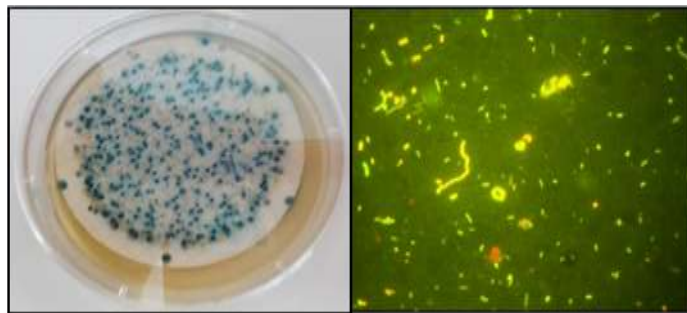


# BAKTERIO-POPULAZIOAK ZENBATZEKO OINARRIZKO METODOAK

## ARIKETEN ZUZENKETA



Inés Arana, Maite Orruño

Immunologia, Mikrobiologia eta Parasitologia Saila

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea



## I. Proiektu orokorra

Ibai baten karakterizazio mikrobiologikoa. Hurrengo mikroorganismo-populazioak zehaztu behar dira: bakterio totalak, bakterio kimioorganotrofoak eta *Escherichia coli*.

**Azpiproiektu 1 (1go gaia):** Ibaiak, bere jaiotzatik 5 km ibili ondoren, hiri txiki bat zeharkatzen du. Hiriak hondakin-uren araztegia dauka eta ur tratatua ibaira isurtzen du. Bere jaiotzatik 9 km-tara, abere-hazkuntzari lotutako eskualdea batetik igarotzen da. Hemendik ibai-ahora arte (jaiotzatik 20 km-tara) ez dago populazio edo jarduera aipagarririk. Ibaiaren ibilbide osoa Euskal Herrian kokatzen da. Informazio honekin, deskriba ezazu nola planifikatuko zenukeen ibaiaren ikerketa mikrobiologikoa urtebetean zehar: laginketa-estazioen kokapena (aukeratzeko irizpideak komentatu), laginketaren aldizkakotasuna, laginketa egiteko prozedura, erabilitako ontziak eta laginen garraioa laborategira.

**Proposamena:** Gutxienez laginketa-leku (P) bat kokatu behar da jarduera/ezaugarri aipagarria erakusten duten puntu bakoitzean, eta ikerketa urtean zehar (lagin bat/hilabete) egin behar da. *Ibaiak, bere jaiotzatik (P1, ibaiaren jaiotza) 5 km ibili ondoren, hiri txiki bat zeharkatzen du (P2, hirian sartu aurretik). Hiriak hondakin-uren araztegia (P3, araztegiaren ondoren) dauka eta ur tratatua ibaira isurtzen du. Bere jaiotzatik 9 km-tara, abere-hazkuntzari lotutako eskualde (P4, abere-hazkuntzari lotutako eskualdean) batetik igarotzen da (P5, eskualde hau pasa eta gero). Hemendik ibai-ahora arte (jaiotzatik 20 km-tara) ez dago populazio edo jarduera aipagarririk (P6, P7,... azken kilometroetan). Ibaiaren ibilbide osoa Euskal Herrian kokatzen da (garai euritsuak kontuan hartu, ez egin laginketarik ekaitz baten ondoren edo oso tenperatura garaiko egunetan, etab.).*

Gainera, ontziak (beirazko botilak [gomendagarrienak] edo esterilizatu ahal diren plastikozko ontzi hermetikoak), laginketa mota eta laginen garraio-prozedura aukeratu behar dira. Laginketa-lekuetara sarbidearen arabera, laginketa egiteko prozedura aukeratuko da: zuzena edo kubo baten bidez. Garrantzitsua da tenperatura *in situ* neurtzea.

**Azpiroiectu 2 (3. eta 4. gaiak):** Deskribatu mikroorganismoak zenbatzeko aukeratu dituzten metodoak. Bakterio kultibagarriak, bakterio kimioorganotrofoak eta *Escherichia coli* kuantifikatzeko, zeintzuk dira hazkuntza-medio egokienak? (konposaketa eta prestaketa azaldu).

**Proposamena:** Metodoric oinarrikoena, bakterio edo mikroorganismo totalak epifluoreszentzia mikroskopioa erabiliz zenbatzea da. Bakterio kimioorganotrofoak kuantifikatzeko, laginen diluzio hamartarrak prestatu eta diluzioak agar elikagarrian eroin behar dira. *Escherichia coli* kuantifikatzeko hazkuntza-medio hautakorrek edota bereizgarriak erabiltzen dira (adib. Mc Conkey edo EMB agarrak)

**Azpiroiectu 3 (2. gaia):** Prozesuaren fase guztietan mikroorganismoak kontrolatu behar dira. Adierazi metodo egokienak erabilitako materialak esterilizatzeko:

Lagingailuak

Hazkuntza-medioak

Diluitzaileak

Kutsatutako materiala

**Proposamena:** Metodoric ohikoena autoklabean egindako esterilizazioa da. Dena den, aukeratutako materialaren arabera metodoa alda daiteke.

## II Proiektu orokorra

Lankide batek MacConkey agarra duten 500 plaka uzten dizkizu esperimentu bat egiteko. Zuk poz-ozik onartzen dituzu, baina ez zara fidatzen hazkuntza-medioaren kalitateaz. Nola egingo zenuke kalitate-kontrola? Nola egiaztatuko zenuke hazkuntza-medioa esterila eta egoera onetan dagoela?

