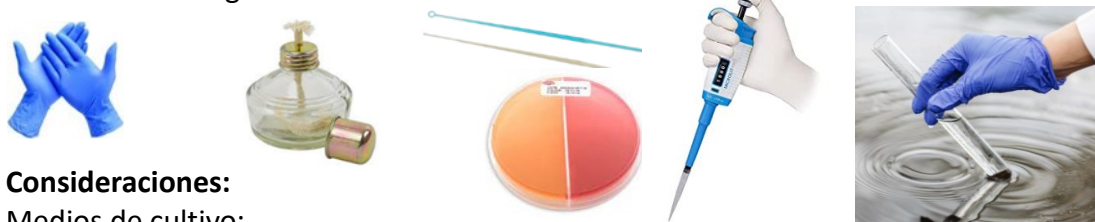


ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DIRECTO DEL AGUA (para detección de E.coli y coliformes fecales).

Antes de comenzar, hay que tener presente que hay que tener una placa para control negativo del agar a usar inoculado con peptona, de esta manera sabremos si la placa es negativa ante cualquier crecimiento bacteriano o micótico.

1. Materiales:

- Guantes estériles, Asa microbiológica, Micropipetas, Mechero bunsen o de alcohol, Placas Petri, Agares (MacConkey, MAOA, Tasa, TSA, PCA, SABOURAUD, AMH, Agar Sangre, VRGBA o VRG), rastrillo para microbiología (de vidrio o de plástico estériles), tubos eppendorf de 15 ml.
- Muestra de agua a analizar



2. Consideraciones:

- Medios de cultivo:

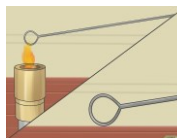
- **Agar sangre, cerebro – corazón, caldo de tetracionato:** *Streptococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* Se busca hemólisis de ciertas bacterias.
- **Agar MacConkey:** *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* (colonias fucsias), *Salmonella sp.* (colonias incoloras).
- **Agar Sabouraud:** hongos patógenos y saprófitos.
- **VRBL Agar:** bacterias coliformes en agua, leche, productos lácteos y otros alimentos.
- **Agar Eosina con Azul de metileno:** detección de bacterias gram -, enterobacterias y coliformes fecales.

3. Procedimiento

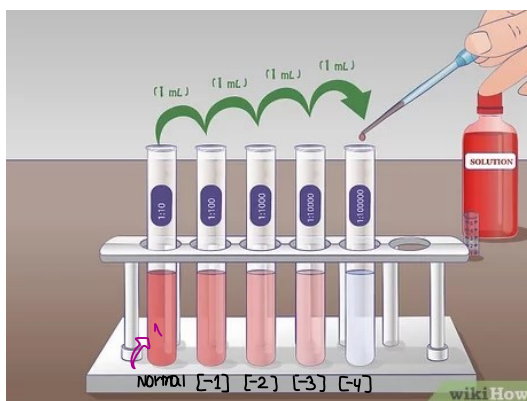
- 1) Mantenga siempre la bioseguridad al momento de manipular las placas Petri antes y después de sembrar en ellas.
- 2) Desinfecte la zona a trabajar y encienda el mechero para mantener la esterilidad de la zona a trabajar. El mechero se debe dejar unos 10 a 30 minutos para asegurar la esterilidad de la zona a trabajar.



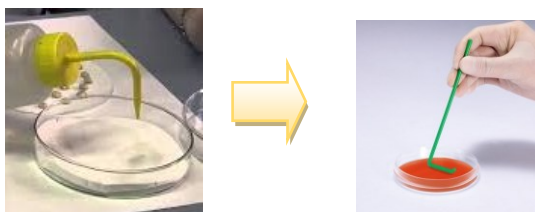
- 3) A continuación, prepare y esterilice los materiales a utilizar, ya sea mediante calor seco, UV o mediante autoclave.



- 4) Rotule las placas con sus datos correspondientes y recuerde manipular los medios de cultivo con la mayor esterilidad posible para mantener un cultivo puro o axénico.
- 5) Se realizará la técnica de siembra en superficie, el cual consiste en sembrar un líquido en la superficie del agar.
- 6) En un tubo eppendorf de 15 ml prepare la muestra y diluya esta en 2 tubos eppendorf en razones de 1:9, 1 ml de la muestra 1 y 9 ml de agua destilada. Repetir este procedimiento hasta obtener los 3 tubos. Los cuales deberán ser rotulados con “normal” el cual no tendrá ningún tipo de dilución, dilución [-1] el cual tendrá 1 ml del tubo normal y dilución [-2] el cual tendrá 1 ml del tubo de dilución [-1]. Homogenice los tubos problema.



- 7) Levante la tapa de la placa lo necesario para introducir la micropipeta, vierta el contenido en el centro de la placa (1000 μ l), sin tocar el medio de cultivo. Tape la placa y descarte la punta de la micropipeta.
- 8) Flamee un rastrillo de vidrio o utilice uno desechable estéril. Distribuya homogéneamente el inóculo en toda la superficie del medio.



- 9) Tape la placa y descarte el rastrillo o esterilícelo. Incube la placa sembrada a la temperatura adecuada.