

# Monitoreo bacterial

Módulo de aprendizaje #12

# Agenda

<u>Hora</u>	<u>Duración</u>	<u>Actividad</u>
<b>1:00</b>	<b>20 min</b>	<b>Actividad inicial</b>
<b>1:20</b>	<b>1 hora</b>	<b><i>E. coli</i> en el río Chattahoochee</b>
<b>2:20</b>	<b><i>15 min</i></b>	<b><i>BREAK</i></b>
<b>2:35</b>	<b>20 min</b>	<b>Todo sobre las bacterias</b>
<b>2:55</b>	<b>1 hora</b>	<b>Monitoreo bacterial: Protocolos</b>
<b>3:55</b>	<b><i>15 min</i></b>	<b><i>BREAK</i></b>
<b>4:10</b>	<b>20 min</b>	<b>Actividad de cierre</b>

# Actividad inicial

## Instrucciones:

Escribe tu respuesta a las preguntas de la hoja de ejercicios de la lección.

# Actividad inicial

- **Pregunta 1: ¿Qué ya sabe sobre la E. coli?**
- Por ejemplo, ¿por qué es un problema? ¿Cómo contrae el ser humano la E. coli? ¿Has oído hablar de ella en las noticias? Escribe la información que has aprendido esta mañana o lo que ya sabías.
- Siéntete libre de escribir información que hayas aprendido en la lección anterior, o cosas que ya sabías.

# *E. coli* en el río Chattahoochee

- En la siguiente actividad vamos a estudiar las concentraciones de *E. coli* en el río Chattahoochee.
- ¿Sabes dónde se encuentra el río Chattahoochee?