**Proposamena:** 20 plaka aukeratu eta 28-30°C-tan inkubatu 4 egunetan zehar.

Gainera, hazkuntzaren kontrolak egin behar dira:

Kontrol negatiboa → bakterio Gram positiboa (adib. *Micrococcus luteus*)

Kontrol positiboa → bakterio Gram negatiboa (adib. *Escherichia coli*)

Laktosaren hartxiduraren kontrolak ere egin behar dira:

Laktosa positiboa → *Escherichia coli* (andui hartzitzailea)

Laktosa negatiboa → *Pseudomonas*

Bukatzeko, inokulatutako plakak tenperatura egokian inkubatu eta emaitzak begiratu.

### III Proiektu orokorra

Bainu-sasoiaren hasiera gutxi barru hasiko da. Laborategiko nagusiak eskatzen digu plan bat prestatzea Bilboko igerilekuen laginketa eta analisia egiteko.

Hurrengo plana aurkezten diogu astebeteko lanarekin:

#### 1. eguna

- Bilboko igerileku handieneko hainbat ur-lagin hartu (sakontasun eta ordu ezberdinetan). Laginaren bolumena: 300 ml **Akatsa:** igerileku guztietan hartu behar dira ur-laginak. Posiblea bada, igerilekuaren erdialdean edo 2 lekutan (tamainaren arabera). Ez dauka zentzurik laginak hartzea sakontasun ezberdinetan. Gainera, kloroa neutralizatu behar da (neutralizatzaileak gehitu).

- Laginak hartzeko materiala: aho zabala eta itxigailu hermetikoa dituzten beirazko botila esterilak.

- Laborategira garraiatzeko, laginak hermetikoki ixten diren plastikozko poltsa esteriletara pasatu. **Akatsa:** garraioa egiteko ontzirik egokienak laginak hartzeko erabilitako botilak dira.

- Laginak errotulatu, errotulatzailer iraunkorra erabiliz. Lagin bakoitzari erreferentzia bat eman eta gero, laginketaren informean idatzi. Informean, erreferentzia bakoitzeko kokapena, ordua eta beste datuak idatziko ditugu.

- Garraioa tenperatura baxutan (4°C, hozkailuan) egin.

- Laborategira heltzean, hartutako laginen kopurua ikusita, prestatu behar dugun hazkuntza-medioaren kantitatea erabaki. **Akatsa:** hazkuntza-medioak eta material guztiak prestatu eta esterilizatu behar dira ikerketa hasi baino lehen.

- Laginak 4°C-tan gorde.

#### 2. eguna

- Hazkuntza-medioak prestatu. **Akatsa:** lehenago egin behar da.

#### 3. eguna

- Hazkuntza-medioak esterilizatu. **Akatsa:** prestatu eta berehala esterilizatu behar dira.

- Analisia egin (erein eta inkubatu). **Akatsa:** lehenago egin behar da.

#### 4. eguna

.....

Bilboko igerilekuen laginketa eta analisia egiteko aurkeztutako plana irakurri ondoren, gure nagusiak gu kaleratzea erabakitzen du. Zergatik? Puntuz puntu, azaldu planteamendua okerra den ala ez eta arrazoiak eman.

### IV Proiektu orokorra

Zeintzuk dira prozedura, metodo edo teknika egokienak hurrengo materialetan dauden mikroorganismoak kontrolatzeko edo ezabatzeko? Arrazoitu erantzuna.

| Materiala  | Metodoa                                       | Arrazoia   |
|--|---|--|
| Hazkuntza-medioa duen matrazea. Hazkuntza-medioa prestatzeko behar den legamia-aterakina | <b>Autoklabea:<br/>1,1 atm, 15 min.</b>       | <b>Hazkuntza-medioan ez dago osagai termolabilik</b>                         |
| Beirazko pipetak   | <b>Pasteur labea</b>                          | <b>Beira beroarekiko erresistentea da. Ondo paketatua egon behar dira</b>    |
| Zentrifugazioak egiteko plastikozko saio-hodiak  | <b>Autoklabea</b>                             | <b>Gaur egungo plastikoa erresistenteak dira</b>                             |
| Penizilina (kontzentrazioa: 128 mg/l)  | <b>Iragazketa</b>                             | <b>Termolabila</b>   |
| Ereintza-ganberatik zirkulatzen den airea  | <b>Iragazketa</b>                             | <b>Airea (gasa)</b>  |
| Beirazko saio-hodiak, laginen diluzioak prestatzeko                                      | <b>Autoklabea:<br/>1,1 atm, 15 min.</b>       | <b>Beira beroarekiko erresistentea da.</b>                                   |
| Lan-lekuaren gainazala   | <b>Desinfektatzailea (lixiba, etanola)</b>    | <b>Tamaina handiko gainazal bizigabea</b>                                    |
| Zukua  | <b>Pasteurizazioa</b>                         | <b>Beroarekiko sentikorrek diren osagaiak (azukre-kantitate handiarekin)</b> |
| Ereintza-euskarri metalikoa  | <b>Errausketa</b>                             | <b>Ezabatzeko material organikoa</b>   |
| Edateko ura  | <b>Desinfektatzailea (sodio hipokloritoa)</b> | <b>Bizigabea</b>   |