



**E
U
S
O
2
0
1
1**

*Daniel Guerra Bernardo
Antonio Sánchez Gómez
Roberto Palacín García
Francisco Sotres Díaz (Coordinador)*

Prueba de Biología

IES GREGORIO MARAÑÓN MADRID

Índice:

➤ Índice (pág. 1)

➤ Prueba de Biología (pág. 2)

1. Marco teórico:

1.1. Los jabones (pág. 3)

1.2. El agar-sangre (pág. 3)

1.3. Bacterias más comunes
en la saliva (pág. 4)

1.4. Variables a tener en
cuenta (pág. 4)

2.1. Materiales (pág. 5)

2.2. Protocolo (pág. 6)

2.3. Resultados (pág. 6)

2.4. Conclusiones (pág. 8)

3. Bibliografía (pág. 9)

4. Agradecimientos (pág. 9)

2. La Investigación:

Prueba de Biología

¿Son efectivos los jabones antibacterianos?

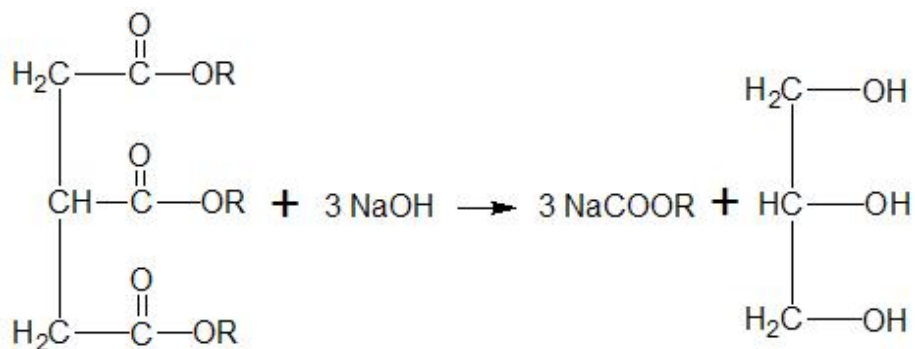
Sumario:

Vamos a realizar esta experiencia para comprobar si de verdad son los jabones antibacterianos más efectivos que los de toda la vida y ratificar su rentabilidad económica e higiénica. Para ello hemos cultivado una muestra de saliva en el medio de cultivo agar-sangre, a esos cultivos les hemos aplicado distintos jabones y observado como reaccionaban.

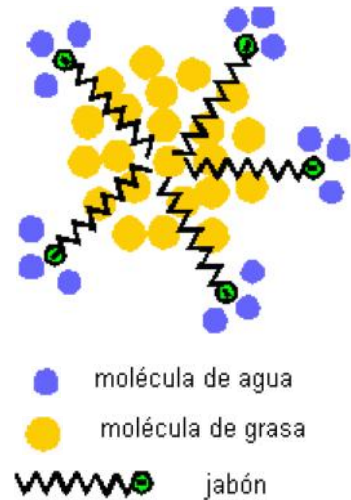
1. Marco teórico:

1.1. Los jabones

Los jabones son sales sódicas o potásicas de ácidos grasos que se obtienen de la hidrólisis de las grasas en medio alcalino según la reacción genérica:

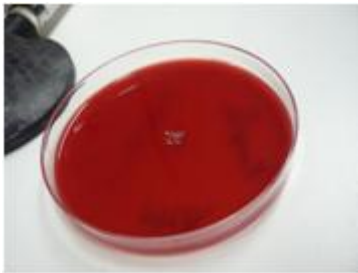


Sus moléculas están constituidas por dos partes, una apolar, formada por una cadena larga carbonada, que es neutra y repele el agua (hidrófoba) pero atrae a la grasa (liposoluble). La otra parte, la cabeza, es polar y está formada por un extremo iónico cargado eléctricamente que es afín al agua (hidrófila). Esto hace que se disuelvan en agua y disuelvan otros compuestos apolares, como grasa y suciedad. En principio no tienen propiedades bactericidas aunque se recomienda su uso en heridas para su higiene.



Los jabones antibacterianos añaden alcohol y otros compuestos bactericidas cuya función es matar microorganismos, no como el jabón normal, y puede perjudicar nuestra piel. En un principio se usaba en hospitales y centros médicos, pero tras las "epidemias" de gripe y la publicidad, se empiezan a ver estos jabones en supermercados y almacenes.