# *E. coli* en el río Chattahoochee

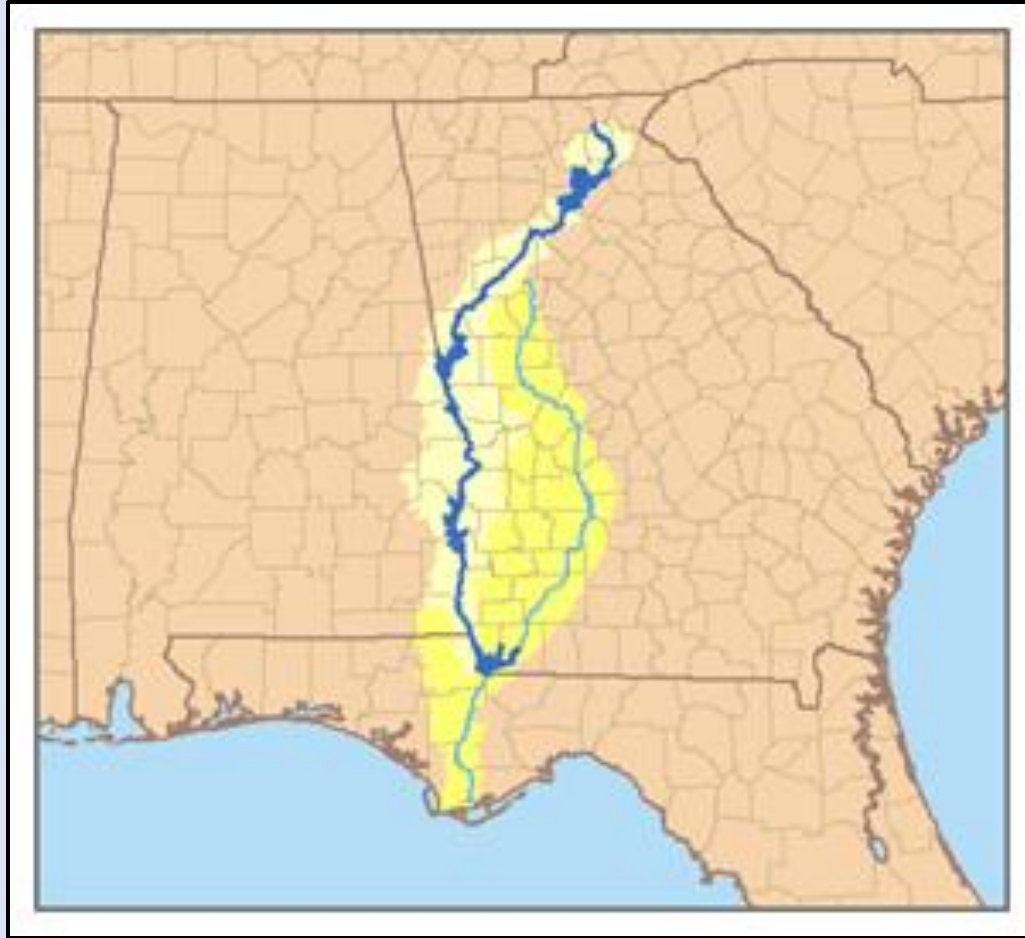


Photo credit: By Pfly - Own work, CC BY-SA 2.5,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1529531>

# *E. coli* en el río Chattahoochee

Vídeo de noticias del 7 de octubre de 2021 (WSB Atlanta):

<https://www.wsbtv.com/news/local/atlanta/rain-raises-e-coli-levels-chattahoochee-dangerously-high-levels/3PYOXDOHYJFBHKSYS4QK7VXE6I/>

# *E. coli* en el río Chattahoochee: Preguntas de debate

1. ¿Qué tan altas fueron las concentraciones de *E. coli* en el Chattahoochee en octubre de 2021?



# *E. coli* en el río Chattahoochee: Preguntas de debate

1. ¿Qué tan altas fueron las concentraciones de *E. coli* en el Chattahoochee en octubre de 2021?
2. ¿Cómo entra la *E. coli* y otras bacterias en el Chattahoochee? (pista: hay dos formas)

# *E. coli* en el río Chattahoochee: Preguntas de debate

1. ¿Qué tan altas fueron las concentraciones de *E. coli* en el Chattahoochee en octubre de 2021?
2. ¿Cómo entra la *E. coli* y otras bacterias en el Chattahoochee? (pista: hay dos formas)
3. ¿Por qué los bañistas deben evitar el Chattahoochee cuando los niveles de *E. coli* superan la norma establecida?

# *E. coli* en el río Chattahoochee - Actividad

- A continuación, vamos a visitar la página BacteriALERT de Chattahoochee Riverkeeper para explorar los datos de *E. coli* en tiempo real.

# *E. coli* en el río Chattahoochee - Actividad

Instrucciones para acceder a la página Chattahoochee BacteriALERT:

1. Ir a Google
2. Escribir "Chattahoochee RiverKeeper"
3. Haz clic en el sitio web (Chattahoochee.org)
4. A lo largo del panel superior de la página principal, desplácese sobre "Our Work"
5. En "Our Work", haga clic en "Water Quality Monitoring"
6. Desplácese hasta la parte inferior de la página.
7. Haga clic en "View BacteriALERT".

**Una vez hayamos accedido a la página web, dispondrás de 40 minutos para seguir las instrucciones/preguntas de la hoja de ejercicios de tu lección.**

# Descanso!

# Todo sobre las bacterias!

- A continuación, vamos a aprender más sobre las bacterias y E. coli.
- Hoy no hay notas guiadas, pero siéntete libre de tomar tus propias notas y/o hacer preguntas durante la presentación.

# Todo sobre las bacterias !

¿Qué son las bacterias?

- Organismos microscópicos unicelulares.
- Pueden sobrevivir y adaptarse a casi todas las condiciones presentes en la Tierra.
- La mayoría de las bacterias son beneficiosas y responsables de importantes procesos medioambientales como la descomposición, el ciclo de nutrientes y la eliminación de toxinas medioambientales.
- Sin embargo, algunas bacterias son patógenas (o causantes de enfermedades).

