

MICROBIOLOGÍA BÁSICA EN LA EDUCACIÓN SECUNDARIA OBLIGATORIA: EL LAVADO DE LAS MANOS

José Pedro López Pérez

IES "Felipe II". 30870. Mazarrón. Murcia

E-mail: pedrolopez@terra.es

[Recibido en Abril de 2008, aceptado en Enero de 2009]

Palabras clave: *microbiología; lavado de manos; educación secundaria*

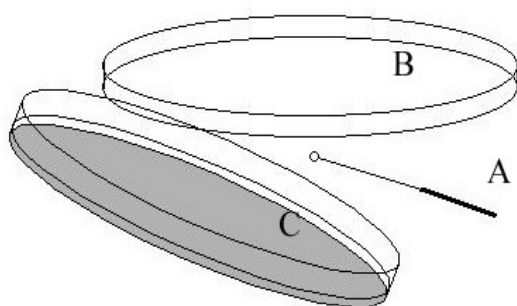
La vida microscópica está presente en ambientes tan cotidianos como los alimentos que ingerimos, el agua que bebemos, los utensilios que utilizamos para cocinar o comer; incluso en nuestro propio cuerpo. Su presencia, por lo general, pasa desapercibida pero puede ser un factor determinante que, si no es favorable, representa un riesgo para la salud del ser humano (Murray et al., 2007).

Una de las formas más rudimentarias para poner de manifiesto la presencia de microorganismos es su desarrollo sobre placas de cultivo (sobre todo los organismos heterótrofos), manifestándose a modo de colonia (bacteriana[1] o fúngica).

La adquisición de material bacteriológico por un IES es un procedimiento un tanto complejo y costoso, necesitando de una previsión anual que, finalizando el curso, pasa al olvido. No obstante, a nuestro alrededor existe una batería de medios "caseros", que podemos utilizar para poner de manifiesto la existencia de ese olvidado y desconocido mundo microscópico. Con esta experiencia no se quiere contribuir a profundizar en nuevos conocimientos sobre microbiología clínica y ecología microbiana, sino animar a la comunidad educativa, al profesorado de ciencias

naturales, a llevar a un grupo de estudiantes al laboratorio y enseñar un mundo desconocido, promoviendo de este modo una actitud positiva hacia la investigación. En este caso, la actividad práctica irá dirigida a alumnos de tercer curso de educación secundaria, mostrándoles *in vitro* todo el mundo microbiano alojado en la piel y su repercusión en la salud mediante la higiene y la prevención de enfermedades.

Los microorganismos objeto de estudio de esta actividad son heterótrofos; es decir, se alimentan de la materia



F de Kolle (A) y una placa de Petri (B-C). El medio de cultivo se deposita en la base de la placa (que es la caja más pequeña, C), que se cubre con la tapa (que tiene mayor diámetro, B) para evitar contaminaciones.

orgánica procedente de otros seres vivos o de sus restos. La fuente de materia orgánica y las sales minerales necesarias para esta experiencia se conseguirán a partir de un caldo comercial concentrado, de los que se utilizan en alimentación para la elaboración de sopas.

La metodología para lograr el estudio microbiológico será sencilla. Un cubito de caldo concentrado se disolverá en un litro de agua destilada; ajustando el pH final del medio al nivel de 7.0 ± 0.2 , con la ayuda de una tira de papel indicador o de un medidor de pH electrónico y los reactivos: HCl 1M o NaOH 1M, según proceda. 250 ml de este caldo nutritivo se verterán en el interior de una botella de vidrio Pirex®.

Para la obtención de colonias aisladas es preciso solidificar el medio de cultivo a partir de la adición de agar[2] (1.2-2.0% de concentración final). Es por lo que, a los anteriores 250 ml de caldo de cultivo, se les adicionará 5 gramos de agar comercial (o del que se utiliza en alimentación como espesante).

La esterilización del medio es necesaria para la observación de la microbiota que nos interesa estudiar. Para ello, será preciso descartar la contaminación en las placas de cultivo ocasionada por las bacterias "residentes" en la propia composición del caldo nutritivo, o la presente en la botella donde se está elaborando el medio, ya sean formas vegetativas o estructuras de resistencia microbiana (esporas, estados de latencia bacteriana y depauperación). Para ello, y ya que en los centros de educación secundaria no se dispone de un instrumental de laboratorio complejo, se procederá a la esterilización del medio de cultivo mediante la tindalización. Esta metodología consiste en llevar a ebullición, durante 15 segundos, la botella con el caldo nutritivo y agar, dejando parcialmente enroscado el tapón, y transcurriendo 24 horas de espera entre una segunda y tercera ebullición.