1.2. El agar-sangre



Es un medio de cultivo con fines generales para una gran variedad de microorganismos. Con el añadido de sangre, viene bien en el empleo de las reacciones hemolíticas. Este medio está libre de azúcares reductores. En su composición por litro se incluyen 15 g de digestivo pancreático, 5 g de peptona de soja, 5 de cloruro sódico y 15 g de agar.

Permite así mismo determinar la capacidad de algunas bacterias de producir enzimas extracelulares que actúan sobre los glóbulos rojos, ya sea por lisis completa (hemólisis beta, produce un halo transparente alrededor de la colonia hemolítica), parcial (hemólisis alfa, coloración verdosa alrededor de la colonia) o por ausencia de alteración (hemólisis gamma).

Es importante comprobar que el medio se comporta correctamente. Las pruebas que se deben hacer para tener seguridad son:

- Control negativo: de los medios de cultivo iguales, dejar uno sin cultivar para comprobar si estos son estériles, es decir, que no crezcan microorganismos en él.
- Control positivo: de los medios de cultivo iguales, cultivar uno con una bacteria o microorganismo de nuestra elección. En nuestro caso, nuestro control positivo será un cultivo sólo de saliva en agar-sangre.

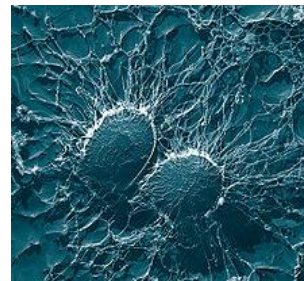
1.3. Bacterias más comunes en la saliva:



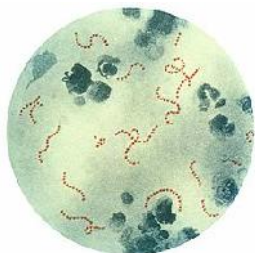
Staphylococcus epidermidis: se presenta frecuentemente en la piel de humanos y de animales y en membranas mucosas. Puede llegar a producir colonias blancas gamma o no hemolíticas.

El Staphylococcus aureus se encuentra frecuentemente colonizando diversos lugares de la superficie externa de nuestro organismo, sobre todo en y la mucosa nasal, y, en menor medida, en los cabellos, las uñas, etc.

Debe su nombre a su tendencia a agruparse formando racimos (en griego, Staphylé quiere decir racimo), a su forma esférica (se denominan "cocos" a las bacterias de forma esférica) y al color dorado que, a veces, tienen sus colonias cuando se le cultiva.



Streptococcus Viridans: que incluye Streptococcus sanguis, Streptococcus milleri, Streptococcus mitis, Streptococcus salivarius y Streptococcus mutans. Son también los llamados estreptococos orales, ya que forman parte de la flora normal de la cavidad oral. Son bacterias comensales, pueden ser del tipo alfa-hemolítico, que producen una coloración verde (de ahí el nombre viridans) en las placas de agar-sangre, o bien del tipo no hemolítico.



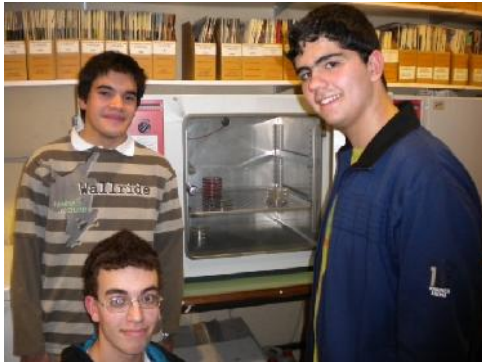
El Streptococcus pyogenes crece en largas cadenas, es un estreptococo beta-hemolítico (produce un halo verde en agar-sangre), da lugar a numerosas exotoxinas y posee varios enzimas y toxinas que incrementan su virulencia, por lo que es el causante de numerosas enfermedades. Sin embargo, debido a su gran sensibilidad a la penicilina, se puede eliminar sin mayores problemas.

Los Streptococcus sanguinis, sobrinus, mitis, oralis, mutans, Lactobacillus acidophilus, varias especies de Actinomyces y otros muchos. Son los causantes de la caries dental.

