

A central image of a petri dish containing a white agar medium. Several small, colored circular spots (pink, blue, green) are visible on the surface, representing antibiotic diffusion assays. The dish is set against a background of a dense pattern of colorful, out-of-focus circles in shades of brown, orange, and yellow.

ANTIBIÒTICS NATURALS

*Un mètode antimicrobià més
eficaç?*

Maribel Enamorado Jiménez

15/01/2015

Microbiologia

Rosa Reina Suñe

Un cop finalitzat el meu treball de recerca, m'agradaria agrair qualsevol moment dedicat a mi, a la meva ajuda i la meva recerca, a totes aquelles persones que han aportat qualsevol idea i temps al treball, aquelles que d'una manera o d'una altra m'han pogut ajudar durant els llargs mesos que he estat treballant.

A la meva família, sens dubte, els agraeixo moltíssim la seva paciència, atenció i suport moral sempre que l'he necessitat.

Cal destacar la participació d'amics i amigues meus en l'enquesta, a més de la confiança que han mostrat en mi des del primer moment.

A la meva escola Institut Rovira-Forns per tot el material prestat, a més de permetre'm l'estància al centre durant el mes de juliol per realitzar les meves pràctiques experimentals, sense les quals el treball no hauria pres cap sentit.

Agraeixo també la participació i el suport per part del professorat, en especial dels professors de l'àmbit de les ciències, que d'una manera o una altra han pogut ajudar-me.

Vull destacar, en especial, el grandíssim suport del centre CESIRE (Centre de Suport a la Innovació i la Recerca Educativa), per la seva amable i tan agradable disposició i, sobretot, per dotar-nos de tot el material necessari per dur a terme la part experimental del treball.

Finalment, agraeixo de tot cor els ànims, les hores de treball, la paciència, els consells, la disposició i dedicació i, sobretot, la confiança de la meva tutora Rosa Reina, sense la qual no hauria realitzat el treball. Ha estat un plaer compartir amb ella la meva recerca.

Moltíssimes gràcies a totes les persones que han aportat un granet de sorra a la meva investigació i al treball.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ.....	3
1. BACTERIS.....	5
1.1 QUÈ SÓN?.....	5
1.2 TIPUS DE BACTERIS EN FUNCIÓ DE LA PARET BACTERIANA	7
1.3 TIPUS DE BACTERIS SEGONS LA SEVA NUTRICIÓ I METABOLISME	7
1.4 CLASSIFICACIÓ MORFOLÒGICA BACTERIANA	9
1.5 CLASSIFICACIÓ ECOLÒGICA BACTERIANA	9
1.6 REPRODUCCIÓ I GENÈTICA BACTERIANA	10
1.7 ESCHERICHIA COLI.....	12
1.7.2 CARACTERÍSTIQUES NUTRITIVES.....	13
1.7.3 PODER PATOGEN	13
1.8 MICROCOCCUS LUTEUS.....	14
2. ANTIBIÒTICS.....	15
2.1 QUÈ SÓN ELS ANTIBIÒTICS?	15
2.2 TIPUS D'ANTIBIÒTICS	15
2.3 EFECTE DELS ANTIBIÒTICS SOBRE BACTERIS.....	16
2.4 RESISTÈNCIA ALS ANTIBIÒTICS.....	17
2.5 AMOXICIL·LINA	17
3. BIOCIDES.....	19
3.1 TRICLOSAN.....	19
3.2 ALCOHOL.....	20
4. ANTIBIÒTICS NATURALS	21
4.1 PRÒPOLIS.....	21
4.1.1 APLICACIONS DEL PRÒPOLIS.....	21
5. ANTIBIOGRAMES	23
6. DISSENY EXPERIMENTAL.....	24
6.1 EXECUCIÓ DE L'EXPERIÈNCIA.....	26
6.1.1 EXPERIÈNCIA 1	26
6.1.2 EXPERIÈNCIA 2.....	28
6.2 RESULTATS.....	31
6.2.1 RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 1.....	31

6.2.2	RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 2	34
6.2.3	RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 3	36
6.3	CONCLUSIONS DE L'EXPERIMENT	38
6.3.1	CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 1	38
6.2.3	CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 2.....	40
6.2.3	CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 3.....	41
7.	CONSIDERACIONS FINALS.....	43
8.	WEBGRAFIA.....	45
9.	BIBLIOGRAFIA	49
	ANNEX 1: GLOSSARI	50
	ANNEX 2: FOTOGRAFIES ANTIBIOGRAMES DE LES EXPERIÈNCIES.....	56
	ANNEX 3: TAULA DE SENSIBILITAT ANTIMICROBIANA.....	60
	ANNEX 4: ENQUESTA A LA POBLACIÓ DEL MEU MUNICIPI.....	61



INTRODUCCIÓ

El meu interès per la ciència va començar a l'inici dels meus estudis d'educació secundària obligatòria. Des de llavors, he mostrat una gran curiositat per totes les malalties i les investigacions possibles per la seva cura. Així, al començar batxillerat, tenia clar que la biologia seria la ciència a partir de la qual continuaria el meu camí tant a l'aprenentatge com a la recerca. Amb l'ajuda de la meva tutora del treball de recerca he pogut trobar un tema interessant, amb el qual podré desenvolupar i aprendre conceptes nous i, potser, arribar a decidir-me sobre l'àmbit de la ciència que vull estudiar. Per últim, he de dir que aquest treball em motiva a lluitar pel que realment vull: la investigació i la ciència. Tinc fam d'aprendre, d'arribar a ser algú important i d'aconseguir tots els èxits que m'he proposat des de la meva infantesa.

A l'hora d'escollir el tema a partir del qual desenvoluparé el nucli del treball, m'he centrat en l'estudi dels antibiòtics naturals envers els sintètics, degut a que em sembla interessant comprovar la suposada i tan comentada eficàcia dels antibiòtics naturals. Des del seu descobriment, l'ús indiscriminat dels antibiòtics a la pràctica mèdica ha provocat, entre d'altres mals, el desenvolupament de soques bacterianes resistents. La veritat és que sempre he pensat que a vegades ens oblidem de les magnífiques bondats que la naturalesa té per oferir-nos. Sincerament, crec que els antibiòtics naturals poden ser molt eficaços i que els sintètics han provocat més problemes dels que se suposa que haurien d'haver resolt, doncs molts bacteris han desenvolupat una gran resistència, i només aquells més potents funcionen. És per aquest motiu que comprovaré l'eficàcia d'un antibiòtic natural envers un de sintètic i emmarcaré, doncs, la investigació amb l'ús dels antibiòtics naturals a la nostra societat i l'ús incorrecte que es fa dels antibiòtics sintètics.

Els objectius principals del meu treball són:

- **Comparar l'efecte dels diferents antibiòtics sintètics i un de natural, enfront dos tipus de colònies bacterianes.**
- **Comprovar l'existència de soques bacterianes resistents a determinats antibiòtics o a d'altres compostos antimicrobians o biocides com el triclosan.**

Per assolir-los hauré de treballar els següents objectius:

- Conèixer els principals grups de bacteris i les seves característiques.



