COMPAÑEROS INVISIBLES

Emma Hernández

Mikel Pueyo

Jose Daniel Santos

INTRODUCCIÓN

Un microorganismo, también llamado microbio, es un ser vivo o un sistema biológico que solo puede visualizarse con el microscopio. Tienen una organización biológica muy básica, una proporción importante de ellos cuentan con apenas una única célula.

En cuanto a su organización biológica es muy básica a diferencia de otros seres vivos como los animales o las plantas. Se puede denominar microorganismo a diferentes organismos unicelulares o pluricelulares. Además pueden tener muchas formas y tamaños variados.

Existen los microorganismos unicelulares procariotas (como por ejemplo bacterias) y eucariotas, donde se encuentran los protozoos, hongos y algas. Además también se puede decir que los virus son formas acelulares que causan enfermedades.

Algunos de los ejemplos de microorganismos son herpes, rinovirus (gripe), rotavirus (diarrea), Levaduras, baterias, paramecios y el famoso- Sars-Cov-2: Covid 19

Los microorganismos se pueden sembrar en un medio líquido o en la superficie de un medio sólido. Los medios de cultivo contienen distintos nutrientes, desde azúcares simples hasta sustancias complejas como la sangre o el extracto de caldo de carne.

Los microorganismos siembran en placas de petri con medio selectivo o botellas con medio líquido para su posterior identificación. La tinción Gram es una técnica que nos permite diferenciar la forma de las bacterias y la estructura de su pared siendo Gram + o Gram -

Curiosidades

1- Llevan en la Tierra casi 4.000 millones de años.
2- En la Tierra hay más de 6 billones de trillones de microorganismos.
3- Conocemos menos del 1 % de las especies de microorganismos.
4- El conjunto de microorganismos que se localizan en tu cuerpo puede pesar hasta 2 kg.
5- Hay más microorganismos en tu cuerpo que estrellas en la vía láctea.

Objetivo

Intentar crecer microorganismos que hay en las superficies que tocamos y utilizamos pero no los vemos y no nos damos cuenta de que están.

¿El gel mata a los microorganismos?

Con este experimento vamos a poder ver la eficacia del gel hidroalcohólico, si hay diferencia entre, por ejemplo, una placa pasada por una mesa sucia y una placa pasada por una mesa previamente desinfectada. También conseguiremos averiguar si el gel mata a los microorganismos.

Hipótesis

- ¿Vamos a encontrar microorganismos que no vemos a simple vista?

- ¿El gel hidroalcohólico puede matar a los microorganismos?

MATERIALES

Materiales medio de cultivo casero:

- 250ml de agua.
- Medio cubito de caldo de pollo.
- Una pizca de sal.
- 4 g de agar-agar.
- 2 vasos de precipitados.
- 1 matraz erlenmeyer.
- Probeta.
- 9 placas de petri.
- Estufa.
- Placa calefactora.

Materiales comerciales para siembra de microorganismos

- Placa para recoger muestras de superficie TSA.
- Placas de siembra TSA.
- Hisopos.
- Placas de agar manitol
- Asas de siembra

Tinción Gram

-1 Microscopio óptico con objetivo de 100x incluido.

- Porta y cubreobjetos.

- Asa de siembra.

- Agua esterilizada.

- Aceite de inmersión.

- Mechero de alcohol

- Pinza de madera

- Lugol.
- Cristal violeta.
- Safranina.

METODOLOGÍA

Crear placas de cultivo casero

1. Utilizar guantes durante la realización del proceso.
2. Lavar el material a utilizar con agua y jabón y desinfectar con alcohol.
3. Pesar 4 gramos de agar-agar y añadirlos a un vaso de precipitados con 50 ml de agua destilada. Remover hasta la disolución completa.
4. En otro vaso de precipitados añadir 200ml de agua destilada, media pastilla de caldo de pollo y una pizca de sal. Calentar en la placa calefactora y remover hasta que todo quede disuelto.
5. Una vez haya quedado la disolución homogénea y sin grumos añadir los 50 ml del agar-agar y trasvasar los 250ml a un erlenmeyer apto para calentar en placa calefactora.
6. Calentar durante unos minutos hasta que la mezcla comience a hervir. Cuidado con este paso ya que la disolución al hervir suele salir del recipiente.
7. Coger el erlenmeyer con guantes resistentes al calor y plaquear.