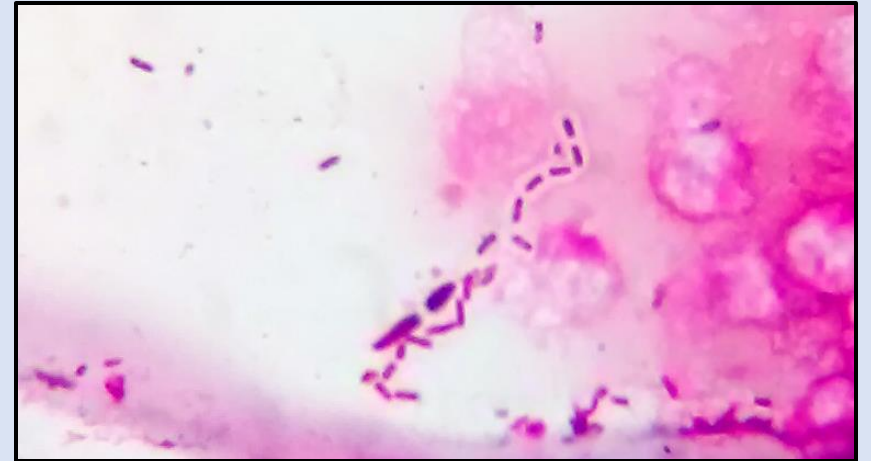


Photo credit: By Microrao - Own work, CC BY-SA 4.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=82091829>

# Todo sobre las bacterias!

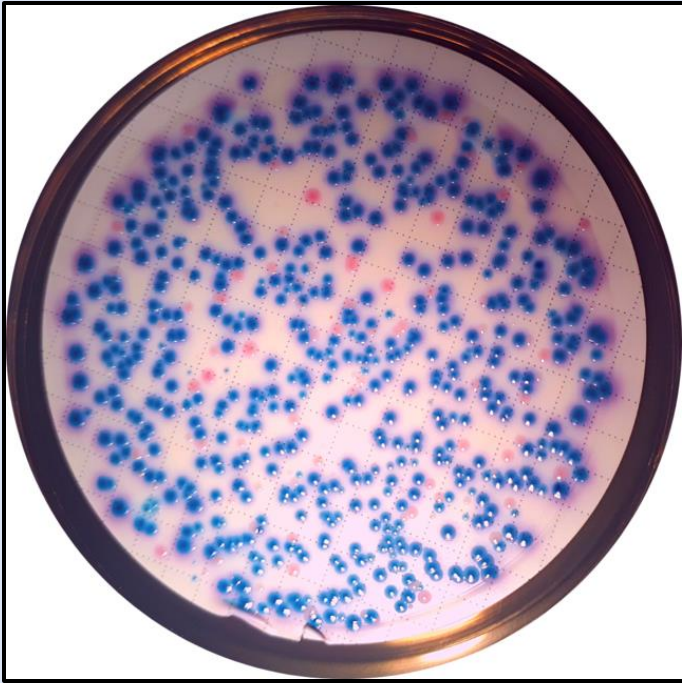


Photo credit: Turasayb, CC BY-SA 4.0  
<<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>>,  
via Wikimedia Commons

¿Qué son las bacterias coliformes?

- Las bacterias coliformes son miembros de la familia Enterobacteriaceae.
- Algunas se encuentran de forma natural en el suelo y otras viven en el tracto intestinal de animales de sangre caliente.
- Los tipos que se encuentran en los desechos humanos y animales se denominan bacterias coliformes fecales.



# Todo sobre las bacterias!

¿Qué es E. coli?

- Escherichia coli (E. coli) es un subgrupo de bacterias coliformes fecales.
- Incluso dentro de esta especie, hay muchas cepas. Algunas son inofensivas y otras patógenas.
- E. coli es una bacteria indicadora útil. Es un indicador de contaminación fecal - ¡pero su presencia no significa necesariamente que haya patógenos! (¡Esto se debe a que muchas cepas de E. coli no son patógenas!)
- Sin embargo, si las bacterias E. coli están presentes en altas concentraciones, puede haber riesgo para la salud humana.