- Conèixer les característiques i els mecanismes d'actuació d'un agent patogen.
- Estudiar els mecanismes d'actuació dels antibiòtics.
- Entendre què és un biocida i el mecanisme d'actuació del triclosan.
- Estudiar l'eficàcia que tenen el triclosan (biocida), el pròpolis (antibiòtic natural) i l'amoxicil·lina (antibiòtic sintètic) enfront *M.luteus* i *E.coli*.
- Destacar i comprovar el risc que comporta el mal ús de les substàncies antimicrobianes i el consegüent increment de soques bacterianes resistents, tot prenent consciència del paper dels antibiòtics i del seu ús racional.
- Tenir la possibilitat d'una petita presa de contacte amb la tècnica del cultiu bacterià: tècnica rutinària en els laboratoris de microbiologia.
- Conèixer l'ús que es fa dels antibiòtic al meu municipi.

Abans de posar en marxa el meu treball, es necessari plantejar-me les següents hipòtesis:

Objectiu 1:

- **Potser el pròpolis és igual o més eficaç que l'amoxicil·lina i el triclosan enfront *M.luteus* i *E.coli*.**
- **Potser el pròpolis és menys eficaç que l'amoxicil·lina i el triclosan enfront *M.luteus* i *E.coli*.**
- **Potser el pròpolis no és eficaç enfront els dos bacteris estudiats.**

Objectiu 2:

- **Potser *E.coli* i *M.luteus* adquireixen resistència als antibiòtics i altres substàncies antimicrobianes com l'alcohol i el pròpolis.**

Per últim, cal dir que el treball està estructurat de la següent manera:

- En primer lloc, desenvoluparé la part teòrica, tot explicant les característiques sobre els bacteris, els antibiòtics i els biocides. Així com aprofundiré l'objecte d'estudi amb els bacteris: *E.coli* i *M.luteus*; els antibiòtics: amoxicil·lina i pròpolis; i els biocides: alcohol i triclosan.
- Després realitzaré la part experimental per corroborar o refutar les hipòtesis formulades.
- Finalitzaré amb les conclusions de la part experimental i del treball.



1. BACTERIS

1.1 QUÈ SÓN?

Els bacteris són uns microorganismes unicel·lulars procariotes¹, que pertanyen al regne monera². Poden formar colònies, és a dir, agrupacions d'un gran nombre de cèl·lules bacterianes. No són visibles a ull nu.

Els bacteris són realment importants, ja que van ser els primers organismes en aparèixer al planeta Terra fa uns 3500 milions d'anys, adaptant-se a tots els canvis que hi ha hagut des de llavors. Dins aquest grup, trobem una gran varietat de formes de vida i habiten qualsevol lloc, tot exercint un paper fonamental en els ecosistemes, degut a la gran diversitat de metabolismes. Cal dir que estem en contacte directe contínuament amb ells, especialment perquè també viuen a la nostra pell i a les nostres mucoses dels aparells respiratori, genital i digestiu.

Alguns bacteris són autòtrofs³: uns fotosintetitzadors i d'altres obtenen l'energia a partir de la descomposició de sals minerals. Molts són heteròtrofs⁴. En quant a la necessitat d'oxigen per viure, hi ha bacteris aerobis⁵ i anaerobis⁶. En trobem també aquells que poden sobreviure a temperatures extremes o en condicions d'alta salinitat o acidesa, que cap altre organisme no suportaria. Per últim, és característica d'aquest grup la gran rapidesa de reproducció.

En comparació a la cèl·lula eucariota, a la procariota li manquen molts orgànuls. Cal dir que els bacteris són realment petits (1-8µm). A continuació, es mostren les seves parts:

¹Les cèl·lules bacterianes són procariotes, ja que el seu material genètic es troba en una sola cadena d'ADN i no tenen nucli diferenciat.

²Regne biològic que comprèn la majoria dels éssers vius amb una estructura cel·lular procariòtica

³Organismes que produeixen la matèria orgànica amb la qual es nodreixen a partir del diòxid de carboni o altres formes inorgàniques del carboni (C).

⁴Organismes que obtenen el carboni (C) per mitjà dels éssers vius, utilitzant com a font la matèria orgànica.

⁵Organismes que necessiten viure en presència d'oxigen.

⁶Organismes que viuen en absència d'oxigen.



- **Paret bacteriana:** capa d'estructura rígida localitzada a la part externa de la cèl·lula, concretament a l'exterior de la membrana plasmàtica. La seva funció és la d'actuar com a compartiment cel·lular intervenint en totes les relacions de la cèl·lula amb l'entorn, a més de protegir els continguts de la cèl·lula.
- **Membrana plasmàtica:** embolcall cel·lular que permet l'intercanvi de substàncies entre el medi intracel·lular i extracel·lular, composta principalment per lípids i proteïnes.
- **Citoplasma:** Medi aquós intracel·lular, amb una aparença d'emulsió col·loïdal, per on s'estenen els orgànuls i els permet moure's.
- **Ribosoma:** Orgànul globular de dues subunitats amb la funció de síntesi de proteïnes.

- **ADN:** Informació genètica de la cèl·lula.

- **Càpsula:** Es tracta d'una capa d'aparença mucosa i estructuralment rígida, que envolta la paret bacteriana, formada per polisacàrids.

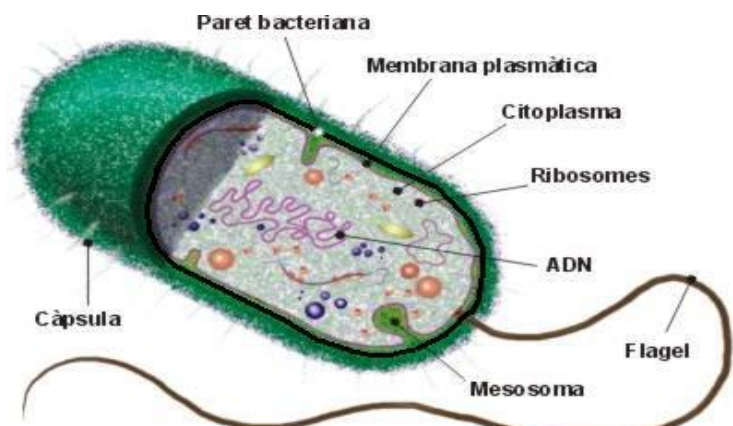


Figura 1: Les parts d'un bacteri

- **Mesosoma:** Invaginació de la membrana plasmàtica de les cèl·lules procariotes. Té un paper imprescindible en la formació de la paret cel·lular durant la divisió cel·lular i en la replicació i la distribució de cromosomes.
- **Flagel:** Prolongació de la paret bacteriana, a partir del qual el bacteri es pot desplaçar, mitjançant el moviment d'aquest.
- **Vacúol:** Vesícula de grandària i nombre variable que es troba en cèl·lules animals i vegetals, i que està delimitada per una membrana, la qual conté substàncies en dissolució i regula la pressió osmòtica de les cèl·lules.
- **Fímbrries:** Estructures en forma de túbul, petites i fines, transmissores d'informació genètica.



