

LOS ANTI-MICROORGANISMOS

Los microorganismos (también llamados microbios u organismo microscópico) son aquellos seres vivos que solo pueden visualizarse a través de un microscopio. Los microorganismos incluyen las bacterias, los protozoos, las algas y los hongos. Aunque los virus no se consideran organismos vivos, a veces se clasifican como microorganismos.

El cultivo es el proceso de propagación de microorganismos al proporcionarles un entorno con condiciones apropiadas (temperatura, humedad y nutrientes). Un microorganismo se puede sembrar en un medio líquido o en la superficie de un medio sólido de agar.

Los antisépticos son sustancias químicas que previenen infecciones, ya que evitan el desarrollo de microorganismos que se encuentran en las heridas, sin causar irritación o daño.

Objetivo

Comprobar si los antisépticos que utilizamos en nuestra vida diaria inhiben el crecimiento de microorganismos que viven a nuestro alrededor.

Hipótesis

¿Los antisépticos inhiben el crecimiento de los microorganismos?

¿Qué antisépticos es más eficaz?

MATERIAL

Medio de cultivo casero

- 250 ml de agua
- Medio cubito de caldo de pollo
- Pizca de sal
- 4 gramos de agar-agar
- 2 vasos de precipitados
- 1 matraz erlenmeyer
- 4 placas de petri
- Placa calefactora
- Vidrio de reloj
- Báscula

Tinción Gram

- 1 Microscopio óptico con objetivo de 100x incluido
- Porta y cubreobjetos
- Asa de siembra
- Agua esterilizada
- Aceite de inmersión
- Pinza de madera
- Mechero de alcohol
- Lugol
- Cristal violeta
- Safranina

Resiembra medio líquido

- Placa comercial
- Colonia de micrococcus
- Medio líquido TSB comercial
- Estufa
- Asa de siembra

Experimento inhibición del crecimiento

- 4 gradillas
- 16 tubos de ensayo
- Yodo
- Gel hidroalcohólico
- Desinfectante de mesa
- Temperatura
- Pipetas
- Pipeteador
- Papel film
- Estufa

METODOLOGÍA

Medio de cultivo casero

1. Poner 250 mL de agua en un vaso de precipitados y calentarlo sobre una placa calefactora.
2. Trocear medio cubito de caldo.
3. Pesamos en un vidrio de reloj 4 gr de agar-agar.
4. Añadimos medio cubito de caldo de pollo al agua caliente.
5. Agregamos el agar-agar al agua.
6. Echamos una pizca de sal.
7. Verter la mezcla a un matraz erlenmeyer.

8. 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.
9. Coger el erlenmeyer con guantes resistentes al calor y plaquear.
10. Preparamos 4 placas de petri y se almacenan en el frigorífico (4°C) hasta su uso.
11. Tomamos las siguientes muestras: escaleras, piel, piel después de frotar con gel y ambiente de aula.

Tinción Gram

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.
4. Cubrir la muestra con Cristal Violeta. Mantener la tinción durante 1 minuto.
5. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el tinte sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
6. Añadir lugol a la muestra y dejar reposar 1 minuto.
7. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el lugol sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
8. Cubrir la muestra con Solución Safranina. Mantener la tinción durante 1 minuto.
9. Pasado el tiempo con agua del grifo retiraremos el tinte sobrante. Evitar un lavado de más de 5 segundos.
10. Secar el portaobjetos con papel de filtro o a temperatura ambiente.
11. 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.

Resiembra medio líquido TSB

1. Con una espátula coger una colonia crecida en una de las placas comerciales del otro equipo ya que en nuestras placas no había colonias aisladas
2. Lo añadimos al medio líquido
3. Incubar en estufa durante 72 horas

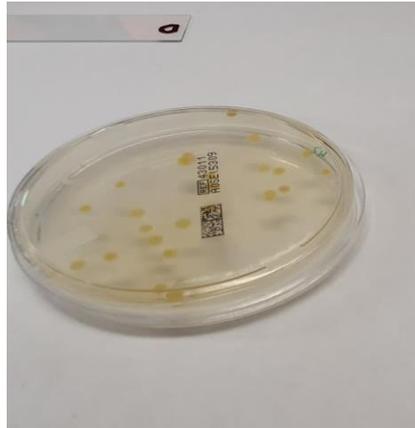


Imagen 1: Placa utilizada para realizar la resiembra en medio líquido TSB (posibles colonias de *Micrococcus* y/o *Staphylococcus*)

Experimento inhibición del crecimiento

1. Poner 4 tubos de ensayo en 4 gradillas diferentes, una por cada antiséptico o condición que queramos probar para medir la inhibición bacteriana.
2. Por cada gradilla tendremos

	Tª	Gel	Desinfectante	Yodo
Tubo 1	Control positivo de crecimiento. Poner 5ml de la muestra crecida en el medio TSB			
Tubo 2	Control negativo. Poner 5ml del medio TSB estéril			
Tubo 3 (Leve)	5ml de medio con bacterias+5 min	5ml de medio con bacterias + 4 gotas de gel	5ml de medio con bacterias + 4 gotas de desinfectante	5ml de medio con bacterias + 4 gotas de yodo
Tubo 4 (Intensa)	5ml de medio con bacterias +20 min	5ml de medio con bacterias + 20 gotas de gel	5ml de medio con bacterias + 20 gotas de desinfectante	5ml de medio con bacterias + 20 gotas de yodo

3. Envolver con papel film los tubos e incubarlos en estufa durante 72h



Imagen 2: Las 4 gradillas con las muestras en cada tubo



Imagen 3: Tubo 4 al baño maría (experimento T^a) y medios líquidos TSB resembrados

RESULTADOS

Respecto al crecimiento de las muestras sembradas en medio casero no hubo diferencias significativas y en todas ellas aparecía un césped de microorganismos. No encontramos colonias aisladas.

