

JORNADA DE TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA SOBRE EJERCICIOS INTERLABORATORIOS EN FANGOS ACTIVOS COMO SISTEMA DE CONTROL DE CALIDAD EN LA EDAR (SEVILLA, 22 OCTUBRE 2004).

Realizado por: Natividad Fernández (gbs; SAV-DAM-PRIDESA) , Laura Isac (gbs; RNM310), Fernando Estévez (EMASESA), Carlos Grandio (AGUAS DE HUELVA), Andres Zornoza (UTE AVSA-EGEVASA) y Eva Rodríguez (gbs; SEAFSA).

www.grupobioindicaciónsevilla.es

INTRODUCCION

El **análisis de fangos activos** proporciona al explotador de la EDAR una información muy útil, tanto para el **control** rutinario del proceso, como para la **optimización** del mismo.

Este tipo de estudios requiere un personal especializado del que no se dispone en la mayoría de los casos. Nos encontramos, pues, ante un análisis no estandarizado, complejo, pero que aporta una visión rápida del funcionamiento del proceso de depuración y que nos permite prever alteraciones en el mismo.

Los ejercicios de intercomparación entre laboratorios se presentan como una herramienta básica para unificar criterios, sobre todo en análisis microbiológicos. Nos brindan además, la oportunidad de comparar los resultados y métodos con los obtenidos sobre la misma muestra por otros laboratorios, más o menos especializados en la materia.

Sobre esta base y con el objetivo principal de “estandarizar” los análisis microbiológicos en el fango activo, GBS organiza **ejercicios interlaboratorios** abiertos a todos los profesionales del sector interesados en iniciarse o profundizar en este tipo de estudios, ofreciendo la oportunidad de afrontar un “problema real” (muestra) , con un **Manual de Trabajo** conocido, y comparar los resultados obtenidos con la valoración efectuada, sobre esa misma muestra, por otros profesionales.

La documentación básica para la realización del trabajo, aportada por GBS, es un protocolo detallado y muy completo que constituye el pilar para iniciarse en el estudio de análisis de fangos activos. Los resultados obtenidos por parte de todos los participantes se recogen en un **Informe** junto con fotografías, consultas a expertos y apreciaciones particulares, (dependiendo de los casos) haciendo de este documento un **material formativo** bastante útil para el aprendizaje de los técnicos menos expertos, así como un complemento para aquellos que ya han trabajado algo en esta materia.

En estas Jornadas de Transferencia se pretende resumir los resultados obtenidos en los ejercicios del pasado año: dificultades surgidas a profesionales que se inician en este tipo de análisis, profundización en identificación de organismos complejos, conclusiones obtenidas por parte de GBS y sus implicaciones en el protocolo de trabajo...

IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO PARA LA GESTIÓN ÓPTIMA DE UNA EDAR:

Fernando S. Estévez Pastor; Jefe de Departamento de Aguas Residuales de EMASESA.

Después de efectuar un breve recorrido por lo que el autor considera los umbrales de lo que hoy constituye el control microbiológico en una EDAR en España, posteriormente, plantea algunas de las posibles líneas de trabajo sobre las que continuar y profundizar.

En 1986 y a raíz de las exigencias del Ayuntamiento de Madrid respecto a los informes de las EDAR, las empresas explotadoras se ven obligadas a invertir para dotar las instalaciones de medios técnico y humanos relacionados con los análisis biológicos de fangos activos.

A partir de entonces la aplicación del “índice de Madoni” comienza a ser frecuente así como la aplicación de las técnicas de reconocimiento y control de los microorganismos filamentosos, lo que implica continuas mejoras en los equipos utilizados para estos fines.

El Ayuntamiento de Madrid publica en 1997 un manual de trabajo para la realización de análisis físico-químico con un apartado dedicado a análisis del fango activo, fruto de la labor de sus técnicos que se reúnen con el fin de unificar y sistematizar los trabajos de observación microbiológica que se venían realizando en las EDAR.

En la actualidad un buen informe sobre el tratamiento biológico no está completo, si junto con los análisis físico-químicos, no aparecen los microbiológicos, con un recuento de las especies de ciliados y de filamentos y de su abundancia, para compararlo con el informe anterior y con las calidades que nos indican los análisis físico-químicos. Ya apenas se cuestiona la necesidad de personal debidamente formado y buenos medios para la realización de estos trabajos.