1.2 TIPUS DE BACTERIS EN FUNCIÓ DE LA PARET BACTERIANA

Entre totes les substàncies que conformen la paret bacteriana, el component més destacat és el peptidoglicà també anomenat mureïna⁷. En funció d'aquests components característics de l'estructura de la paret, els bacteris es comporten de diferent manera i poden ser classificats de la següent forma:

- **Bacteris grampositius:** són aquells bacteris que a l'exposar-se a la tinció Gram⁸, queden tenyits de color violeta, com a resultat de tenir a la seva paret diverses capes de mureïna.
- **Bacteris gramnegatius:** són aquells bacteris que a l'exposar-se a la tinció Gram, s'observa el color rosa, com a resultat de tenir a la seva paret una única capa de mureïna, ja que aquesta no queda tenyida.

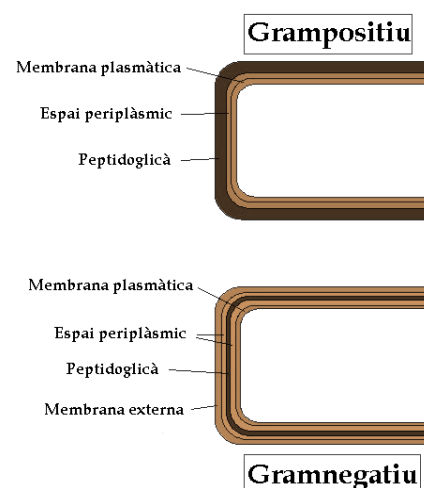


Figura 2: Estructura de la paret bacteriana en funció de si el bacteri és grampositiu o gramnegatiu

Cal dir que aquesta classificació té vital importància, ja que els antibiòtics actuen sobre aquesta paret.

1.3 TIPUS DE BACTERIS SEGONS LA SEVA NUTRICIÓ I METABOLISME

Els humans compartim molts aspectes amb els bacteris, especialment en la bioquímica i el metabolisme⁹. Tot i així, la variabilitat i la versatilitat metabòliques dels bacteris són tan magnífiques i extraordinàries que els ha permès colonitzar gairebé tots els medis del planeta. Així cada bacteri necessita uns nutrients característics, una quantitat d'oxigen adequada i una temperatura, un PH i una humitat òptimes.

⁷ Macromolècula formada per certs aminoàcids i monosacàrids que es van repetint per formar la paret cel·lular bacteriana.

⁸ Veure glossari (la tinció Gram) a l'annex 1.

⁹ Conjunt de reaccions químiques que pretenen aconseguir la matèria i l'energia necessàries per mantenir l'estructura i la dinàmica cel·lulars.



Tots ells, per poder dur a terme les funcions vitals necessiten constantment una font de carboni i d'energia i així obtenir ATP¹⁰ i matèria en les seves rutes metabòliques: és l'anomenat procés de catabolisme.

		FONT D'ENERGIA	
FONT DE CARBONI	LLUM (fotòtrofs)	ENERGIA ALLIBERADA EN LES REACCIONS QUÍMIQUES (quimiòtrofs)	
Matèria orgànica (heteròtrofs)	<u>Fotoheteròtrofs</u> Bacteris vermells i verds no del sofre: <i>Rhodospirillum</i> , <i>chlorobium</i> .	<u>Quimioheteròtrofs</u> Bacteris aerobis, bacteris anaerobis i bacteris facultatius: <i>Micrococcus luteus</i> i <i>Escherichia coli</i> .	
Matèria inorgànica (autòtrofs)	<u>Fotoautòtrofs</u> Bacteris vermells i verds del sofre (fotosíntesi anoxigènica): <i>Chromatium</i> . Cianobacteris (fotosíntesi oxigènica): <i>Spirulina</i>	<u>Quimioautòtrofs</u> Bacteris incolors del sofre i bacteris oxidants del ferro: <i>Beggiatoa</i> i <i>Leptotrix</i> .	

Taula 1: Classificació de bacteris en funció de la font de carboni i energia que prenen com a l'inici de les seves rutes metabòliques.

D'aquesta manera, trobem bacteris que com a font d'energia prenen la llum del sol, mentre que d'altres utilitzen l'energia alliberada en les reaccions químiques; i els bacteris que com a font de carboni prenen la matèria orgànica, mentre que d'altres necessiten la matèria inorgànica:

¹⁰Energia indispensable i necessària per sobreviure en tots els éssers vius.



1.4 CLASSIFICACIÓ MORFOLÒGICA BACTERIANA

En quant a la forma, els bacteris poden ser:

- **Cocs:** bacteris morfològicament esfèrics, de mida inferior als bacils. A vegades apareixen aïllats o de dos en dos (diplococs), de quatre en quatre (tètrades), etc.
- **Bacils:** bacteris de forma allargada i cilíndrica similar a un bastonet o a una barra. Els podem trobar en forma de cadenes lineals o ramificades. Hi ha variants dels bacils (figura 4).
- **Altres:** bacteris que no tenen una forma o classificació fixa o definida.

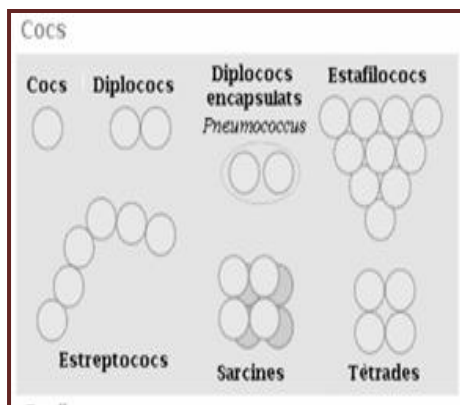


Figura 3: Variants dels bacteris cocs

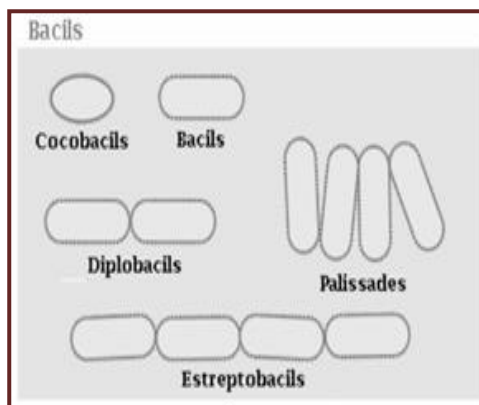


Figura 4: Variants dels bacteris bacils



Figura 4: Altres formes bacterianes

1.5 CLASSIFICACIÓ ECOLÒGICA BACTERIANA

També podem classificar els bacteris segons l'impacte que tenen als diferents medis:

- **Bacteris patògens o paràsits:** són els bacteris responsables de moltes malalties infeccioses com la tuberculosi i la pneumònia, al produir toxines que destrueixen o paralitzen les cèl·lules de diferents aparells del cos. Moltes vegades, també afecten el sistema nerviós. Alguns patògens no produeixen infeccions, però sí que comporten conseqüències negatives al nostre cos, com els causants d'alguns avortaments espontanis en els primers tres mesos d'embaràs, tant en animals com en dones. En aquest grup es troben els bacteris amb els quals realitzaré la meua investigació a la part experimental: *E. coli* i *M. Luteus* (en alguns casos és un possible patògen).