Después de la esterilización, se procederá al vertido del medio de cultivo en placas de Petri de plástico estéril (Figura 1). Si no se disponen de las mismas, ya que existe la dificultad añadida de encontrar un comercial especializado, se puede recurrir a su sustitución por placas de cultivo de vidrio, que sí podemos hallar en cualquier laboratorio del IES, sumergiéndolas -previamente- en una solución diluida de hipoclorito de sodio para, posteriormente, introducir las en un baño de agua caliente (100°C) durante 30 minutos. Esta técnica no esteriliza el material por completo, pero mata y daña una importantísima población de formas microbianas viables.

En cada placa de Petri de 90 mm de diámetro se depositarán unos 25 ml de medio de cultivo estéril (lo que equivale a llenar la placa ~5 mm desde el fondo). Antes de proceder al vertido, es necesario que el área de trabajo y las manos del alumno se limpien escrupulosamente con jabón e hipoclorito. A ser posible, se trabajará cerca de la llama de un mechero Bunsen, sin dirigir la salida de aire, procedente de la respiración, hacia las placas durante el vertido. Finalmente, el medio se dejará enfriar dentro de la placa de Petri de vidrio, cerrada durante 24 horas.

La observación de colonias de bacterias sobre las placas de cultivo es fruto de la siembra. Para ello, un sujeto control abrirá -cuidadosamente- la placa Petri y colocará las yemas de los dedos encima del medio, deslizándolos por toda la placa. En esta experiencia, lo que se

van a inocular son todas las formas vegetativas bacterianas y esporas alojadas sobre la superficie de la piel.



Figura 2.- Comparación de recuentos de viables heterótrofos en agar nutritivo, presentes sobre las manos de un alumno, antes y después de su lavado. Puede comprobarse una reducción en el número de colonias pigmentadas después de lavarse –únicamente– con agua clorada. Incubación: 5 días, 20°C.

Finalmente, se rotulará la placa y se repetirá la experiencia con el mismo alumno, tras lavarse las manos con agua y/o agua y jabón, deslizado las yemas de los dedos en otra placa de cultivo estéril.

Previo a la incubación, es preciso evitar la contaminación exógena a la experiencia mediante la introducción de las placas de cultivo en una bolsa. Después de la incubación a temperatura ambiente (20-25°C), durante 4-5 días, el resultado puede ser similar al que muestra la Figura 2.

La microbiota dominante en las manos de los estudiantes de secundaria es muy variable, dependiendo del período de tiempo en el que se realice la experiencia (antes o después del descanso-recreo). No obstante, destacan como especies bacterianas más sobresalientes: *Micrococcus luteus* (colonias de coloración amarilla), *Bacillus* spp. (Figura 3) (colonias de coloración blanca, mucosas y con capacidad de deslizamiento por la superficie del medio de cultivo solidificado) y *Arthrobacter* spp. (colonias de coloración crema). Las especies del género *Arthrobacter* son comunes en el suelo y bastantes resistentes a la desecación, de ahí que no sea de extrañar su presencia en la piel de animales y seres humanos (Madigan et

al., 2004, p. 411). También es preciso resaltar la presencia de géneros de hongos imperfectos, similares a los que crecen sobre quesos o el pan. Ejemplos típicos son los conidióforos de coloración oscura, típicos de especies cosmopolitas pertenecientes al género *Aspergillus*; los de coloración verdosa, perteneciente al género *Penicillium* (Figura 4[3]); o los de coloración gris claro, típicos del género fúngico *Mucor* o *Rhizopus* (Figura5).



Figura 3.- Colonias de microorganismos viables heterótrofos en agar nutritivo antes de lavarse las manos. Se aprecian dos colonias centrales de aspecto dendrítico (*Bacillus* spp.), así como un importante número de pigmentadas amarillas (*Micrococcus luteus*; *Sarcina lútea*). Incubación: 5 días, temp. ambiente.



Figura 4.- Colonias de microorganismos viables heterótrofos en agar nutritivo antes de lavarse las manos. Muestra procedente de varios alumnos tras el período de descanso (recreo). Destaca la presencia de colonias fúngicas marrón oscuro (*Aspergillus* spp.) y verde con halo claro (*Penicillium* spp.). Incubación: 5 días, 20°C.

La discusión más relevante con los alumnos es la comprobación de que nuestro propio cuerpo es un verdadero cultivo de vida microbiana, compuesto por un gran número de bacterias que nos ayudan y de otras que -incluso- nos resultan perjudiciales (Prescott et al., 2002). Conviene resaltar, en sintonía con el objeto de estudio de esta experiencia, que el simple lavado de las manos con agua clorada reduce las poblaciones de microorganismos. No obstante, en algunos casos pueden aparecer en las placas de cultivo (en aquellas sembradas tras el lavado de las manos) de algunas colonias de microorganismos que estuvieron presentes en la propia agua de lavado y que aun quedaron en las manos, resistentes al cloro, perturbando los recuentos y ofreciendo un resultado negativo en esta experiencia (Fig. 2, después de lavado). A pesar de esto, el hecho llamativo de toda esta práctica es la reducción de colonias pigmentadas, sobre todo y a modo de ejemplo, las que pertenecen a la especie *Micrococcus luteus*, y la desaparición de otras pertenecientes al género *Bacillus*.