1.4. Variables a tener en cuenta:

- Tipo de jabón
- Concentración de la disolución de jabón
- Tiempo de contacto con la disolución de jabón y con la saliva (15 s)
- Superficie de contacto de palillos con el agar- sangre (0,5 mm²)

2. La investigación

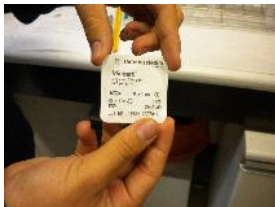


Tras la fase de documentación y diseño del proyecto, tuvimos dificultades en localizar a los proveedores del medio de cultivo. En cualquier farmacia proporcionan agar en polvo pero no agar-sangre. Gracias al asesoramiento de la madre de una compañera, que es doctora del CMB, de una profesora bióloga del Departamento de CCEE de la Facultad de Educación y de una profesora del Departamento de Microbiología de la U. Complutense, Narcisca, que nos cedió sus

instalaciones para nuestra investigación, pudimos llevar a cabo un proyecto que se inició difícil, más que nada por el contacto con los proveedores comerciales.

2.1. Materiales:

- 5 cápsulas Petri con agar-sangre como medio de cultivo
- microfiltro con microporos para evitar los microorganismos
- pipetas
- palillos chinos
- probetas (para la preparación de las muestras)
- mechero Bunsen (para esterilizar materiales, y el entorno durante la manipulación de las muestras)
- micropipeta (para extracción y depósito de muestras)
- un temporizador (para cronometrar los tiempos de dilución de las muestras)
- una estufa de cultivo, configurada a $37,5^{\circ}\text{C}$
- báscula de precisión
- Jabón de Marsella, jabón “Esteve”, jabón “Palmolive” bactericida.



2.2. El protocolo



Una vez encendido el mechero, procedimos a flamear brevemente el pequeño material implicado en la experiencia (La esterilización es absolutamente necesaria en todas las fases del proyecto, la flameando los materiales y manteniendo las muestras en un radio no mayor de 25 cm). Filtramos el agua para eliminar todos los posibles microorganismos (bacterias, hongos,...) con un filtro de 20 micras de tamaño de poro. Este agua la dejamos en un tubo de 50 ml que nos serviría para preparar las disoluciones jabonosas.

Preparamos una disolución de cada uno de los jabones, obtenemos una disolución de 1/6 en un volumen final de 1500 microlitros:

- Jabón Palmolive: 250 microlitros (10^{-6} ml) más 1250 microlitros
- Jabón Esteve: 250 microlitros (10^{-6} ml) más 1250 microlitros
- Jabón Marsella: al ser sólido, pesamos 0'05g y lo disolvemos en 10 ml de agua. Separamos en un tubo 1500 microlitros.



Recogemos saliva de un miembro del equipo en un tubo de 50 ml estéril. Introducimos el primer palillo en saliva durante 15 s y tocamos con la punta en el medio de la primera de las placas de cultivo. Este será nuestro control positivo de crecimiento bacteriano. A continuación introducimos cada palillo en una de las tres disoluciones jabonosas durante 15 s y mantenemos otros 15 s los palillos en saliva. Tocamos con cada palillo una de las placas disponibles.











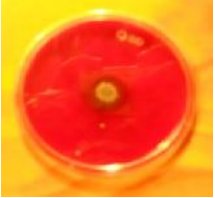














Cerramos las placas y las dejamos en una estufa de cultivo, lo que les proporcionará una temperatura constante y adecuada de crecimiento.

Se controla el crecimiento bacteriano durante 2 días en la estufa de la Facultad fotografiando las placas. Destacamos que como la experiencia se hizo en período de vacaciones de Navidad, al tercer día llevamos las placas al radiador de uno de nuestros domicilios unos 23°C, lo que aunque no fuera idóneo, sí lo consideramos un mal menor.



2.3. Resultados

Los dos primeros días las muestras estuvieron en una estufa a 37,5 °C y el resto encima de la calefacción. Para compensar la menor temperatura las fotografías se hicieron más espaciadas.

	Marsella	Esteve	Palmolive	Control negativo	Control positivo
Día 23					
	38 mm ²	79 mm ²	¿0 mm ² ?	0 mm ²	67'5 mm ²
Día 24					
	62 mm ²	112 mm ²	¿0 mm ² ?	0 mm ²	124 mm ²
<p>Observar que a partir de aquí como ya no teníamos acceso a la estufa de la universidad y pensamos que lo fundamental de la investigación ya estaba hecho, decidimos dejar que se contaminaran las placas para comprobar la acción de los jabones a largo plazo.</p>					
Día 26					
Día 28					
Día 3					

El día 3 de enero desprendían todas un olor a podrido por lo que nos deshicimos de ellas. Tabuladas las superficies en mm² superponiendo a las imágenes de la pantalla un

papel milimetrado traslúcido, medimos el número de cuadros en la pantalla que ocupaba la colonia. A continuación, un sencillo algoritmo basado en que las superficies de la imagen de la colonia en la pantalla (o en foto) y de la colonia en la placa Petri (diámetro 8,6 cm), son proporcionales a los cuadrados de las dimensiones lineales de la imagen y de la cápsula real, nos da el testimonio de su crecimiento.