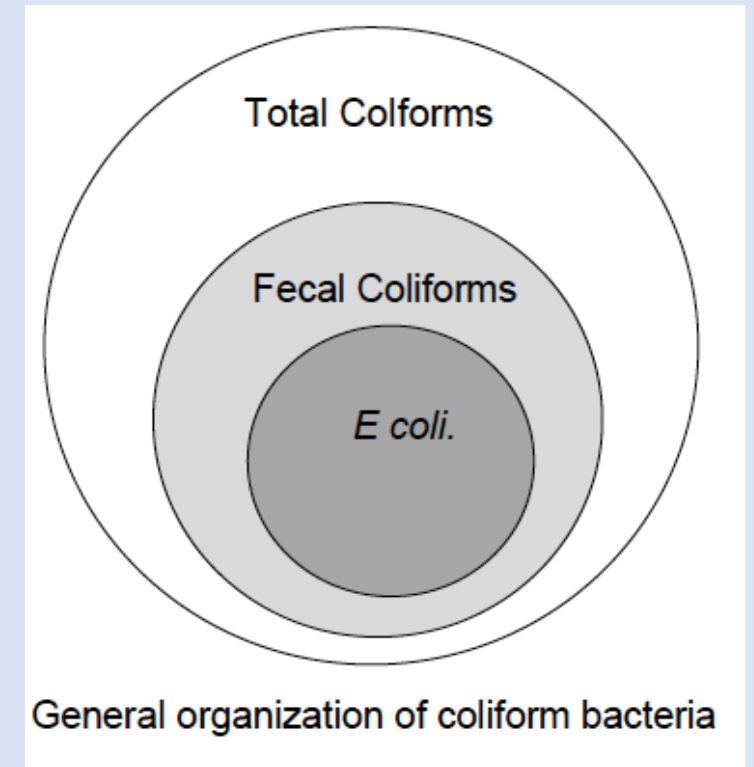


Photo credit: from Georgia Adopt-A-Stream Bacterial Monitoring Manual

# Todo sobre las bacterias!



Photo credit: User:tlcoles, CC BY-SA 3.0  
<<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>>,  
via Wikimedia Commons



Photo credit: Author, CC0,  
via Wikimedia Commons

## Cómo llega la E. coli a los cursos de agua?

- Contaminación por fuentes difusas
  - La materia fecal animal se encuentra en la tierra (parques para perros, granjas lecheras, aplicación en tierra de desechos animales, operaciones avícolas, gansos en parques, etc.). Cuando llueve, la escorrentía puede llevar esta materia fecal a arroyos y ríos.
- Contaminación puntual
  - Fosas sépticas defectuosas
  - Fugas en las tuberías de alcantarillado
  - Plantas de tratamiento de aguas residuales

# Todo sobre las bacterias!

## ¿Cómo afecta la E. coli a la salud humana?

- Mayores niveles de la bacteria = mayor riesgo de gastroenteritis
  - Vómitos, diarrea, fiebre, náuseas, dolor de estómago; infecciones cutáneas; e infecciones respiratorias, oculares, auditivas, nasales, de garganta
- Niveles excesivos de E. coli pueden indicar la presencia de patógenos nocivos como:
  - E. coli 0157
  - Salmonella
  - Shigella
  - Cryptosporidium
  - Giardia
  - Hepatitis A

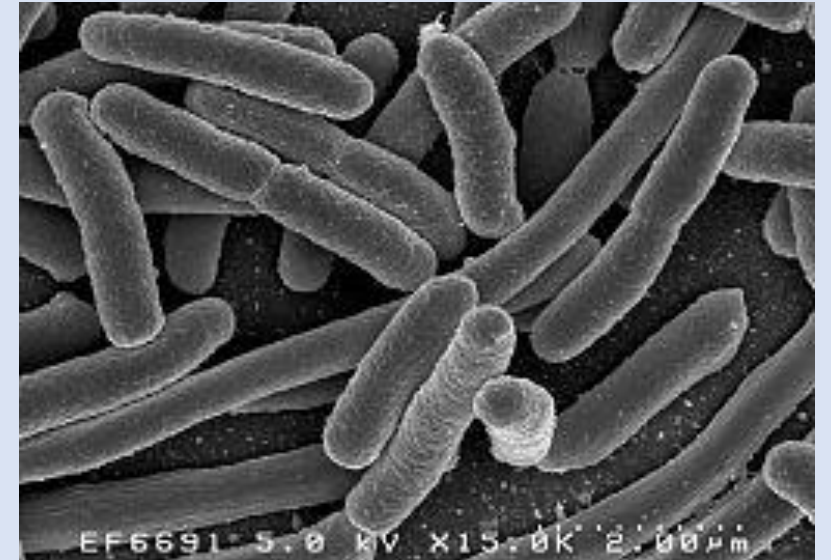


Photo credit: NIAID, Public domain, via Wikimedia Commons

# Normas recomendadas de *E. coli* para aguas recreativas

	<b>Designated Swimming</b>	<b>Moderate Swimming Area</b>	<b>Light Swimming Area</b>	<b>Infrequent Swimming Area</b>
<b><i>E. coli</i> (cfu/100 ml)</b>	<235	<298	<410	<576