- **Bacteris simbiòtics:** són els bacteris imprescindibles portadors de molts beneficis per la salut, com el creixement, la digestió i la immunitat. Sense ells, un nadó tindria moltes dificultats per sobreviure al món exterior. Participen en processos vitals, a més de ser responsables de la producció de la vitamina B₁₂¹¹.
- **Bacteris alimentaris:** Bacteris presents als aliments dels humans. Alguns són inofensius i necessaris per la realització d'aliments com el formatge; altres alteren el color, l'olor, el gust o la textura; i, per últim, trobem els patògens productors de intoxicacions i toxiinfeccions alimentàries com la Salmonel·la¹².

1.6 REPRODUCCIÓ I GENÈTICA BACTERIANA

Els bacteris es reproduïxen per reproducció asexual, és a dir, sense la necessitat d'un altre individu. Ho fan mitjançant la bipartició, dividint-se de dos en dos. Aquest mecanisme de reproducció comprèn dues fases:

- **Fase de repòs:** durant aquesta fase l'ADN nuclear, el motor de la divisió cel·lular, es manté proper al mesosoma central.
- **Fase activa:** aquesta fase s'inicia amb la duplicació del material genètic, és a dir, quan s'elabora una nova molècula d'ADN idèntica a l'original que s'unirà al mesosoma, el qual al tancar-se, separarà el citoplasma en dos i repartirà la informació genètica a parts iguals per donar lloc a les cèl·lules filles, amb cadascun dels components del nucli bacterià i del citoplasma.



Figura 6: Bipartició d'un bacteri

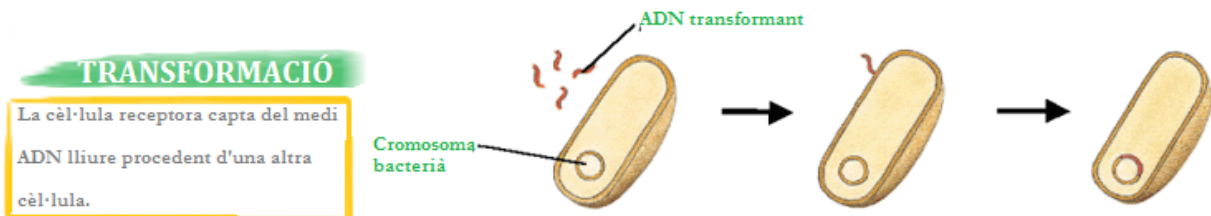
Finalment, es formen els nous sectors de la paret cel·lular en el seu interior, donant lloc a dues noves cèl·lules totalment constituïdes. La bipartició, però, no comporta la mescla d'ADN entre dues cèl·lules distintes, tot i que hi ha diversos processos anomenats mecanismes parasexuals que s'encarreguen de fer-ho. Es descriuen tres:

¹¹Vitamina productora de l'energia cel·lular, la síntesi de l'ADN i la fabricació d'àcids grassos.

¹² Gènere bacterià caracteritzat per ser bacils gram negatius, anaerobis facultatius, amb flagels que rodegen al microorganisme i no desenvolupa càpsula ni espóra.

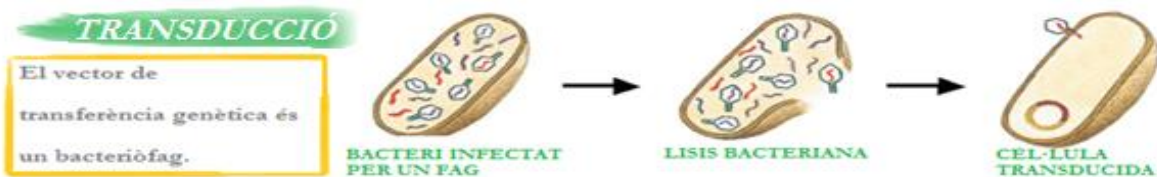


- **Transformació:** Consisteix en el procés de captació d'ADN lliure al medi, procedent d'un altre bacteri, a causa de la seva lisi, la qual comporta una partició de la membrana cel·lular i la conseqüent alliberació de la informació genètica a l'exterior cel·lular, que s'incorporarà al següent ADN bacterià.



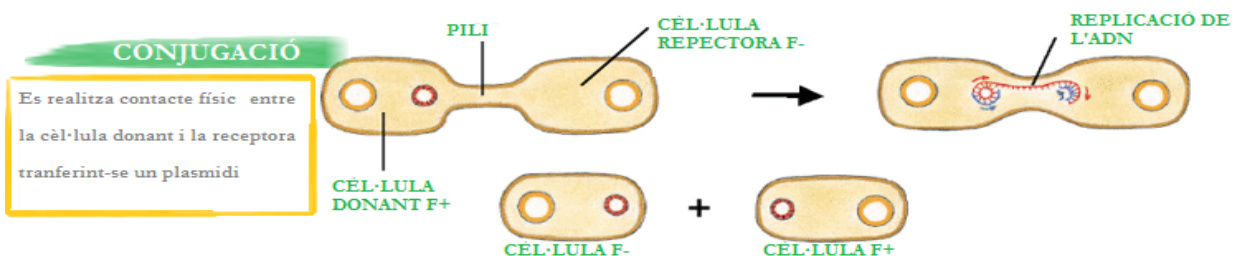
Esquema 1: Procés de transformació bacteriana

- **Transducció:** A través d'un bacteriòfag, un virus que infecta bacteris, es transmeten fragments d'ADN d'un bacteri a un altre, amb la informació genètica de l'últim bacteri que ha parasitat.



Esquema 2: Procés de transducció bacteriana

- **Conjugació:** A través de les fímbries dels bacteris, es passen fragments d'ADN d'un bacteri donador a un altre de receptor. El procés és el següent: els bacteris donadors transfereixen uns plasmidis¹³ F⁺ portadors d'uns gens per fabricar les fímbries i fan que els bacteris F⁻ (que no tenen plasmidis) al conjugar.-se amb els portadors, passin a ser F⁺.



Esquema 3: Procés de conjugació bacteriana

¹³ Molècula d'ADN pròpia dels procarotes, que es replica independentment del cromosoma. Els plasmidis aporten gens funcionals que no es troben als cromosomes i solen ser els responsables de les resistències als antibiòtics o aportar ruta metabòlica per a aprofitar substrats.