Dados dos cuadrados de aristas a y b =2 a, sus áreas serán:

$$S1 = a^2 \text{ y}$$

$$S2 = b^2 = (2a)^2 = 4a^2$$

$$\text{Los cocientes } S2/S1 = (2/1)^2$$

O sea que las áreas están en la relación de los cuadrados de la dimensión lineal

TABLA DEL INCREMENTO DE SUPERFICIE COLONIZADO POR LAS BACTERIAS(mm²)

	Testigo	Control positivo	Esteve	Marsella	Palmolive
Día1 (24 h)		70	81	36	16
Día 2 (24 h)		83	84	52	16
Día 3 (48 h)		130	130	67	16
Día 4 (48 h)		163	142	72	16
Día 5 (72 h)		231	194	102	16

2.4. Las conclusiones

Como podemos observar en las fotografías, el jabón Palmolive es muy efectivo, produjo una hemolisis beta, es decir, destruyó los glóbulos rojos de la sangre, y además acabó con cualquier otro microorganismo presente en la saliva.

El jabón de marca Esteve, un jabón higienizante, aunque no tiene la misma categoría que un jabón antibacteriano, no sólo no evitó el crecimiento bacteriano, sino que fomentó el crecimiento de una colonia invasiva, que se comió parte del medio de cultivo.

El jabón Marsella, el de toda la vida, cuya única función es el transporte de grasa y suciedad, evitó el crecimiento de cierto tipo de microorganismo que podemos observar en el control positivo y en el cultivo del jabón Esteve. Además el tamaño de la colonia es más reducido, lo que muestra que limita su crecimiento.

Así pues, podemos concluir que los jabones antibacterianos son muy efectivos, pero en la balanza ventajas-inconvenientes pesan mucho más los inconvenientes: mayor precio, perjudicial para la piel y peligroso para los más pequeños por su contenido en alcohol.

Es decir, resulta útil en hospitales, operaciones quirúrgicas y en otros muchos ámbitos médicos y científicos que requieran una esterilidad absoluta, pero fuera de estos contextos pierde su utilidad.

Nos sorprendió lo sencillo que se resulta contaminar las muestras, lo que implica la presencia de bacterias en todo el medio que nos rodea.

La experiencia se hubiera optimizado con mejores fotos y si además hubiéramos podido identificar las dos o tres colonias de bacterias pero carecíamos de lupa binocular y conocimientos. Dejamos esta etapa para futuras investigaciones más profesionales.

No obstante hemos adquirido un enriquecimiento en rigor, técnicas de trabajo y metodología científica que no se adquiere en un Bachiller convencional por lo que consideramos que los objetivos de la investigación los hemos superado con creces respecto de nuestras expectativas iniciales.

3. Bibliografía

- ©<http://www.google.es/imgres?imgurl=http://www.nitsac.com/web/images/micropette%>
- ©<http://www.google.es/imgres?imgurl=http://www.globallab.com.ar/archivos/>
- ©<http://www.google.es/imgres?imgurl=http://i.ytimg.com/>
- ©<http://www.textoscientificos.com/jabon/introducción>
- ©http://www.businessnewsletters.com.ar/erika_gacetilla4/actualidad.html
- ©<http://www.scribd.com/doc/14173131/5-Tecnicas-Basicas-Para-El-Cultivo-de-Microorganismos>

4. Agradecimientos

Hemos aprendido que la tarea científica es una labor colegiada, y que sin bibliografía ni personas que te ayuden, aunque se pongan todos los esfuerzos individuales, poco se puede avanzar. Destacamos las ayudas de la profesora doctora Narcisa Martínez Quiles en especial, por su inestimable ayuda, sin la cual toda esta investigación hubiera sido muchísimo más deficiente. También quisiéramos agradecer a la doctora Elvira Nieto Pelegrín y a todo el Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia (no recordamos los nombres pero sí las ayudas), de la Universidad Complutense por el apoyo recibido y el préstamo de sus instalaciones y materiales. Gracias también a la doctora Manuela Caballero y al auxiliar de laboratorio David Somoza del Departamento de Ciencias Experimentales de la Facultad de Ecuación de la U. Complutense por su asesoramiento previo a la investigación, al coordinador del equipo.