(from US EPA 1986, 2002a)

# Monitoreo bacterial: Protocolos

El proceso de monitoreo bacteriano consta de 5 pasos:

- 1) Preparación de la muestra en blanco/control
- 2) Recogida de muestras sobre el terreno
- 3) Colocación de las muestras
- 4) Incubación
- 5) Lectura de los resultados

Los pasos 1 y 2 ya se han realizado. Hoy completaremos los pasos 3 y 4 con nuestro arroyo de estudio.

# Monitoreo bacterial: Protocolos

## Materiales necesarios

- Para recoger:
  - Formulario de datos bacterianos (p. 34 de H1)
  - Botas
  - Bolsas Whirl-pak
  - Guantes
  - Rotulador
  - Nevera con hielo
- Para emplatar/incubar
  - Vaso para bolsas Whirl-pak
  - Placas 3M Petrifilm E. coli
  - Pipeta de 1mL y puntas estériles
  - Incubadora
  - Rotulador
  - Gafas de seguridad
  - Spray Lysol

# Paso 1: preparación de la muestra en blanco/control

**¿Qué es una muestra en blanco/control?**

# Paso 1: preparación de la muestra en blanco/control

## **¿Qué es una muestra en blanco/control?**

- Para el monitoreo bacteriano, es cuando el científico llena una bolsa de muestra con agua destilada en lugar de agua de muestra.

## **¿Por qué podríamos necesitar una muestra en blanco/control?**



# Paso 1: preparación de la muestra en blanco/control

## **¿Qué es una muestra en blanco/control?**

- Para el monitoreo bacteriano, es cuando el científico llena una bolsa de muestra con agua destilada en lugar de agua de muestra.

## **¿Por qué podríamos necesitar una muestra en blanco/control?**

- Una muestra de control le asegurará que está practicando técnicas estériles (limpias) y que sus muestras no están contaminadas.
- El análisis de laboratorio del blanco debe dar como resultado una lectura de cero bacterias. Si está contaminada, deberá desechar todas las muestras.

# Paso 1: preparación de la muestra en blanco/control

1. While in the field, correctly label 1 Whirl-pak® bag with a permanent marker for the blank/control.
2. Put on latex gloves and remove the perforated seal from the top of the Whirl-pak® bag.  
**IMPORTANT!** Do not touch the inside of the Whirl-pak® as this will contaminate your sample and alter the results.
3. Use the two small white tabs to pull open the bag.
4. Fill the Whirl-pak® bag 2/3 full with distilled water.
5. Grab the ends of the twist ties and “whirl” or spin the bag tight. Cross the twist ties to close the bag.
6. Make sure the bag is closed securely by inverting the bag to test the seal (no water leaks out).
7. Immediately place the Whirl-pak® bag into a properly disinfected cooler with ice and store there throughout your sampling event.

## Paso 2: Recolección de muestras del sitio en el campo

1. Correctly label new Whirl-pak® bag with a permanent marker for the sample/site information.
2. Put on latex gloves and remove the perforated seal from the top of the Whirl-pak® bag.  
**IMPORTANT!** Do not touch the inside of the Whirl-pak® as this will contaminate your sample and could alter the results.
3. Use the two small white tabs to open the bag.
4. While holding the yellow twist ties place the bag in the water at mid-stream, mid-depth or in a well-mixed area and allow the water to flow into the bag. Fill the bag with water up to 2/3 full.  
\*Remember to collect the water sample (at least wrist deep) upstream of where you are standing. If sampling from a bridge, use a rope tied to a small disinfected bucket to grab the sample.
5. Grab the ends of the twist ties and “whirl” or spin the bag until tight. Cross the twist ties to close the bag.
6. Make sure the bag is closed securely by inverting the bag to test the seal (no water leaks out).
7. Immediately place the Whirl-pak® bag into a cooler with ice.
8. Optimal holding time for samples on ice or refrigeration is less than 6 hours but no more than 24 hours.
9. Properly dispose of gloves.



