Método Miniaturizado NMP
<i>E. coli</i>		Método Miniaturizado NMP
Estreptococos fecales		Pre-enriquecimiento P/A Caldo
<i>S. aureus</i>		Método Horizontal P/A Superficie
<i>P. aeruginosa</i>		Método Horizontal P/A Superficie
<i>Salmonella spp.</i>		Método Horizontal P/A Superficie
Parásito y Protozoos	Ausencia	Microscopía
Algas, larvas y Organismos vivos		

3. Esquema simbólico del trabajo a realizar.



4. Temporalización del trabajo a realizar (sin pruebas bioquímicas).

- Día 1:
 - Sembrar en masa y por duplicado en agar PCA 1 mL de muestra. Incubar a 37 °C / 48 h.
 - Pre-enriquecimiento. Tomar 100 mL de muestra y llevar sobre 100 mL de TSB de doble fuerza. Incubar a 37 °C / 24 horas.
 - Pre-enriquecimiento. Tomar 100 mL de muestra y llevar sobre 100 mL de BPW de doble fuerza. Incubar a 37 °C / 24 horas.
 - Filtrar en membrana de 0,45 µm 1500 mL de agua de forma aséptica.
 - Retirar el filtro y llevar a un tubo con 15 mL de PW. Esta será la dilución 10².
 - Preparar a partir de ella las diluciones 10¹ y 10⁰.
 - Sembrar por triplicado 1 mL de las tres diluciones decimales en 10 mL de BGBL_{2%} con campana de Durham. Incubar a 37 °C / 24 h.
 - 100 µL de agua. Preparación en gota pendiente. Observación microscópica.
- Día 2:
 - Lectura BGBL_{2%}. Más de 10 % de gas en campana. Recuento. Coliformes totales.
 - Pasar un asa de siembra de cada tubo positivo a un nuevo tubo manteniendo el etiquetado de la dilución. Incubar a 44,5 °C / 24 h.
 - Siembra en superficie desde TSB a agar Cetrimide. Incubar a 37 °C / 24 horas.
 - Siembra en superficie desde TSB a agar Baird-Parker. Incubar a 37 °C / 24 horas.
 - Siembra en superficie desde TSB a agar caldo EVA-Litsky. Incubar a 37 °C / 24 horas.
 - Enriquecimiento. Pase de 0,1 ml de BPW a 10 mL CSVBS. Incubar a 41,5 °C / 24 h.
 - Enriquecimiento. Pase de 1 ml de BPW a 10 mL CT-MK. Incubar a 37 °C / 24 h.
- Día 3:
 - Lectura BGBL_{2%}. Más de 10 % de gas en campana. P / A. Coliformes fecales.
 - Tubos positivos. Pasar a PW (5 %). Incubar a 37 °C / 48 h.
 - Lectura agar Cetrimide. Colonias verdosas con fluorescencia verde intensa al UV.
 - Lectura agar Baird-Parker. Colonias pequeñas, convexas, negras y con halo dorado.
 - Lectura EVA-Litsky. Color o sedimento color violeta.
 - Siembra por agotamiento en estría de agar XLD y agar BG a partir de CSVBS. Incubar ambas a 37 °C / 48 h.
 - Siembra por agotamiento en estría de agar XLD y agar BG a partir de CT-MK. Incubar ambas a 37 °C / 48 h.
- Día 4:
 - Lectura del agar XLD. Agar. Colonias rojas con centro negro. P / A de *Salmonella*.
 - Lectura BG-Agar. Color de traslúcido a rosa-rojo, con viraje del medio a rojo. P / A de *Salmonella*.
- Día 5:
 - A partir del agua de peptona. Realizar la prueba del indol. Indol positivo. Presencia de *E. coli*. Ausencia en caso contrario.

5. Preparación del material y equipos necesarios (sin pruebas bioquímicas).

- Cabina de flujo laminar.
- Equipo de filtración con membrana.
- Línea de vacío.
- Frascos de cultivo.
- Tubos de fermentación.
- Campanas de Durham.
- Tubos de ensayo.
- Placas de Petri.
- Asa de siembra.

6. Preparación de los medios de cultivo y reactivos necesarios (sin pruebas bioquímicas).

- Agua de peptona (PW).
- Agua de peptona tamponada (BPW).
- Caldo Selenito Verde Brillante Sulfamida (CSVBS).
- Caldo Tetrionato de Muller-Kaufman (CT-MK).
- Caldo Triptona Soja (TSB).
- Caldo Etil Violeta Azida de Litsky (E.V.A.).
- Caldo Bilis Lactosa Verde Brillante (B.G.B.L.)
- Agar de recuento en placa (PCA).
- Agar Cetrimide.
- Agar de Baird-Parker.
- Agar Verde Brillante Rojo Fenol (BG).
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).

7. Preparación y adecuación de la muestra.

- Al menos 2 muestras.
- De al menos 2 L c/u.
- Concentrar 100 / 1.
- Dilución madre: 10 / 1 y 1 / 1.