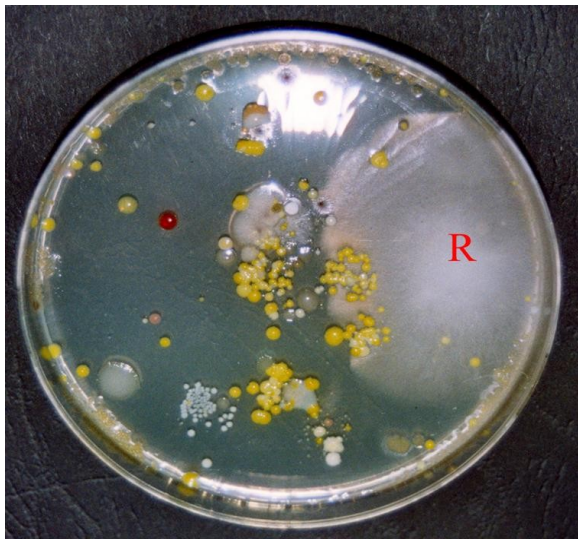


Figura 5.- Colonias de microorganismos viables heterótrofos en agar nutritivo antes de lavarse las manos. Destaca en la placa la presencia de una colonia fúngica que invade desde la derecha, perteneciente al género *Rhizopus* spp (R). Incubación: 5 días, temp. ambiente.

El resultado mostrado en la Figura 4 fue incorporado a este artículo con motivo de las poblaciones dominantes de mohos, que aparecieron en un muestreo aleatorio efectuado a un grupo de alumnos que regresaban a clase tras el recreo. El interés de la placa radica en la presencia de una dominante población de hongos imperfectos que, mediante la liberación de compuestos de naturaleza antibiótica (antibióticos β -lactámicos, caso de la penicilina), inhiben la proliferación de bacterias (Madigan et al., 2004. p. 705-706).

Si bien el interés de los estudiantes ante la presencia de microbiota viable sobre sus propias manos es más que justificado, el profesor deberá hacer mayor hincapié en preguntas de discusión de los resultados y su repercusión en la salud y la Sanidad Pública.

El tiempo estimado para la realización de la explicación de esta experiencia es de 55 minutos (1 clase). No obstante, montaje y

desarrollo requieren de varios días (sobre todo, sería recomendable que aquellos alumnos interesados preparasen todo el material en horas de recreo o descanso). Con ayuda de un asa de Kolle[4] pueden tomarse muestras de cada una de las colonias, y realizar las observaciones pertinentes al microscopio óptico de campo claro (previa tinción) o de contraste de fase.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Madigan, M.T., J.M. Martinko y J. Parker. 2004. *Brock: Biología de los microorganismos*. 10ª edición. Prentice Hall.
- Murray, P.R., K.S. Rosenthal y M.A. Pfaüer. 2007. *Microbiología médica*. 5ª Edición. Elsevier. Madrid.
- Prescott, L.M., J.P. Harley y D.A. Klein. 2002. Pathogenicity of microorganisms. Cap. 34. En *Microbiology*. 5ª edición. McGraw-Hill. pp. 787-804.

[1] Masa microbiana visible formada tras las sucesivas divisiones de una célula. Su tamaño, forma y coloración es dependiente de la especie bacteriana. Se estima que la cantidad de microorganismos viables integrantes de una colonia es de mil millones.

[2] El agar es un polímero polisacárido utilizado como espesante en alimentación. Su empleo en microbiología deriva de las experiencias de W. Hesse (Madigan et al., 2004, p. 15) como agente solidificante de los medios de cultivo.

[3] Esta placa de Petri corresponde al cultivo de una muestra independiente al resto del trabajo presentado en esta experiencia, que sorprendió por la presencia y aislamiento de un gran número de colonias fúngicas.

[4] Asa de cultivo provista de un filamento de níquel-cromo o platino sujeto a un mango metálico o de plástico (ver Fig. 1). El filamento se lleva a incandescencia para su esterilización, dejándose enfriar al aire o tocando una porción de medio de cultivo, previo a la siembra de microorganismos.

BASIC MICROBIOLOGY IN COMPULSORY SECONDARY EDUCATION: WASHING ONE'S HANDS.

Keywords: *microbiology; washed one's hands; secondary education*