Los índices con los que hoy se trabaja se basan en aspectos que desembocan en resultados “confirmativos” del estado de una EDAR, y en particular de su proceso biológico.

En un futuro próximo o a medio plazo se debería progresar hacia aspectos “preventivos y evolutivos”, es decir, métodos que consideren aspectos que nos puedan indicar el camino que va a tomar nuestro proceso y las medidas necesarias para su corrección o variación a nuestro antojo.

Estos métodos deberían tener una fuerte relación y correlación con los cambios producidos por causas externas (variaciones en el efluente) o internas (variaciones en el proceso). Será deseable que se pudieran incorporar a los modelos matemáticos que intentan abrirse camino como sistemas auxiliares en la explotación de una EDAR.

Necesariamente, los nuevos avances y propuestas no deben ser extremadamente académicas, sino fundamentalmente prácticas. El incremento de las inversiones dedicadas a formación y medios materiales, el fomento de las publicaciones de calidad, la creación de grupos de trabajo, el seguimiento de las publicaciones y el aumento de los ejercicios interlaboratorios, serán los pilares sobre los que asentar el futuro de las nuevas técnicas para análisis y control microbiológico.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES OBTENIDAS DE LOS

INTERLABORATORIOS REALIZADOS EN EL CIRCUITO 2003-2004: Laura

Isac (RNM 310).

El objetivo fundamental de un ejercicio interlaboratorio es ofrecer a los laboratorios interesados la posibilidad de controlar los resultados de ensayo obtenidos mediante métodos analíticos y obtener así una evidencia objetiva del desempeño técnico. Organismos de acreditación y certificación, tanto en el ámbito nacional como internacional, recomiendan la participación en estos interlaboratorios no sólo para validar los métodos, sino para demostrar la calidad de los resultados de forma continuada (1).

Esta práctica cobra especial interés cuando los métodos aplicados no son métodos normalizados, como es el caso de los análisis microbiológicos de fangos activos. En esta ocasión, nos encontramos ante un método realizado por Grupo Bioindicación Sevilla, que como tal ha sido debidamente validado y aportadas evidencias objetivas que demuestran que es apropiado para el uso previsto (2, 3, 4, 5, 6 y 7). El desarrollo de este método, plasmado en cuatro hojas de trabajo que abordan de forma integral el análisis de un fango activo, contiene un sistema de trabajo simplificado, materializado en un índice de tipo mixto llamado Índice de Fango (IF)(6).

En la realización de un ejercicio interlaboratorios es aconsejable que el organismo organizador proporcione a los participantes una metodología de trabajo clara (manual de trabajo), así como un parte de resultados a cumplimentar por el participante bien estructurado y en el que se recojan los distintos análisis abordados. En el caso concreto de los ejercicios organizados por GBS, la metodología planteada a los participantes ha sido elaborada y revisada gracias a la evaluación y experiencia adquirida durante los ejercicios de intercomparación que este grupo lleva realizando desde 1998. El método propuesto ha sido debidamente validado y se han aportado evidencias objetivas que demuestran que es apropiado para el uso previsto (2, 3, 4, 5, 6 y 7). El desarrollo de este método, plasmado en cuatro hojas de trabajo que abordan de forma integral el análisis de un fango activo, contiene un sistema de trabajo simplificado, materializado en un índice de tipo mixto, llamado Índice de Fango (IF)(6).

Es decir, la organización del informe a desarrollar queda estructurada en los siguientes apartados:

1. Cálculo del IF
2. Identificación y cuantificación de las bacterias filamentosas
3. Análisis de la comunidad protozoaria
4. Valoración general de la calidad del fango

Dentro de cada uno de estos apartados, se definen los distintos parámetros objeto de determinación: Índice biótico de fangos (SBI, Sludge biotic index), Índice de Shannon, cuantificación de bacterias filamentosas, etc.

La entrega del manual de trabajo y de los formatos de recogida de resultados se efectúa de forma simultánea al reparto de la primera muestra, con la que cada participante recibe un código permanente a lo largo de todo el circuito, imprescindible para la identificación de los resultados de cada ejercicio.