# Paso 2: Recolección de muestras del sitio en el campo

- Por qué quieres tomar muestras río arriba desde donde estás parado?

# Paso 2: Recolección de muestras del sitio en el campo

- ¿Por qué quieres tomar muestras río arriba desde donde estás parado?

Para asegurarte de que no estás recogiendo agua después de haber removido el sedimento.

# Repaso de la pipeta

El procedimiento para el paso 3 implica el uso de una pipeta.

¿Alguien ha utilizado antes una pipeta?

¿Qué es una pipeta y por qué la utilizamos?



Photo credit: By Sandypichapa - Own work, CC BY-SA 4.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=49356166>

# Repaso de la pipeta

Cómo se usa una pipeta:

[https://www.youtube.com/watch?v=8Afh\\_0IAfrQ](https://www.youtube.com/watch?v=8Afh_0IAfrQ)

# Repaso de la pipeta

Practiquemos el uso de la pipeta con agua destilada.

Pasos:

- 1) Ajustar/comprobar el volumen
- 2) Poner una punta en la pipeta
- 3) Presionar el émbolo (1er tope)
- 4) Extracción de la solución
- 5) Expulsión de la solución (1ª parada y 2ª parada)
- 6) Desechar la punta



# Paso 3: Colocación de las muestras

¿Qué es el petrifilm?

- Petrifilm es una placa que se cubre con un determinado agar. El agar vuelve azules las colonias de E. coli y rojas las de coliformes. La película superior captura el gas producido por las colonias.



Photo credit: Georgia Adopt-A-Stream directions for Bacterial Monitoring

# Paso 3: Colocación de las muestras

Nos dividiremos en tres grupos. Cada grupo emplatará una muestra de nuestro arroyo de estudio (Lily Branch).

La etiqueta de cada placa debe incluir:

- Nombre del arroyo
- Rep #
- Fecha de inicio de la incubación
- Hora de inicio de la incubación

# Paso 3: Colocación de las muestras

1. Clean working area with disinfectant spray and let dry.
2. Put on latex gloves. NOTE\* You should always wear these when handling the plates (even when going to read them).
3. Correctly label plates (1 for the blank & 3 for the site sample), and lay them on a clean, flat surface. Plates should indicate stream name, site number and the incubation start time and date. See below figure for examples of how to label plates.