Plaqueado

1. Preparar las placas de petri abiertas en una zona lo más limpia y esteril posible.
2. Pasar la boca del erlenmeyer por mechero cada vez que vayamos a verter líquido en las placas.
3. Verter una cantidad de medio de cultivo líquido hasta llenar la placa y tapar.
4. Dejar las placas 20 minutos a temperatura ambiente para la solidificación del medio.
5. Almacenar boca abajo a 4ºC (frigorífico) hasta su uso.

Experimento (recogida de muestras)

1. Utilizamos 9 placas petri con la siguiente distribución:
    - 2 Placas con medio casero para recoger muestras de manilla de puerta y manilla de puerta después de haber pasado desinfectante.
    - 2 Placas comerciales (medio de cultivo blanco) recoger muestras de manilla de puerta y manilla de puerta después de haber pasado desinfectante.

- 2 Placas con medio de cultivo casero para recoger muestra del dedo de la mano y otra para el dedo de la mano después de frotar con gel hidroalcohólico.
- 2 Placas comerciales para tomar muestras directamente de superficies. Se recogerán muestras de mesa de alumno/a y mesa de alumno/a una vez pasado desinfectante.
- 1 Placa con medio de cultivo casero para dejar abierta durante 24h en el aula y poder recoger muestras del medio ambiente.

2. Dejar las placas incubando a 37ºC en estufa durante 72h pero realizaremos visualizaciones puntuales a las 24h y 48h.
3. Una vez finalizado el periodo de incubación intentamos identificar los microorganismos crecidos mediante diferentes técnicas:
    - Visualización de las colonias crecidas a simple vista.
    - En el caso de visualizar hongos, recoger una muestra en un porta y observar en la lupa.
    - Identificación mediante Tinción Gram.
    - Resiembra en placas de agar-manitol.
4. Una vez terminamos todos los experimentos es necesario interpretar los resultados.

<u>Tinción Gram</u>

1. Coger una gota de agua estéril con el asa bacteriológica esterilizada en mechero y poner en el portaobjetos. Desechar el asa.
2. Con otro asa, picar una pequeña porción de una colonia a teñir.
3. Realizar una extensión sobre el portaobjetos diluyendo la colonia en la gota de agua depositada anteriormente y fijar la preparación dejándola secar a temperatura ambiente. También se puede fijar la muestra pasándola.
4. Colocar el portaobjetos sobre una zona teniendo la precaución de no manchar la superficie de la mesa.
5. Cubrir la muestra con Cristal Violeta. Mantener la tinción durante 1 minuto.
6. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el tinte sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
7. Añadir Lugol a la muestra y dejar reposar 1 minuto.
8. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el lugol sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
9. Cubrir la muestra con Solución Safranina. Mantener la tinción durante 1 minuto.
10. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el tinte sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
11. Secar el portaobjetos con papel de filtro o a temperatura ambiente.
12. Observar la muestra en el microscopio. Para utilizar el objetivo de 100x necesitamos cubrir la muestra con un porta y añadir aceite de inmersión. Tras la visualización limpiar el objetivo.

Para ayudarnos nos fijamos en su forma, los cocos son redondos y los bacilos son más alargados. También observaremos diferencias en cuanto al color: Gram + de color morado y Gram - de color rosa.

Resiembra en placas de agar manitol

1. Coger una muestra de una colonia crecida en la placa en superficie con el asa de siembra y resembrar en la placa. Repetir el proceso con otra colonia crecida y resembrar en otra placa.
2. Repetir el proceso pero en esta ocasión recoger muestra de la placa con crecimiento de manilla
3. Dejar las placas incubando a 37ºC en estufa durante 72h pero realizar visualizaciones puntuales a las 24h y 48h.

Hongos

1. Si en las placas nos salen hongos lo primero que haremos será tratar de distinguirlos a simple vista.
2. Más tarde con un trozo de celo cogemos una muestra.
3. La ponemos en un porta.
4. Por último la miramos a la lupa.

RESULTADOS

Realizamos el cultivo de microorganismos que crecieron después de la toma de muestras en diferentes placas de petri: unas con medio de cultivo casero y otras comerciales. Las muestras se recogieron con hisopos a excepción de las placas utilizadas en superficie que directamente se tomó la muestra pasando la placa por la zona.