La intervención en estos ejercicios ofrece la posibilidad de asistir a las reuniones, normalmente anuales, en las que se ofrece un interesante foro de encuentro de profesionales del sector, en el que se debaten las particularidades de las muestras y las incidencias del análisis. Generalmente, en dichas reuniones se propone la sistemática de los ejercicios para el siguiente año, abierta a los comentarios y modificaciones que puedan proponer los participantes.

En esta ponencia se mostrarán y discutirán los resultados más relevantes con relación a los ejercicios realizados durante el circuito 2003-2004; principalmente, se abordarán cuestiones de tipo metodológico, en el que las muestras analizadas fueron 3 (Figuras 1-3):

1. Ejercicio correspondiente a Diciembre de 20031.

Resultados medios estimados de la muestra	
Índice de fango (IF)	73 ("Bueno")
Categoría bacteriana	3
Identificación de filamentos (dominantes)	T 0041, Haliscomenobacter hydrossis
Efectos de los filamentos	Disgregación
Densidad microfauna aproximada	1,102 x 106 ind L-1
Índice de Madoni (SBI, sludge biotic index)	8
Clase Madoni	Clase I
Nº sp encontradas	10
Grupo dominante	Amebas testáceas
Rendimiento según Madoni	Muy buen funcionamiento

Figura 1. Tabla correspondiente a los resultados medios estimados de la muestra del primer ejercicio

2. Ejercicio correspondiente a Febrero de 2004.

Resultados medios estimados de la muestra	
Índice de fango (IF)	55 ("Regular")
Categoría bacteriana	4
Identificación de filamentos (dominantes)	T 1702/ Haliscomenobacter hydrossis/ T 1863
Efectos de los filamentos	Disgregación flocular y turbidez
Densidad microfauna aproximada	3,16x10 ⁶ ind L-1
Índice de Madoni (SBI, sludge biotic index)	8
Clase Madoni	Clase I
Nº sp encontradas	13
Grupo dominante	Bacteriófagos sésiles
Rendimiento según Madoni	Muy buen funcionamiento

Figura 2. Tabla correspondiente a los resultados medios estimados de la muestra del segundo ejercicio

3. Ejercicio correspondiente a Mayo de 2004.

Resultados medios estimados de la muestra	
Índice de fango (IF)	84 ("Óptimo")
Categoría bacteriana	2
Identificación de filamentos (dominantes)	T 1701 y T 021N
Efectos de los filamentos	No apreciables
Densidad microfauna aproximada	2,9x10 ⁶ ind L-1
Índice de Madoni (SBI, sludge biotic index)	9 ó 10
Clase Madoni	Clase I
Nº sp encontradas	10
Grupo dominante	A. testáceas/B. sésiles
Rendimiento según Madoni	Muy bueno

Figura 3. Tabla correspondiente a los resultados medios estimados de la muestra del tercer ejercicio

El análisis de los resultados se centrará principalmente en aquellos parámetros más coincidentes y más divergentes entre el total de participantes, así como en la eficacia del método para describir la muestra adecuadamente y extraer conclusiones sobre el estado del sistema. Algunos de los procedimientos o técnicas relacionadas con los parámetros más divergentes, serán tratadas con mayor profundidad en ponencias posteriores (procedimientos de cuantificación de organismos filamentosos, repercusión del sistema de conservación de una muestra de fango activo sobre las características macroscópicas, concepto "turbidez "de la muestra, etc.).

DESCRIPCIÓN DE LAS DIFICULTADES SURGIDAS PARA LA PARTICIPACIÓN EN LOS INTERLABORATORIOS POR PERSONAS INEXPERTAS: Carlos Grandío; Responsable Laboratorio EDAR de Huelva.

INTRODUCCIÓN.-

A modo de resumen, la intervención sobre la descripción de las dificultades surgidas para la participación en los interlaboratorios por personas inexpertas en el empleo de técnicas de bioindicación, consistirá en un breve detalle sobre el perfil en cuanto a los conocimientos y grado de formación del factor humano, para continuar con los medios materiales y de equipos con que esta dotado el laboratorio al objeto de situar a los participantes de las jornadas, en el escenario en que se desarrolla mi experiencia profesional.

A continuación indicaré como tengo conocimiento del Grupo de Bioindicación y como entro en contacto con el mismo.

Una vez aportada esta información de carácter general, entrare de forma pormenorizada en el detalle de las dificultades con que me he encontrado para afrontar los interlaboratorios, pasando por la valoración de la documentación aportada en cuanto a su densidad, comprensión y cumplimentación de las hojas de trabajo; y finalizando en una valoración personal sobre mi participación en esta íter comparativa.