1.7 ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli és l'espècie principal i característica dels microorganismes aeròbics i facultatius¹⁴ que es troba al tracte gastrointestinal dels animals de sang calenta i que s'acaba eliminant a través de l'expulsió dels excrements no absorbits durant la digestió (femta), a l'exterior. *E. coli* representa una molt petita proporció del contingut total de bacteris en aquest lloc del cos humà, en comparació, per exemple, a alguns anaerobis, els quals són molt més abundants a l'intestí gros. Tot i així, com que destaca per la seva presència regular a l'intestí i en la femta, *E. coli* és utilitzada com indicador de contaminació fecal. Degut a que també es pot trobar en el medi ambient, aquest bacteri colonitza l'intestí humà adherint-se al moc que el recobreix, durant les primeres 40 hores després del naixement podent persistir indefinidament, al ingerir aliments o beure aigua, encara que també s'obté directament d'altres individus en contacte amb el recentment nascut. Presenta les següents característiques:

ESCHERICHIA COLI



CLASSIFICACIÓ CIENTÍFICA

Regne	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Família	Enterobacteriaceae
Gènere	Escherichia
Espècie	<i>E. coli</i> (<i>E. Freundi</i>)

Taula 2: Classificació taxonòmica d'*E. coli*

1.7.1 CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES I FISIOLÒGIQUES

- Bacil curt
- Tinció de gram rosa → gram negatiu
- Sense espores
- Mòbils gràcies a flagels que té incorporats
- Mesures: 0'5 μ d'amplària x 0'3 μ de llargària
- Productors de les vitamines B i K

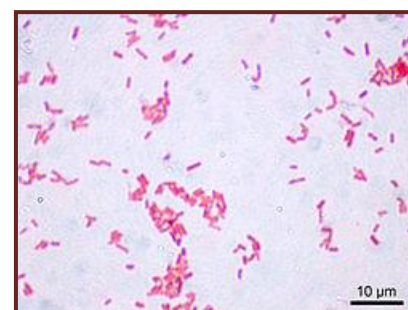


Figura 7: Tinció de Gram d'*E. coli* negativa

¹⁴Bacteris que poden adaptar-se per créixer i metabolitzar substrats tant en presència com en absència d'oxigen.



- Reacció catalasa positiva¹⁵
- Reacció oxidasa negativa¹⁶
- Reductor de nitrats¹⁷ a nitrits¹⁸

1.7.2 CARACTERÍSTIQUES NUTRITIVES

- Versàtil, fàcilment adaptada al seu ambient
- Fermenta glucosa i lactosa amb producció de gas
- Anaerobi facultatiu que creix a un pH òptim entre 6-7 i uns 37°C de temperatura.

1.7.3 PODER PATOGEN

E. coli és una espècie bacteriana molt important en diversos àmbits de la ciència, l'economia i la medicina. Algunes soques d'*E. coli* són patògens, amb la capacitat de causar diverses malalties i infeccions, tant en humans com en animals; la majoria, en canvi, no ho són i beneficien l'hoste tot sintetitzant cofactors que el protegeixen de la invasió per part d'altres organismes patògens. El mecanisme d'acció d'*E. coli* es caracteritza principalment per afectar a la mucosa intestinal (on apareixen els bacteris), formant una alteració a l'estructura de les microvellositats.

Entre les infeccions que pot causar, en trobem d'entèriques (diarrea, disenteria, colitis hemorràgica, etc.) o d'extraintestinals (infeccions urinàries, bacterièmies o septicèmia, meningitis, peritonitis, infeccions pulmonars i de ferides).

¹⁵Enzim que es troba en organismes vius i accelera la descomposició del peròxid d'hidrogen (H_2O_2) en oxigen i aigua. (Veure reacció al glossari de l'annex 1).

¹⁶Enzim que accelera una reacció d'oxidació/reducció emprant oxigen molecular (O_2) com acceptor d'electrons, de manera que l'oxigen es redueix a aigua (H_2O) o peròxid d'hidrogen (H_2O_2). (Veure reacció al glossari de l'annex 1).

¹⁷Sal de l'àcid nítric, amb un ió compost per un àtom de nitrogen i tres d'oxigen (NO_3^-).

¹⁸Ió de la sal de l'àcid nítric, compost per un àtom de nitrogen i dos d'oxigen (NO_2^-).



1.8 MICROCOCCUS LUTEUS

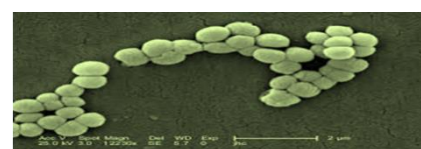
Micrococcus luteus és un bacteri amb les següents característiques principals:

- Caràcter no patogen, majoritàriament.
- 0'5 µm de diàmetre.
- Bacil grampositiu amb la paret bacteriana gruixuda i rígida.

A més, és un microorganisme sapròfit, per la qual cosa obté els nutrients absorbint els components orgànics solubles de la matèria orgànica no viva. En quant al medi en el que es troba, poden viure tant al sòl, com a la pols, l'aigua (amb poca o gran quantitat de sal), l'aire i com a part de la flora que es troba a la pell dels mamífers, a més de colonitzar el revestiment de la boca, les mucoses nasals, l'orofaringe i el tracte respiratori superior, entre d'altres parts dels humans.

Un aspecte important a destacar és que *M. luteus* es podria considerar com a un cert patogen oportunista, ja que és perillós en persones immunodeficients, com els malalts de VIH, en les quals el sistema immunitari és incapaç de desenvolupar una resposta immunològica davant un antigen estrany i com que l'organisme es troba vulnerable, poden arribar a patir infeccions greus.

MICROCOCCUS LUTEUS



CLASSIFICACIÓ CIENTÍFICA

Regne	Eubacteria
Fílum	Actinobacteria
Ordre	Actinomycetales
Família	Micrococcaceae
Gènere	<i>Micrococcus</i>
Espècie	<i>Micrococcus luteus</i>

Taula 3: Classificació taxonòmica de *M.luteus*



2. ANTIBIÒTICS

2.1 QUÈ SÓN ELS ANTIBIÒTICS?

Un antibiòtic és una substància química o natural que es comporta com un agent antimicrobià, tot eliminant o inhibint el creixement de bacteris, de manera que pot prevenir o curar malalties. Destaquen per un alt pes molecular, a més de conèixer-se més de 5000 antibiòtics.



Figura 8: Antibiòtic

Aquestes substàncies són necessàries quan una persona no pot controlar l'antibiosi per si sola, és a dir, quan les pròpies defenses immunitàries com els leucòcits¹⁹, no són capaces d'atacar, afectar i oposar-se a la vida dels microorganismes infecciosos, tot eliminant els efectes que provoquen aquests últims.

2.2 TIPUS D'ANTIBIÒTICS

En quant als tipus d'antibiòtics, en trobem tres:

- **Antibiòtics naturals:** plantes o animals eficaços en la medicina alternativa, ja que actuen com un antibiòtic. Tenim com a exemple el Pròpolis, a partir del qual realitzem l'experimentació del treball; o el Gíngebre. Aquest últim afecta al bacteri *Escherichia Coli*, provocador de gastroenteritis.



Figura 9: Gíngebre



Figura 10: Pròpolis

¹⁹ Conjunt de cèl·lules sanguínies que s'encarreguen de la resposta immunitària, encarregades de defensar l'organisme contra substàncies estranyes o agents infecciosos (antígens).



- **Antibiòtics biològics:** antibiòtics obtinguts a partir del cultiu d'un microorganisme. Conformen el 90% de tot els antibiòtics, els quals són produïts per bacteris o fongs que produeixen la substància i després l'envien fora de la cèl·lula.
- **Antibiòtics sintètics:** antibiòtics sintetitzats al laboratori, tot fabricant molècules amb el propòsit que tinguin un efecte semblant a les biològiques, i que per tant actuïn destruint o inhibint el creixement de determinats bacteris. És un exemple l'Amoxicil·lina, sobre la qual realitzem l'experimentació del treball.