Número de placa	Tipo de medio	Toma de muestra	Crecimiento (24h)	Crecimiento (72h)
1	Casero	Medio ambiente	+	+++
2	Casero	Piel sucia	+	++
3	Casero	Piel limpia	+	++
4	Comercial	Manilla sucia	+	+++
5	Comercial	Manilla limpia		

6	Casero	Manilla sucia	+	+++
7	Casero	Manilla limpia	+	+++
8	Superficie comercial	Mesa sucia	+	+++
9	Superficie comercial	Mesa limpia		

Solo hemos podido ver la diferencia de crecimiento de microorganismos en las placas comerciales ya que en las placas caseras no había diferencia significativa en el crecimiento.

Los resultados han sido los esperados en las placas comerciales ya que hemos observado diferencias de crecimiento según las distintas muestras tomadas. Hemos comprobado que el gel hidroalcohólico es eficaz comparando los resultados obtenidos entre las placas 4 y 5 y placas 8 y 9.

Con la placa del medio ambiente nos han salido bastantes microorganismos, incluso un hongo que hemos podido observar a la lupa.

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

- <u>Visualización de colonias a simple vista</u>

Imagen 1: Ambas imágenes son placas comerciales para toma de muestra en superficies. Se han recogido muestra de pupitre escolar y pupitre después de pasar gel hidroalcohólico. Izq: 24h. Drcha: 72h

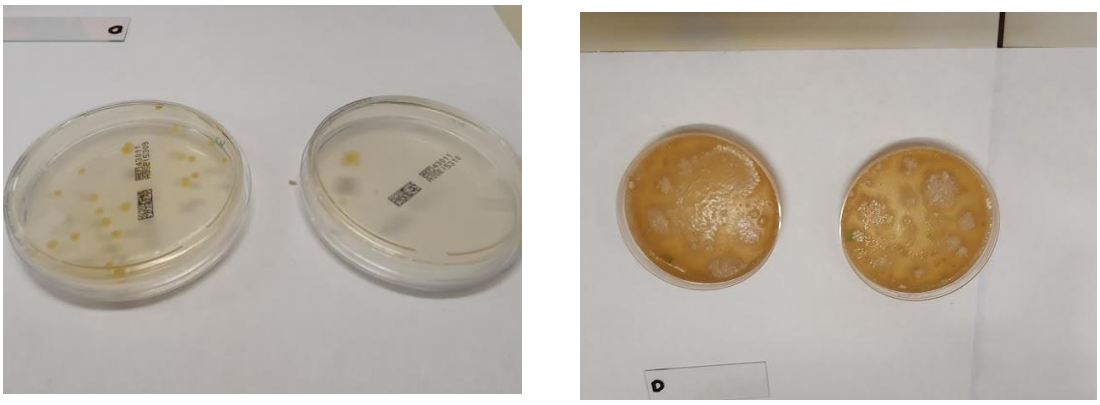

Imagen 2: Muestras tomadas de manilla de puerta y manilla después de pasar gel hidroalcohólico. Izq: placas TSA comerciales. Drcha: placas medio casero

Imagen 3: Muestra medio ambiente de aula, placa casera.

Tras realizar la consulta a un profesional de microbiología por el aspecto y el color amarillo de las mismas nos indicó que posiblemente las colonias fueran bacterias del género *Micrococcus*.

Además en las placas de superficie nos comentó que podía haber crecimiento de bacterias del género *Staphylococcus*.

En el caso de la placa casera que dejamos 24h en un aula además de crecimiento bacteriano también visualizamos hongos, parte oscura de la placa que se muestra en imagen 3. Recogimos muestra y visualizamos sus hifas a microscopio óptico

Una vez recogida la información decidimos realizar una tinción Gram de aquellas colonias que consideramos bacterias para seguir profundizando en la identificación

- <u>Tinción Gram</u>

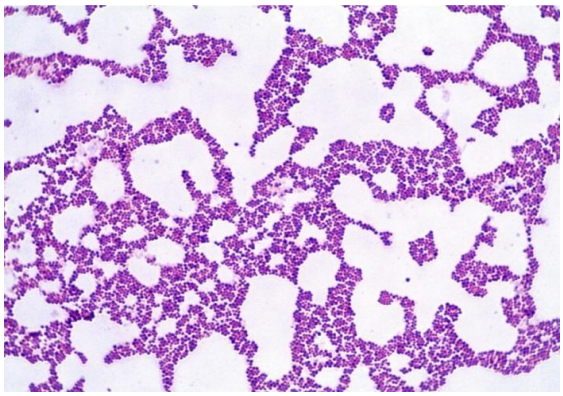

Imagen 4: Muestras de cocos + tras tinción Gram.