DOCUMENTACIÓN:

Para la realización de dichos interlaboratorios se nos aporta una documentación que consta de:

- Manual de Trabajo.
- Claves Identificativas.
- Índices bióticos.
- Concepto Bioindicación y notas bioindicadoras.
- Fotos de Protozoos en Fangos Activos.

Dicha documentación es muy completa ya que aparte de incluir una guía sobre como hemos de cumplimentar las distintas hojas de trabajo, con claves identificativas tanto para bacterias filamentosas como para protozoos. También nos proporciona una amplia información del significado que tiene la obtención del Índice de Fango, Índice de Shannon y el Índice de Madoni.

A continuación se dan nociones sobre bioindicación, describiendo los problemas que pueden causar la presencia de diversas bacterias filamentosas y de los parámetros asociados a la presencia de las mismas. Así mismo se hace hincapié en el papel bioindicador de los protozoos.

Para finalizar se adjunta un completo material fotográfico, sobre protozoos en fangos activos, que incluye las características taxonómicas, funcionales y ecológicas de los mismos.

En el manual de trabajo se nos hace una descripción, de forma muy completa, de cómo debemos tratar las muestras para su posterior observación microscópica, y los procedimientos operativos a seguir para la tinción de bacterias filamentosas sobre frotis fijo (tinción de Gram, tinción de Neisser y tinción de PHB).

A continuación se desarrolla la metodología a seguir para la cumplimentación de las hojas de trabajo (son cuatro), con las cuales llegaremos a una valoración final del fango activado analizado:

- En una primera hoja lo que se valoran son las características macroscópicas y microscópicas del fango; dando más puntuaciones en función de las distintas características

del mismo (más o menos turbidez, mejor peor sedimentabilidad,...), la suma de las distintas puntuaciones nos dará una puntuación final que será el Índice de Fango, que nos proporcionará una idea aproximada de los porcentajes de reducción de SS, DQO y DBO₅ que podamos tener en la planta.

Pues bien, el desarrollo de este análisis es bastante sencillo, aunque en un principio si que me surgió alguna duda a la hora de valorar turbidez sobre todo en el tramo baja-media ya que las muestras normalmente estaban en el tramo de 15-20 NTU (medido en turbidímetro) y la mayoría de los demás participantes la consideraban como baja. La misma diferencia surgió con la valoración de los floculo en suspensión, en el mismo tramo bajo-medio, la causa posiblemente sea debida al deterioro que sufre la muestra al ser transportada. En el resto de características del fango a valorar, tanto macroscópicas como microscópicas no he tenido problemas, ya que las observaciones y pruebas que hay que hacer (medida de flóculos, punción de los mismos,...) son sencillas.

- Evaluación de las bacterias filamentosas:

Esta es la hoja de trabajo en que mayores dificultades he encontrado ya que al disponer de un microscopio óptico de campo claro, pero no con contraste de fases la identificación morfológica de algunas bacterias me ha resultado muy difícil de determinar, por no tener la suficiente definición a la hora de distinguir septos celulares, constricciones en los mismos, el tamaño celular o la morfología de las células.

Un ejemplo de lo anteriormente comentado es lo que me sucede cuando quiero identificar bacterias con crecimiento epifítico como la 1851, 0675, y 0041, que son Gram ligeramente positivas, Neisser negativo y PHB negativo, ya que no las puedo distinguir por su tamaño celular al no tener la suficiente definición.

Otro problema me surgió al no poder realizar la tinción de los gránulos de azufre, por no poder observar la refringencia en los mismos (es necesario el contraste de fases para dicha observación).

- En la tercera hoja de trabajo se realiza una evaluación de la micro fauna presente en el fango activo, encaminada a obtener el índice biótico del fango, la clase del mismo y el índice de Shannon.

He encontrado grandes dificultades en el momento de diferenciar a los ciliados libres, tanto en el grupo de los bacteriófagos como en el de los carnívoros (cuando son de tamaños similares), ya que muchos de estos individuos se diferencian unos de otros en la localización del citostoma, por la línea de cilios disponibles,..., estructuras que son muy difíciles de diferenciar para un observador inexperto. Entonces la solución que he adoptado, cuando no logro diferenciar a unas especies de otras es denominarlas como ciliado nadador I, ciliado nadadorII,..., lo cual no afecta, ni distorsiona, el índice de Shannon, ni el SBI y su valor bioindicador suele ser bastante parecido (fangos jóvenes o en formación, bajos tiempos de retención o fangos poco aireados).