2.3 EFECTE DELS ANTIÒTICS SOBRE BACTERIS

Els antibiòtics també estan classificats segons el mecanisme d'acció que tenen, és a dir segons la manera d'actuar enfront els bacteris. Així, trobem:

- **Antibiòtics que afecten la paret cel·lular:** s'encarreguen de que la paret cel·lular d'un bacteri es construeixi dèbil, impedit la síntesi de tots aquells elements que la componen, de manera que s'acaba degradant fins que el microorganisme mor. Són exemples les penicil·lines com l'amoxicil·lina.
- **Antibiòtics que afecten la membrana cel·lular:** s'encarreguen de mantenir obertes les proteïnes que componen la membrana, un cop les ha bloquejat. Per tant, perden la seva funció i les cèl·lules moren al no poder realitzar un procés metabòlic necessari, per l'absència d'aquestes proteïnes. Els sulfonamides són un grup d'antibiòtics d'aquest tipus.
- **Antibiòtics que intervenen en la fabricació o síntesi de proteïnes:** Afecten al procés vital de la traducció²⁰, tot impedit que es llegeixen bé els aminoàcids a l'hora de sintetitzar una proteïna. La tetraciclina, un antibiòtic del grup dels tetraciclins, és un exemple.
- **Antibiòtics que afecten la síntesi i estructura dels àcids nucleics:** Intervenen en el procés de replicació d'informació genètica, és a dir, de l'ADN, inhibint la còpia idèntica d'ell mateix. El norfloxacinó és un antibiòtic d'aquest tipus.

²⁰ Veure glossari a l'annex 1



2.4 RESISTÈNCIA ALS ANTIBIÒTICS

Molts bacteris, a través de mutacions i altres mecanismes, adquireixen resistència als antibiòtics, alhora que fan dificultosa l'eliminació de les infeccions. És per aquests motius que els metges recomanen no fer un mal ús dels antibiòtics. Ja hi ha estudis (investigats per Esther Calbo de l'Hospital Universitari Mútua Terrassa) que estadísticament mostren com al 2008 van morir al voltant de 25.000 persones a causa d'infeccions provocades per bacteris resistents. A més, es creu que d'aquí uns 5 anys molts antibiòtics deixaran de ser eficaços per a certes malalties, tot provocant la mort de milers de persones. A la part experimental he tractat l'ús que es fa dels antibiòtics a la població del meu municipi²¹.

2.5 AMOXICIL·LINA

L'amoxicil·lina és un antibiòtic que s'encarrega d'impedir el creixement de la paret bacteriana, per tal d'inhibir la reproducció d'un microorganisme. Es tracta d'una penicil·lina semisintètica, primer antibiòtic descobert per l'home en 1928 gràcies a Alexander Fleming²², d'origen natural i sintetitzat per un fong del tipus de les floridures, que actua contra una gran diversitat de bacteris, com: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemoliticus*, *Strep. viridans*, *Strep. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Neis. gonorrhoeae*, *Escherichia coli*. Tots aquests últims són bacteris responsables de les infeccions de l'aparell respiratori, l'aparell urogenital, l'aparell digestiu, del coll i l'oïda (oto-rino-laringologia), de les dents, dels queixals i les genives (odontologia), la pell (cirurgia i dermatologia).

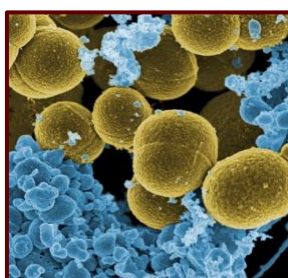


Figura 11: *Staphylococcus aureus*



Figura 12: *Neisseria meningitidis*



Figura 13: *E.coli*

²¹ Veure resultats de l'experiència 3

²² Veure el glossari a l'annex 1



S'administra per via oral i un cop a l'estómac és eficaç tot i haver pres aliments anterior o posteriorment, difonent-se a través de la sang fins arribar a qualsevol focus infecciós. Després d'actuar, queda eliminada fàcilment, ja sigui via renal o mitjançant la bilis. Cal dir que, encara que no succeeixi la majoria de vegades, hi ha un petit percentatge possible de sentir la sensació de pesantor en l'estómac i posteriors marejos, a més de vòmits i diarrees.



3. BIOCIDES

Un biocida és una substància activa que presenta la capacitat d'aniquilar o inhibir la vida dels microorganismes com els bacteris, és a dir, de matar-los. Els biocides tenen múltiples utilitats: els podem trobar com a desinfectants, formant part de productes com el lleixiu, i també com a conservants de productes manufacturats (aliments). Cal destacar l'ús en les instal·lacions sanitàries, als béns de consum, a la ramaderia i a les plantes de tractament de les aigües.

El seu mètode d'acció es caracteritza per penetrar-se dins els microorganismes tot impedit que realitzin les seves funcions vitals. Són necessaris, per tant, per al control dels organismes perjudicials per la salut humana i per la dels animals.

Respecte a l'efecte dels biocides, a alguns bacteris no els afecten aquests agents antimicrobians naturalment, mentre que uns altres poden desenvolupar resistència a segons quins biocides en funció del temps, fins el punt en que poden sobreviure a concentracions de biocides que aniquilarien la majoria de bacteris de la mateixa espècie. A més, en certs casos, la resistència als biocides pot desenvolupar resistència als antibiòtics. A diferència d'aquests últims, l'ús dels biocides pot realitzar-se sense cap mena de control. És important saber que l'ús generalitzat de biocides en molts productes diferents i en grans quantitats podria contribuir a que els bacteris esdevinguessin resistents tant als biocides com als antibiòtics.

3.1 TRICLOSAN

El triclosan és un biocida molt utilitzat en les quatre últimes dècades. En altes concentracions és realment eficaç per aniquilar un gran nombre de microorganismes diferents, incloent els bacteris. D'altra banda, en baixes concentracions inhibeix el creixement.

En quant els diferents usos del triclosan, el podem trobar en una alta gamma de productes. Destaca la gran importància que té actuant com a conservant en els **cosmètics**; en les **instal·lacions sanitàries**, tot actuant com a desinfectant i antisèptic per controlar i prevenir infeccions; en **productes per a la llar**, com sabons i detergents; i, per últim, és utilitzat també en la **higiene veterinària**.



Cal dir que el triclosan no pot utilitzar-se en aliments o tot aquell material que es trobi en contacte amb ells, ja que podríem intoxicar-nos.

3.2 ALCOHOL

L'alcohol és un biocida utilitzat, en la majoria dels casos, per a la higiene humana, ja que actua com a antisèptic. La desinfecció per mètodes químics és de fonamental importància, en els processos relacionats amb la prevenció, el control i l'eradicació dels microorganismes patògens causants d'infeccions hospitalàries. Entre els nombrosos desinfectants i antisèptics que s'utilitzen en aquests àmbits, es troba l'alcohol etílic, l'efectivitat del qual depèn de les característiques de cada microorganisme i de la càrrega microbiana, així com també de l'entorn.

Estudis realitzats al *Centro de Información Biomedica del Chaco* afirmen l'actuació de l'alcohol com a agent antimicrobià.