En la placa que dejamos 24h en un aula observamos un crecimiento de un hongo que visualizamos al microscopio óptico.

Realizamos una tinción Gram de una colonia crecida en placa comercial TSA que nos dejaron nuestros compañeros de otro equipo. Era muestra de manilla de puerta. Confirmamos que en la resiembra de medio líquido TSB estábamos sembrando cocos Gram +.



Imagen 4: Muestra medio ambiente de aula, placa casera

En las siguientes tablas aparecen los resultados del experimento de inhibición del crecimiento bacteriano en diferentes condiciones.

Tabla 1: Temperatura

	Calidad del Medio	Crecimiento Bacteriano
Tubo 1	Medio turbio	+++
Tubo 2	Medio transparente	Nada
Tubo 3 (Leve)	Algo de turbidez	+
Tubo 4 (Intensa)	Transparencia	Nada

Tabla 2: Gel Hidroalcohólico

	Calidad del Medio	Crecimiento Bacteriano
Tubo 1	Medio turbio	+++
Tubo 2	Medio transparente	Nada
Tubo 3 (Leve)	Algo de turbidez	++
Tubo 4 (Intensa)	Transparencia	Nada

Tabla 3: Desinfectante líquido

	Calidad del Medio	Crecimiento Bacteriano
Tubo 1	Medio turbio	+++
Tubo 2	Medio transparente	nada
Tubo 3 (Leve)	Algo de turbidez	++
Tubo 4 (Intensa)	Transparencia	Nada

Tabla 4: Yodo

	Calidad del Medio	Crecimiento Bacteriano
Tubo 1	Medio turbio	+++
Tubo 2	Medio turbio	+++
Tubo 3 (Leve)	No se pueden analizar los resultados ya que el Control negativo se contaminó	
Tubo 4 (Intensa)		

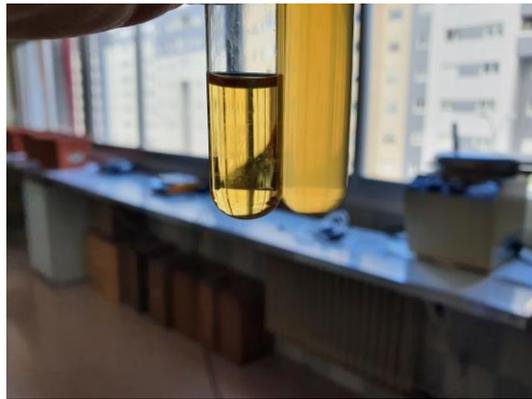


Imagen 5: A la izquierda se muestra el Control – (medio transparente) y a la derecha el Control + (medio turbio)



Imagen 6: Experimento Gel Hidroalcohólico. En orden aparecen Tubo 1, 2, 3 y 4.

CONCLUSIONES

Nuestra hipótesis es verdadera, los antisépticos utilizados inhiben el crecimiento bacteriano cuando se utilizan en mayor cantidad. Además la Tª también es un inhibidor potente pero cuando el tiempo es superior a 20 minutos.

De los 3 antisépticos utilizados podemos decir que tanto el gel hidroalcohólico como el desinfectante que se utiliza en el aula pueden matar microorganismos aunque no sabemos cuál de ellos es más eficaz. Respecto al yodo no podemos decir nada concluyente, tenemos que repetir el experimento

En un futuro utilizaríamos otros antisépticos y diseñaríamos mejor el experimento de inhibición para saber cuál de ellos es más eficaz

BIBLIOGRAFÍA

- [Cultivo de microorganismos | Microbiología médica, 26e ...](#)
- [es.wikipedia.org › wiki › Cultivo \(microbiología\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Cultivo_(microbiolog%C3%ADa))
- [Cultivo de microorganismos - EcuRed](#)
- [www.cancer.gov › español › publicaciones › microorga...](http://www.cancer.gov/espa%C3%B1ol/publicaciones/microorga...)
- [Vivimos rodeados de microorganismos: ¿Cómo velan por ...](#)
- [El hábitat de los microbios - Revista Ciencia](#)
- [La ciencia nos está enseñando los beneficios de nuestros microbios](#)
- [¿Es cierto que el fuego mata todas las bacterias? | Consumer](#)
- [Guía de utilización de antisépticos - SEFH](#)
- [hirviendo el agua mata microorganismos - Buscar con Google](#)

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Raúl Alaba por ayudarnos con la preparación de las placas y resolver nuestras dudas. También agradecemos a Jaione Arteaga por darnos materiales esterilizados, y por ayudarnos a deducir el nombre de los microorganismos que sembramos en las placas de petri.