- En la cuarta hoja de trabajo se refleja la evaluación final de la calidad del fango y de la calidad previsible del agua tratada, en función de los datos recogidos en las tres hojas anteriormente descritas.

VALORACIÓN DEL APRENDIZAJE:

Mi objetivo a la hora de realizar estos ejercicios de interlaboratorios, no ha consistido en el hecho de “compararme” con el resto de los laboratorios participantes, ya que la diferencia de conocimientos, inicialmente, era bastante grande, sino que mi finalidad, eran el adquirir los conocimientos e información necesarios para poder trabajar con mayor eficiencia en mi planta (EDAR) y desde luego que el objetivo lo he logrado ya que aparte del esfuerzo personal realizado, por intentar estar al nivel de conocimientos de los demás participantes; también se obtiene una información muy detallada y amplia de los informes emitidos de cada muestra analizada, que no consisten simplemente en aportar unos datos estadísticos de los resultados obtenidos, si no que se plantean soluciones a problemas encontrados en identificaciones tanto de bacterias, como de protozoos y todo ello complementado con anexos fotográficos muy completos.

**GRADO DE DIFICULTAD PARA SU IDENTIFICACIÓN,
ENCONTRADOS EN LOS INTERLABORATORIOS 2003-2004.
SELECCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TAXONÓMICAS QUE
FACILITEN SU DISTINCIÓN DE OTROS MICROORGANISMOS
CON CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS SIMILARES:**

Andrés Zornoza Zornoza. Responsable de Laboratorio. UTE AVSA-EGEVASA.E.D.A.R Quart-Benager.

El autor hace una revisión de las especies aparecidas en las muestras estudiadas a lo largo de los tres interlaboratorios 2003-2004 y caracteriza aquellas que resultan más complejas de identificar, aportando datos y claves con sus características morfológicas más significativas.

EJERCICIO INTERLABORATORIO DICIEMBRE 2003.

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA EN AMEBAS TESTACEAS. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIADORAS GÉNERO/ESPECIE

ANTECEDENTES

- *MUY COMUNES EN LOS HÁBITATS TERRESTRES, SIENDO CONSIDERADAS POR ALGUNOS AUTORES COMO LOS PROTOZOOS MAS IMPÓRTANTES DE DICHOS HÁBITATS.*
- En los diagnósticos de especies de amebas testaceas el criterio morfológico predomina tradicionalmente. Recientemente el concepto de "morfoespecie" se ha propuesto como elemento esencial en la identificación de protistas. En el caso de las amebas testaceas la dificultad en la aplicación de este concepto radica en la gran variabilidad morfológica que no queda suficientemente clara en las unidades taxonómicas, *LOS RECIENTES ESTUDIOS MUESTRAN QUE LOS RASGOS DE LA TESTA SON VALIOSOS SIEMPRE QUE SE AFIANCEN POR LOS DATOS BIOMÉTRICOS*, siendo la parte más importante del análisis del fenotipo, puesto que son organismos con poco caracteres morfológicos distintivos.
- *SU ECOLOGÍA HA ESTADO PLAGADA POR PROBLEMAS EN LA TAXONOMÍA*, muchos taxones son descritos superficialmente y la taxonomía se basa casi enteramente en los rasgos de la testa.
- *SU PRESENCIA EN LAS AGUAS RESIDUALES POSEE UN IMPORTANTE CARÁCTER ESTACIONAL Y SOBRE TODO GEOGRÁFICO (CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS).*

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIADORAS

A continuación se indican las características más comunes que junto con la morfología típica permiten la identificación a nivel de género. Este nivel es suficiente para los datos ecológicos que en estos momentos hay documentados:

OPÉRCULO/PSEUDOSTOMA: Terminal, subterminal

COLOR: Transparente, aglutinada.

DIMENSIONES: Diámetro testa, longitud.