Realizamos la tinción Gram de los microorganismos cultivados en las placas comerciales, tanto de superficie de pupitre escolar como de manilla de puerta. Los resultados obtenidos en ambos casos son cocos Gram +.

Los resultados son compatibles con los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus* ya que ambos son cocos Gram +

- <u>Resiembra en placas de Agar Manitol</u>

Posteriormente resembramos los microorganismos de las placas de superficie y de manilla en unas placas especiales rojas (agar manitol) y las dejamos en estufa a 37ºC 72 horas.

- Placa color rojo: mantiene el color por lo que no hay crecimiento
- Placa color virado a rosa fucsia: crecimiento positivo. Identificativo de *Micrococcus* y otros *Staphylococcus.*
- Placa color virado a amarillo: crecimiento positivo. Identificativo de *Staphylococcus aureus*

Imagen 4: Resiembra de colonias crecidas en placas de superficie (pupitre escolar)

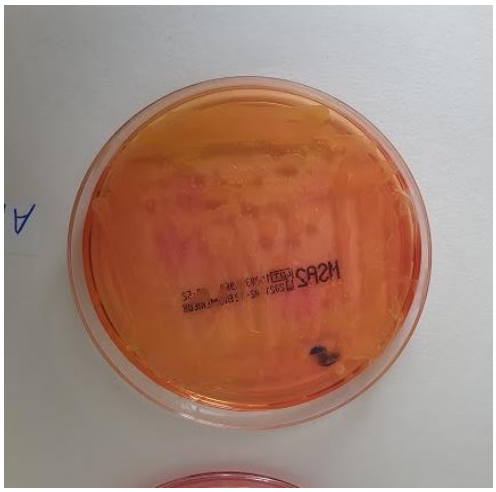

Imagen 5: Placa amarilla crecimiento de *Staphylococcus aureus* y placa fucsia crecimiento de otro tipo de *Staphylococcus* y/o *Micrococcus*

Imagen 6: Igual a la imagen 5 pero en el centro hay una placa sin crecimiento, color rojo

Imagen 7: Resiembra de colonias crecidas en placas TSA (manilla de puerta). En este caso no crecieron *Staphylococcus aureus*

CONCLUSIÓN

- La hipótesis planteada es correcta. Hemos encontrado e identificado microorganismos que no vemos a simple vista y se encuentras en superficies y lugares de nuestro alrededor como pupitre escolar, manilla de puerta y ambiente de aula.

- El gel hidroalcohólico que utilizamos en el IES Barañáin es eficaz para eliminar microorganismos.

Si lo tuvierais que repetir… ¿cómo lo mejoraríais?

Lo intentaremos mejorar repitiendo el experimento en una zona más estéril y limpia ya que en nuestras placas caseras no ha habido diferencia de crecimiento con y sin gel. También probaríamos otros geles hidroalcohólicos ya que no hemos podido encontrar diferencia.

Nosotros hemos hecho recogida de muestras de nuestra aula pero podríamos extenderlo, por ejemplo, por la mesa de nuestra casa, comparándolas para ver diferencia, si está más limpia o más sucia. Luego probar con distintas marcas de geles o desinfectantes, coger muestras de otras aulas, el baño, etc…

BIBLIOGRAFÍA

Microorganismos: https://es.wikipedia.org/wiki/Microorganismo

Cómo se cultivan: https://es.wikipedia.org/wiki/Cultivo_(microbiolog%C3%ADa)#:~:text=Un%20microorganismo%20se%20puede%20sembrar,extracto%20de%20caldo%

Curiosidades: https://medicoplus.com/ciencia/curiosidades-microorganismos

Tinción gram: https://www.salud.mapfre.es/pruebas-diagnosticas/otras-pruebas-diagnosticas/tincion-de-gram/

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos su contribución y ayuda en este experimento a Raúl Álava que nos ha ayudado con la preparación de las placas, el alimento y corrigiéndonos nuestros fallos diciéndonos que mejorar. También a Jaione Arteaba por el envío de material profesional como placas, hisopos, asas de siembra y medio de cultivo.