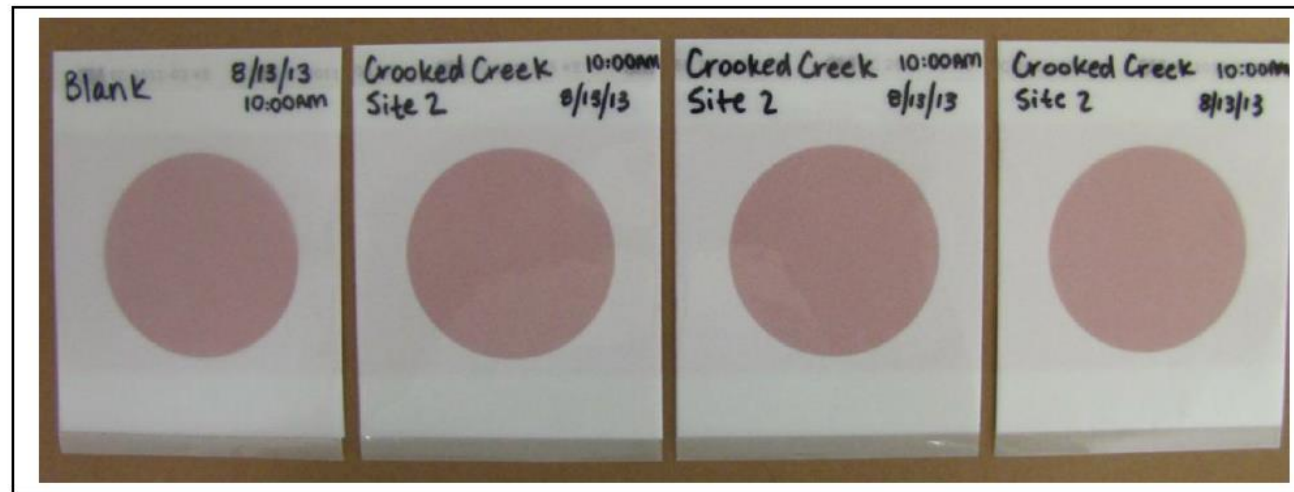


Photo credit: Georgia Adopt-A-Stream directions for Bacterial Monitoring

# Paso 3: Colocación de las muestras

4. Gently shake Whirl-pak® bag to ensure an even mix of sample.
5. Place the Whirl-pak® bag in a cup to keep from spilling and open the bag using the white tabs.  
**IMPORTANT!** Do not touch the inside of the Whirl-pak® as this will contaminate your sample and could alter the results.
6. Carefully remove pipette tip from sterile container. Don't touch the pipette tip inside of the sterile container and practice caution to ensure that the tip is not contaminated thereafter.
6. Pipette 1 ml of the sample using the fixed-volume pipettor.
7. Lift the top film of the Petrifilm™ plate and dispense 1 ml of sample on the center of the circular plate.
8. Slowly roll the top film down onto the sample until the plate is completely covered to prevent trapping air bubbles. Do not touch the center of the petrifilm plate.
9. If necessary, distribute the sample evenly by using the 3M® spreader or slightly tilting the Petrifilm™ plate back and forth. Tilting too much will cause the sample to pour out of the plate.
10. Leave plate undisturbed for one minute to allow the gel to solidify and then place in the incubator.
11. Repeat: Plate two more samples for a total of three plates per sample site.

# Paso 4: Incubar las muestras

¿Qué es una incubadora? ¿Por qué las utilizamos?

# Paso 4: Incubar las muestras

¿Qué es una incubadora? ¿Por qué las utilizamos?

Una incubadora de laboratorio es una caja aislada y calefacionada que se utiliza para cultivar y mantener cultivos microbiológicos o celulares. La incubadora mantiene la temperatura, la humedad y el contenido gaseoso óptimos de la atmósfera en su interior.



Photo credit: By Uncle Zooey - Own work, CC BY-SA 4.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=48998391>

# Paso 4: Incubar las muestras

1. Plan to turn on the incubator prior to plating to ensure it will be ready. Place the incubator lid on top.
2. Insert the thermometer into the incubator.
3. Once the incubator is at  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , place the processed Petrifilm plates in the incubator and reset the thermometer.
4. Incubate plates in a horizontal position, with the top film side up, in stacks of up to 20 plates. **Incubate for  $24 \pm 1$  hour at  $35 \pm 1$  degrees Celsius.**
5. After 24 hours, remove plates (with gloves on) and count *E.coli* colonies.
6. Record the minimum and maximum temperatures that are displayed on the thermometer after incubating, as well as the time in/out of the incubator.
7. Record all data on the Bacterial Data Form.
8. Dispose of plates by spraying them with an appropriate disinfectant and placing in a sealed zip lock bag, discarding in the trash.

No te olvides de limpiar cuando termines.  
Utiliza un 10% de lejía.



# Descanso!

# Actividad de cierre

## Instrucciones:

1. Escribe tu respuesta a las preguntas en el papel.

# Actividad de cierre

## Escenario:

Imagina que eres voluntario de la Red de la Cuenca Hidrográfica del Alto Oconee (un grupo de ciencia ciudadana). Estás midiendo los niveles de E. coli en ríos y arroyos de los alrededores de Athens durante los primeros meses de otoño. Va a tomar muestras de una popular piscina, que se encuentra en la intersección de los arroyos Barber y McNutt. La piscina está situada cerca de un parque donde mucha gente pasea a sus perros. La concentración de E. coli en la piscina es de 450 ufc/100 ml. Al revisar los datos anteriores de UOWN, se da cuenta de que este lugar tiene un historial de concentraciones de E. coli elevadas (por encima de la norma de la EPA).

## Responda a las siguientes preguntas:

- 1) ¿Cómo piensa comunicar sus hallazgos a los ciudadanos locales?
- 2) Se le pide que aconseje a los gestores del parque sobre lo que podrían hacer para ayudar a disminuir las concentraciones de E. coli en los arroyos y la piscina. ¿Qué sugeriría?