

1. Medios de cultivo.

## **1. MEDIOS DE CULTIVO.**

Para la investigación para un análisis específico de las aguas del parque se han utilizado cinco medios de cultivo sólidos en formato de placas Petri.

### **TSA Agar.(Tryptisoy-Agar).**

Será solamente utilizada en agua dulce pues es un medio de cultivo general que tiene una composición donde crecen la mayor parte de los microorganismos aerobios tanto exigentes como no exigentes pero pierde su propiedad con la sal del agua.

Aportan los nutrientes más comunes para todas las bacterias pues está compuesta de peptona de caseína (15g/L), peptona de soja (5g/L), cloruro sódico (5g/L) y agar-agar (15g/L).

Gracias a este medio se obtienen Ufc de los siguientes microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* y *Aspergillus níger*.

### **TCBS.(Medio cólera).**

Este medio selectivo es empleado para el aislamiento de virus patógenos como *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* sobre todo en productos marinos aunque también es válido para muestras de diversos orígenes.

Microorganismos	Desarrollo	Medio (viraje)
<i>Vibrio cholerae</i> Inaba	Satisfactorio	Amarillo
<i>Vibrio cholerae</i> Ogawa	Satisfactorio	Amarillo
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Moderado	Amarillo
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Satisfactorio	Azul
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	Leve	Amarillo
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273	Leve/Moderado	Azul claro - translúcido
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negativo	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Negativo/Leve	Azul

Sus componentes por litro son: Azul de Bromotimol (0,04g/L), Bilis Descada(8 g/L) Hierro(III) Citrato (1 g/L), Peptona Caseína (5 g/L), tri-Sodio Citrato (10 g/L), Sodio Colato (3 g/L), Agar (14 g/L), Azul de Timol (0.04 g/L), Extracto de Levadura (5 g/L), Peptona de Carne (5 g/L), Sacarosa (20 g/L), Sodio Cloruro (10 g/L) y Sodio Tiosulfato (10 g/L).

Debido al contenido de Sodio Tiosulfato, tri-Sodio Citrato y al pH alto (8,6) del medio se inhibe el crecimiento de los coliformes. A su vez la Bilis de buey y el Sodio

Clorato inhiben el crecimiento de los microorganismos Gram-positivos, aunque pueden crecer algunos Enterococos formando colonias pequeñas e incoloras. Las Peptonas, el Extracto de Levadura y la Sacarosa aportan los nutrientes. Los dos indicadores hacen que los vibrios den colonias amarillas por acidificación del medio y el Sodio Tiosulfato combinado con el Hierro (III) Citrato permiten la detección de la producción de Hidrógeno Sulfuro.

**VRBG Agar.(Bilis-Rojo Neutro-Violeta Cristal con Lactosa Agar).**

Se emplea fundamentalmente como medio selectivo y diferencial para el recuento de enterobacterias la detección y enumeración de coliformes en la leche y productos lácteos aunque también se emplea en aguas y otros productos alimenticios.

La presencia simultánea de violeta cristal y sales biliares asegura la inhibición del crecimiento de las bacterias Gram positivas. A su vez la fermentación de la lactosa da lugar por un lado a la formación de ácido, que hace virar a rojo el indicador, y por otro a la precipitación de las sales biliares alrededor de las colonias. Las colonias, presentan un color rojo púrpura y aparecen rodeadas por una franja rojiza.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la Colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	Satisfactorio	Roja
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Satisfactorio	Roja
<i>Salmonella gallinarum</i> NCTC 9240	Satisfactorio	Roja
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 29903	Satisfactorio	Roja
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Inhibido	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Satisfactorio	-

Su formula (por litro) se compone de Sales Biliares nº3 (1,5 g/L), Rojo Neutro (0,03 g/L) Extracto de Levadura (3 g/L) Sodio Cloruro (5 g/L) Violeta Cristal (0.002 g/L) Lactosa (10 g/L), Peptona de Gelatina (7g/L) y Agar (15 g/L), siendo su pH de 7,4.

Es un control microbiológico para *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

**Agar marino.**

Se emplea para el aislamiento y recuento de bacterias marinas heterotróficas. Por su contenido salino permite el crecimiento de las bacterias marinas en un medio análogo al natural. La peptona bacteriológica y el extracto de levadura constituyen el aporte nutritivo par el buen desarrollo de estos gérmenes.