PSEUDÓPODOS: Tipo lobópodo, tipo filópodo

La muestra estudiada en el ejercicio de Febrero presentaba relativa complejidad en cuanto a la identificación de protozoos se refiere dado la presencia de una gran variedad de especies dentro del grupo de vorticelas. Este grupo, bastante frecuente en fangos activados, engloba numerosas especies de las cuales algunas son poco habituales y su identificación entraña cierta dificultad, debido a la similitud existente entre ellas, requiriendo por tanto, un determinado nivel de experiencia por parte del analista. Igualmente ocurre en Mayo: en la muestra estudiada aparecen especies cuya identificación presenta discrepancias por parte de los analistas debido a su complejidad, necesitándose para ello el uso de claves que pongan de manifiesto sus características morfológicas diferenciales.

El autor estudia las características físicas de cada una de las especies encontradas en estos ejercicios y aporta una claves para su identificación, basándose en:

- Forma y disposición del macronúcleo del organismo
- Tamaño del zooide
- Número de líneas transversales

OBJETIVOS Y PROPUESTAS PARA LA REALIZACIÓN DE LA SESIÓN INTERLABORATORIO 2004-2005 : Eva Rodríguez; Responsable Laboratorio EDAR Tablada. (Sevilla) SEAFSA

El estudio del fango biológico de la EDAR repercute directamente en un mejor entendimiento de los procesos de planta y de la optimización del proceso.

La realización de la sesión intercomparativa 2003-2004, ha permitido aplicar el manual de Trabajo de GBS, donde se especifican todos los análisis necesarios para obtener una descripción biológica de la muestra a estudio.

Esta aplicación nos ha permitido mejorar distintos apartados del Manual, así como plantear nuevas posibilidades y tendencias de estudio.

Estas mejoras se han solventado mediante tres vías:

1. AJUSTE DE PARÁMETROS EN LAS HOJAS DE TRABAJO

Evaluación del fango:

Se incluyen categorías extremas a los valores medios de los intervalos.

Se considera "macroscopia" igual a cero cuando se produzca levantamiento de la manta de fangos.

La turbidez no puede determinarse con equipo de medida (incluiría valoración de microfloculos, otro apartado distinto en la macroscopia).

Evaluación de microfauna bacteriana:

Necesidad de revisar los apartados de filamentos y protozoos tras los recuentos.

Es necesario realizar estudiar de forma independiente las bacterias filamentosas encontradas en el espacio interflocular: identificación y cuantificación.

Evaluación de la microfauna protozoaria:

No es necesario distinguir géneros de Rotíferos y Nemátodos para el cálculo del SBI. Si se distinguen se incluirán en el cálculo de H.

Los ciliados carnívoros sólo contribuyen a la densidad y diversidad de la microfauna: no se incluyen en los "grupos-claves".

Vorticella microstoma y *Vorticella infusionum* están incluidas en el mismo grupo para el SBI, no así para H.

No tener en cuenta en el cálculo de la densidad colonias excesivamente numerosas (reconsiderar el recuento del organismo)

OBJETIVOS: De cara a una mejora de los resultados se propone

La realización de la medida turbidimétrica del clarificado en aquellos laboratorios participantes que dispongan de los equipos adecuados, de forma que se ajusten las medidas directas de turbidimetría a la calificación previamente definida.

La unificación de resultados mediante el método de recuento de filamentos sobre Neubauer, que consideramos que es más exacto, por lo que se solicita a los participantes que se hagan con esta cámara, a fin de obtener resultados comparativos.

2. - CONSULTA A ESPECIALISTAS INTERNACIONALES EN LA MATERIA EN CUESTIÓN. (PROFESOR MADONI Y PROFESOR MITCHELL) A CERCA DE:

Amebas testáceas: Deben contabilizarse solo cuando están vivas, se tomarán las testáceas oscuras como inertes. En el caso de un fango activo con abundancia de testáceas se procederá a realizar la prueba de actividad con el Rosa de Bengala ($C_2OH_2O_5T_4Cl_2Na_2$; Casa Panreac; código 253893.1606). Este reactivo se absorbe por la superficie protoplasmática, coloreándose de rosa.

Situaciones anómalas en el SBI:

La presencia masiva de grandes flagelados por un lado o de nemátodos y rotíferos por otro, plantea dificultades a la hora de aplicar el SBI. Si sólo existen estos organismos anteriormente citados no se puede aplicar el SBI. Se indicarían las densidades de tales organismos. Por el contrario, si existen otros organismos que sí están recogidos en el SBI se aplicaría el índice a estos grupos de organismos, puntualizando que existen determinadas densidades de organismos no recogidos en dicha clasificación.