4. ANTIBIÒTICS NATURALS

Els antibiòtics naturals són agents antimicrobians procedents del món vegetal, capaços d'inhibir o aniquilar el creixement de microorganismes, amb la consegüent cura o prevenció de moltes malalties.

Presenten les següents diferències en front els antibiòtics sintètics:

- No esdevenen efectes secundaris: reaccions al·lèrgiques (en general), sensibilitat a l'estómac, etc.
- Una acumulació dels antibiòtics naturals no resulta perillosa si la comparem amb la dels antibiòtics sintètics.
- No perjudiquen els microorganismes beneficiosos per a l'organisme, com els de la flora intestinal.
- En l'àmbit econòmic, són més barats i més fàcils d'aconseguir.

4.1 PRÒPOLIS

Des del segle XIX fins el descobriment de la penicil·lina, el pròpolis ha estat utilitzat com a antibiòtic per curar les ferides de guerra, per exemple, juntament amb la mel, de manera que cicatritzaven molt millor i no s'infectaven. Posteriorment al gran descobriment d'Alexander Fleming, diversos estudis van afirmar que el pròpolis constituïa un remei eficaç contra bacteris i fongs, gràcies a les seves propietats bactericides i bacteriostàtiques²³.

Té propietats que el permeten regenerar teixits afectats; i altres analgèsiques, les quals proporcionen la capacitat de calmar el dolor.

4.1.1 APLICACIONS DEL PRÒPOLIS

Entre els **usos externs** del pròpolis podem destacar:

- **Malalties de la pell:** serveix per curar diverses anomalies de la pell, com són per exemple l'acne, la dermatitis, les berrugues i les cremades.

²³ Propietats que permeten inhibir el creixement bacterià, és a dir, aturar-lo.



- **Malalties de la boca:** les seves propietats antibacterianes li permeten la capacitat de combatre malalties bucals produïdes per microorganismes, com les úlceres bucals, la gingivitis, la periodontitis i les càries.
- **Infeccions de la vagina:** la majoria dels microorganismes que es troben a la vagina i la part externa dels genitals no són perjudicials, però quan s'alteren les condicions normals de la flora vaginal els microorganismes que es troben allà poden causar infeccions.

Entre els **usos interns** del pròpolis podem destacar:

- **Malalties respiratòries:** el pròpolis resulta eficaç per diverses malalties respiratòries, tant víriques com bacterianes: laringitis, faringitis, bronquitis, refredat, entre d'altres.
- **Reductor del colesterol:** mitjançant diversos estudis s'ha afirmat que el gran contingut en resines del pròpolis pot reduir les grasses que es troben a l'intestí prim.
- **Infeccions urinàries:** algunes infeccions de l'aparell urinari com cistitis, nefritis, uretritis i prostatitis, poden ser curades mitjançant un bon ús del pròpolis.



5. ANTIBIOGRAMES

Un antibiograma és una prova microbiològica identificadora de la sensibilitat d'un bacteri enfront un o diversos antibiòtics. Ens proporciona, a més de la sensibilitat de la colònia bacteriana a un antibiòtic específic, la diferència en quant a l'efecte que els diferents antibiòtics causen a la colònia.

Així, segons l'efecte que un antibiòtic causa sobre una determinada colònia, podem classificar els bacteris de la següent manera:

- **Sensibles:** l'antibiòtic és efectiu sobre el bacteri, és a dir, inhibeix el seu creixement.
- **Intermedis:** l'antibiòtic és efectiu però és probable que la infecció es torni a produir ja que no els elimina a tots, dependrà de la capacitat que tingui el bacteri per combatre l'antibiòtic.
- **Resistents:** l'antibiòtic no li afecta, no li prohibeix el creixement. Per tant s'haurà de buscar un altre tipus d'antibiòtic per acabar amb la infecció.

Al glossari de l'annex 1 podem veure la taula de classificació dels antibiòtics.



6. DISSENY EXPERIMENTAL

En el següent apartat, s'explicaran i es mostraran les proves microbiològiques realitzades per refutar o acceptar les hipòtesis plantejades a la introducció. Durant l'experimentació s'identificaran, gràcies als antibiogrames, quins antibiòtics afecten a les diferents soques bacterianes (*M.luteus* i *E.coli*) i a quin nivell ho fan. Seguidament, determinarem quines soques són resistents a l'amoxicil·lina, triclosan, alcohol o, pròpolis; o a més d'un d'aquests agents antimicrobians.

✓ Problema:

Presenta el pròpolis la mateixa eficàcia que alguns antibiòtics sintètics i bactericides? I, com varia l'eficàcia dels antibiòtics estudiats enfront del tipus de bacteri? A més, són *E.coli* i *M.luteus* resistents als antibiòtics i als agents biocides estudiats? Per últim, es fa un ús correcte dels antibiòtics?

✓ Objectius:

1. Comparar el grau de sensibilitat de dos bacteris enfront un antibiòtic natural, un de sintètic i dos biocides mitjançant l'anàlisi anomenat antibiograma, per conèixer l'eficàcia del triclosan, l'amoxicil·lina i el pròpolis, enfront dels bacteris *M.luteus* i *E.coli*.
2. Comprovar l'existència de soques d'*E.coli* i *M.luteus* resistents a determinats antibiòtics o a d'altres compostos antimicrobians com el triclosan.

✓ Hipòtesi de l'objectiu 1:

- Potser el pròpolis és igual o més eficaç enfront els bacteris *M.luteus* i *E.coli* que l'amoxicil·lina i el triclosan.
- Potser el pròpolis és menys eficaç enfront els bacteris *M.luteus* i *E.coli* que l'amoxicil·lina i el triclosan.
- Potser el pròpolis no és eficaç enfront els bacteris *M.luteus* i *E.coli*.

✓ Hipòtesi de l'objectiu 2:

- Potser *E.coli* i *M.luteus* adquireixen resistència als antibiòtics i altres substàncies com l'alcohol i el pròpolis.

✓ Material i equipament:

- Cultius mare de les següents soques bacterianes:
 - *Escherichia coli*



- *Micrococcus luteus*
- Triclosan en pols (99%)
- Amoxicil·lina en pols
- Aigua destil·lada
- Alcohol
- Una estufa de cultius accessible als 35-37°C de temperatura



Figura x: Material necessari per a l'execució del treball

- Plaques de Petri amb agar.
- Tubs d'assaig amb rosca.
- Una gradeta per als tubs i safates per a les plaques de Petri
- Un pot, amb tapa de rosca, amb bastonets de cotó esterilitzats.
- Pincers
- Etiquetes amb el nom de cada un dels compostos que es faran servir:

- Aigua
- Alcohol
- Triclosan
- Amoxicil·lina
- Pròpolis



Figura x: Material necessari per a l'execució del treball

- Paper de filtre.
- Pots per recollir tot el material utilitzat, el qual s'ha d'esterilitzar abans de ser eliminat.
- Lleixiu.



✓ **Mètode**

Preparacions prèvies a l'experiment

- **Dissolucions necessàries:**

- Aigua destil·lada.
- Alcohol en concentració 17,5 % amb aigua destil·lada.
- Triclosan [500µg/l] dissolt amb 17,5% d'alcohol i 82,5% d'aigua destil·lada.
- Amoxicil·lina dissolta amb 17,5% d'alcohol i 82,5% d'aigua destil·lada.