Su composición por litro esta formada por: Acido Borico (0.022 g/L), Calcio Cloruro (1,8 g/L), Extracto de Levadura (1 g/L), Magnesio Cloruro (8,8 g/L), Potasio Bromuro (0,08 g/L), Sodio Cloruro (19,4 g/L), Sodio Hidrógeno Carbonato (0,16 g/L),

Sodio Silicato (0.004 g/L), Agar (15 g/L), Amonio Nitrato (0,0016 g/L), Estroncio Cloruro (0,034 g/L), Hierro Citrato (0,1 g/L), Peatona (5 g/L), Potasio Cloruro (0,55 g/L), Sodio Fluoruro (0,0024 g/L), di-Sodio Hidrógeno Fosfato (0.008 g/L) y Sodio Sulfato(3,24 g/L).

En este medio de cultivo aparecen *Vibrio fischeri* y *Vibrio harveyi*.

### McConkey Agar.

Un medio de cultivo y diferenciación de patógenos entéricos en muestras de origen clínico y/o alimentario. Por la presencia de las sales biliares y cristal vilesta se inhibe el crecimiento de las bacterias Gram positivas. Por la presencia de la lactosa, las bacterias capaces de fermentarla acidifican el medio, cambiando el color del rojo neutro y formando colonias rojas o rosadas, pudiendo presentar un halo turbio correspondiente al precipitado biliar.

Su formula (por litro) se compone de Lactosa (10 g/L), Sales Biliares (1,5 g/L), Rojo Neutro (0,03 g/L), Violeta Cristal (0.001 g/L), Peptona de Carne y Caseína (3 g/L), Peptona de Gelatina (17 g/L), Sodio Cloruro (5 g/L), y Agar (13, 5 g/L) con un pH casi neutro de 7,1.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia	Inóculo (ufc/ml)	Recuperación %
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Bueno	Rosa-rojo	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	Rosa-rojo (precip. biliar)	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bueno	Rosa-rojo (precip. biliar)	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 30
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	Bueno	Incolora	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 30
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Bueno	Incolora	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 5
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	Bueno	Incolora	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>	≥ 30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido	—	>10 <sup>5</sup>	≥ 0,01

Realiza el control biológico de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae* y *Staphylococcus aureus*.

## 2. Fichas de campo.

## 2. FICHAS DE CAMPO.

BASURAS		PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
Bolsas de plastico	Agua				
	Orilla				
Envases de cristal	Agua				
	Orilla				
Envases de plastico	Agua				
	Orilla				
portalatas	Agua				
	Orilla				
latas	Agua				
	Orilla				
neumaticos	Agua				
	Orilla				
tetrabricks	Agua				
	Orilla				
pilas/baterias	Agua				
	Orilla				
Papeles/cartones	Agua				
	Orilla				
escombros	Agua				
	Orilla				
maderas	Agua				
	Orilla				
restos vegetales	Agua				
	Orilla				
restos textiles	Agua				
	Orilla				
residuos sanitarios	Agua				
	Orilla				
corcho blanco	Agua				
	Orilla				
muebles/ electrodomesticos	Agua				
	Orilla				
residuos plasticos	Agua				
	Orilla				
materiales metalicos	Agua				
	Orilla				
otros	Agua				
	Orilla				

		PUNTO1		PUNTO2		PUNTO3		PUNTO4	
	PARAMETROS QUIMICOS	Oxígeno disuelto (mg/L)							
Fosfatos									
NO <sup>2-</sup> (mg/L)									
NO <sup>3-</sup> (mg/L)									
Dureza de carbonatos KH (°d)									
pH									
Azul de metileno (%)									
Permanganato									
Dureza total GH (°d)									
NH <sub>4</sub> (mg/L)									
Salinidad (‰)									
PARAMETROS FISICOS		Temperatura							
	Turbidez								
	Color								
	Olor								
	Aceites/Grasas								
	Espumas								

MEDIOS DE CULTIVO (n° de colonias por placa)		PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
TSA					
Mac Conkey					
TCBS					
VRBL					
Agar Marino					
PARAMETRO BIOLOGICOS		PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
Coliformes					
E. Coli					
Indol					
Plancton	Fitoplancton				
	Zooplancton				

Fecha							
Temperatura ambiente							
Meteorología		Soleado	nublado	lluvioso	medio nublado	visib. media	visib. nula
Mareas	Pleamar						
	Bajamar						
		PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4		
Hora							