Otra situación dificultosa es la aparición de *Vorticella microstoma* más *V. infusionum* o de *Opercularia* no dominante, pero sí abundantes. En este caso se aplica el SBI normalmente y se puntualiza que aparecen estos grupos de organismos a tales densidades.

OBJETIVO: De cara a una mejora de los resultados:

Se realizara un estudio en profundidad de las variaciones numéricas generadas con la utilización o no del reactivo Rosa de Bengala.

1. - ESTUDIOS PRÁCTICOS.

Transporte y conservación de muestras

El transporte se realizará en nevera, con el bote, lo más estable posible, manteniendo una temperatura en torno a 13° C. En la medida de lo posible realizar el transporte mediante envío urgente.

Inmediatamente a la recepción de las muestras se tomarán tres alícuotas con distintos tratamientos:

Alícuota 1: Destinada a la caracterización del flóculo. Mantenido a temperatura ambiente y sin airear.

Alícuota 2: Destinada a la caracterización de la microfauna (protozoos). Mantenido a temperatura ambiente, con oxigenación mediante piedra porosa de forma que no se modifique el fango por la agitación.

Alícuota 3: Destinada a la caracterización bacteriana. Mantenido en frigorífico, sin agitación. Previamente se realizarán 5 frotis bacterianos para su tinción posterior.

En todos los casos es recomendable realizar el análisis antes de 5 horas desde la toma de muestras, sobre todo para el caso de los fangos jóvenes (muy inestables). Es admisible un periodo de 24 horas y en oxidación total incluso de 48 horas.

OBJETIVO: De cara a una mejora de los resultados se propone:

Realización de dos análisis por parte de los componentes de GBS, el primero será el día de la toma de muestra y el segundo el día de recepción oficial por parte del último participante (generalmente el día después). Se comprobará así si algunas divergencias de resultados se deben a análisis tardío de la muestra y se podrá definir el parámetro más variable en relación al tiempo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) ISO/IEC 17025:1999. Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR), 2000.

(2) Jiménez, C., Fernández, N., de la Horra, J. M., Rodríguez, E., Isac, L., Salas, D. y Gómez, E. (2001). "Sistema rápido de estimación de los rendimientos en depuración de una EDAR en función de las características macroscópicas y microscópicas del fango activado". Tecnología del Agua 216, 40-44.

(3) Grupo Bioindicación Sevilla (2002). "Quick wastewater treatment plants performance estimation, based on macroscopic characteristics of activated sludge". Congreso Internacional sobre Tecnologías de pequeña escala para la depuración y gestión de las Aguas residuales en el ámbito Mediterráneo. Marzo de 2002, CENTA.

(4) Salas, M.D., Rodríguez, E., Fernández, N., Isac, L. y Jiménez, C. (2002). "Empleo de técnicas de bioindicación en depuradoras de aguas residuales. Congreso Nacional de Biotecnología. BIOTEC'2002.

(5) Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N., Salas, M.D. y Jiménez, C. (2002). "Influencia del control microbiológico en una estación depuradora de aguas residuales, como medida para evitar aumentos en los riesgos de eutrofia del cauce receptor". IV Reunión del Grupo de Microbiología del Medio Acuático (Sociedad Española de Microbiología). 3-6 octubre 2002, Sevilla.

Foissner, W. Y Berger, H. y Kohmann, F. (1994). Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems. Band III: Hymenostomata, Protomastida, Nassulida. Informationsberichte des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft. München.

Foissner, W. Y Berger, H. (1996). A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hidrobiologist as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. Freshw. Biol. 35,375-482.

Foissner, W. Y Berger, H. y Kohmann, F. (1994). Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems. Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontosmatida.

A. Bobrov, Y. Mazei. (2004). Morphological Variability of Testae Amoebae in natural populations. Acta protozoologica (2004) 43: 133 – 146.

W. Foissner, G.A Korganova (2000). The Centropyxis Aerophila Complex. Acta protozoologica (2000) 39:257 – 273.

Mitchell, E (2004). Department of Biological Sciences, University of Alaska Anchorage. http://hosting.uaa.alaska.edu/afeam/e_Mitchell_Home/testae_amoebae.htm