

## COMPROBACIÓN DE LA EFICACIA DE UN ANTIBIÓTICO

*Este kit está diseñado para hacerlo a continuación de la actividad “Bacteria a la vista” en el laboratorio LIA Bio o a través del kit “Cultivo de bacterias”.*

Las bacterias, al crecer, cambian el pH del medio de cultivo, acidificándolo. Este cambio en el pH del medio de cultivo puede monitorizarse gracias al uso de indicadores de pH, productos que viran (cambian de color) según sea el pH del líquido.

NOTA: La actividad debe realizarse en dos días distintos.

### Materiales incluidos en el kit

- Tubos de 5mL (3/grupo)
- Gradillas (1/grupo)
- Pipetas Pasteur (2/grupo)
- Rotuladores permanentes
- Placa con “Bacteria problema” (BP)
- Palillos de dientes de madera (1/grupo)
- Reactivos\*:
  - Indicador pH (CL) (1 tubo eppendorf/grupo).
  - Medio de cultivo (MC) (3mL grupo)
  - Botes cuentagotas “C”, “1”, “2”

\*Al final del documento se incluyen las instrucciones para la preparación de estos reactivos de manera autónoma.

### Protocolo para el día 1

1. Cogemos 3 tubos de 5mL y los rotulamos con un rotulador permanente de la siguiente manera:
  1. “C”(control),
  2. “1” (antibiótico 1)
  3. “2” (antibiótico 2)
2. Colocamos los tres tubos en la gradilla.
3. Añadimos con una pipeta Pasteur 1 mL del medio de cultivo (tubo “MC”).
4. Con un palillo de madera picamos una colonia de bacterias de la placa “Bacteria problema” (“BP”) y lo mojamos en cada uno de los tubos que hemos llenado con el medio de cultivo. **IMPORTANTE: NO TOCAR CON LAS MANOS LAS BACTERIAS DE LA PLACA.**

5. Añadimos 2 gotas de cada uno de los goteros con los antibióticos (C, 1 o 2) en el eppendorf correspondiente.
6. Dejamos incubar hasta el día siguiente a temperatura ambiente.

***Al acabar la práctica de este día, guardamos la placa junto con los palillos en la bolsa que se ofrece con el kit para su posterior esterilización en el laboratorio.***

### **Protocolo para el día 2**

1. Recuperamos los tubos con las bacterias y los antibióticos.
2. Añadimos 5-6 gotas del líquido indicador (“LI”) en cada tubo.
3. Cerramos los tubos eppendorf y mezclamos por inversión.
4. Registramos los resultados:
  - a. Un pH ácido debido al metabolismo de las bacterias produce que el líquido indicador vire a tonos rosados (el antibiótico no ha funcionado).
  - b. El líquido indicador se mantiene morado: significa que el pH se mantiene neutro y que, por lo que las bacterias han muerto (el antibiótico ha funcionado).

### **Protocolo para la preparación de reactivos en el centro**

La preparación de los reactivos que se incluyen en esta actividad incluye materiales y productos seguros y sencillos de encontrar y puede realizarse de manera autónoma por el profesorado:

- **Medio de cultivo:** mezclar **agua destilada** y un poco de colorante alimentario amarillo.
- **Líquido indicador:** se puede obtener a partir de col lombarda. Las antocianinas que posee esta planta tienen la propiedad de cambiar de color según el pH del medio, de tal forma que en medios ácidos cambia de morado a rosa o rojo. Para obtenerla, troceamos 2 o 3 hojas y las calentamos con **agua destilada**. Se puede ajustar el color según la proporción de hojas y agua.
- **Solución control y antibióticos “falsos”:** utilizamos una solución ácida, como vinagre diluido. Hay que tener en cuenta que la situación control y el antibiótico que no es efectivo serán aquellas soluciones que tienen ácido, ya que son las que hacen que el líquido morado de la col vire a rosa (identificado como bacterias vivas), mientras que el antibiótico que supuestamente funciona se preparará con agua destilada para que no cambie el color del líquido indicador (bacterias muertas).