6.1 EXECUCIÓ DE L'EXPERIÈNCIA

6.1.1 EXPERIÈNCIA 1

L'experiència 1 consta de 4 passos que es repetiran 3 vegades aproximadament i que es redacten a continuació:

1. Transferim els bacteris (1ml) des de la suspensió dels respectius cultius mare, a 12 plaques de Petri (6 de *M.luteus* i 6 de *E.coli*) amb agar, amb l'ajut d'una pipeta graduada d'1ml.



Figura 14: Prenem les mostres d'1ml d'*E.coli* i *M.luteus* amb una pipeta graduada

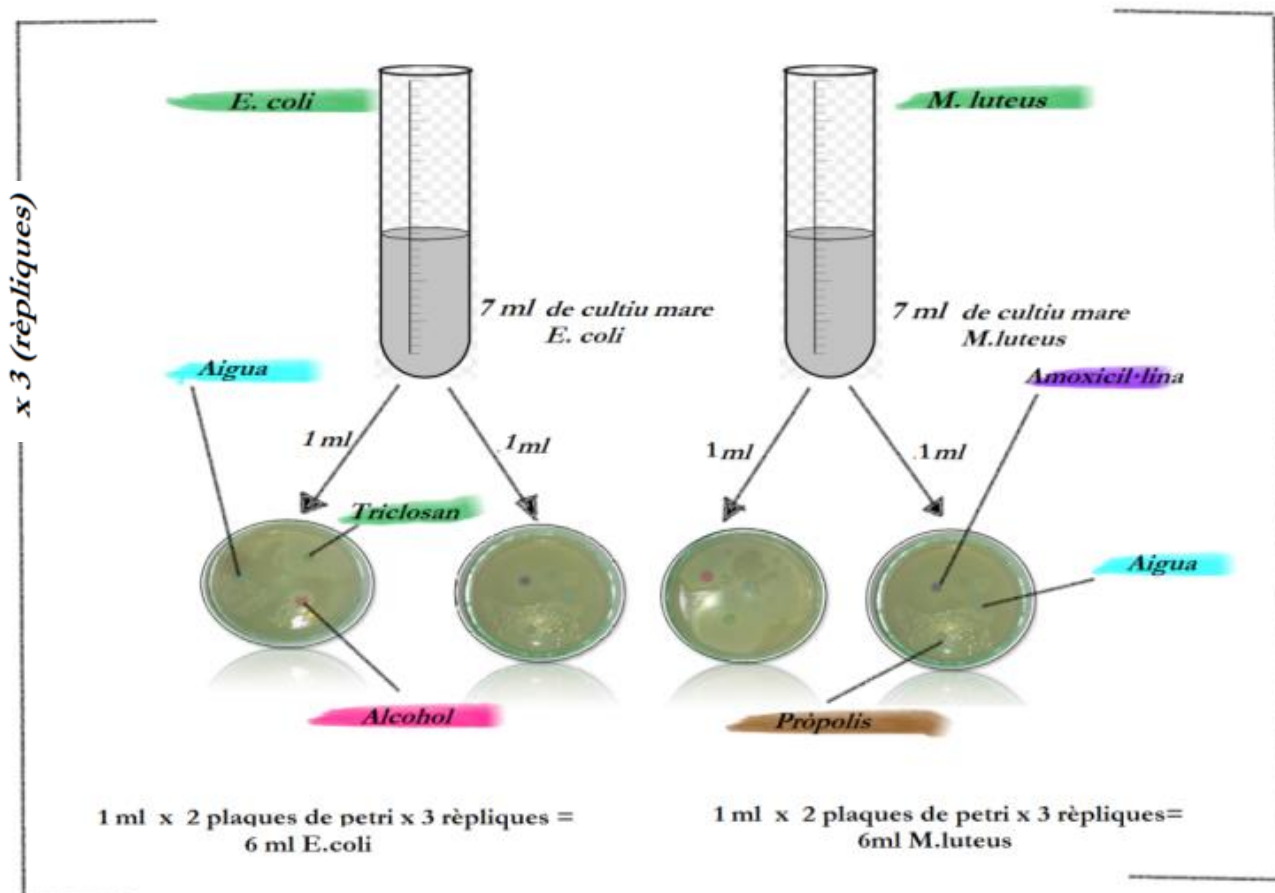


Figura 15: Transferim les mostres a les plaques de Petri

2. Mullem els papers de filtres amb els respectius productes a testar i, amb les pinces corresponents, col·loquem els discs difusors a les plaques d'*E. coli* i de *M. luteus*. Utilitzem dues plaques per cada bacteri, de manera que en una d'elles col·loquem Amoxicil·lina, Pròpolis i Aigua; i a l'altra Triclosan, Alcohol i Aigua. El tractament amb aigua destil·lada ens servirà de control negatiu, és a dir, l'aigua no haurà de tenir cap efecte inhibitor sobre el creixement dels bacteris, mentre que el tractament amb antibiòtics, serà el control positiu. Per últim, realitzem 3 rèpliques de cadascuna de les sèmbrs, per millorar i ampliar el control. Així, haurem de tenir



12 plaques, 6 de les quals seran d'*E.coli* i les altres de *M.luteus*, tal i com es pot observar al gràfic següent:



Esquema 1: Esquema de l'execució de l'experiència 1

3. Incubar durant 24 h a l'estufa de cultius i a una temperatura de 37° C.



Figura 16: Estufa de cultius



Figura 17: Temperatura de l'estufa de cultius a 37°C



- Mesurar l'amplada o el radi de la zona d'inhibició del creixement bacterià amb l'ajut d'un regle mil·limetrat i fer una observació dels bacteris resistents. S'ha de mesurar exactament la distància des del límit del disc de paper de filtre fins al límit interior del cultiu bacterià, tal i com podem veure a les fotografies següents:

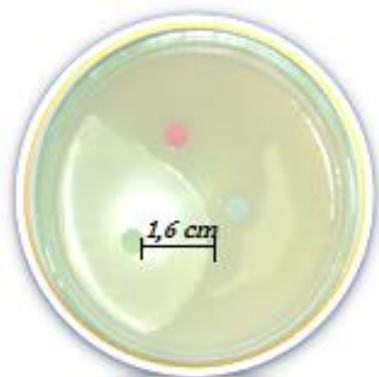


Figura 18: Representació gràfica de la mesura de la zona d'inhibició

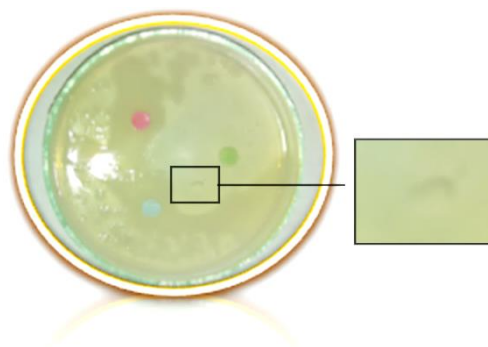
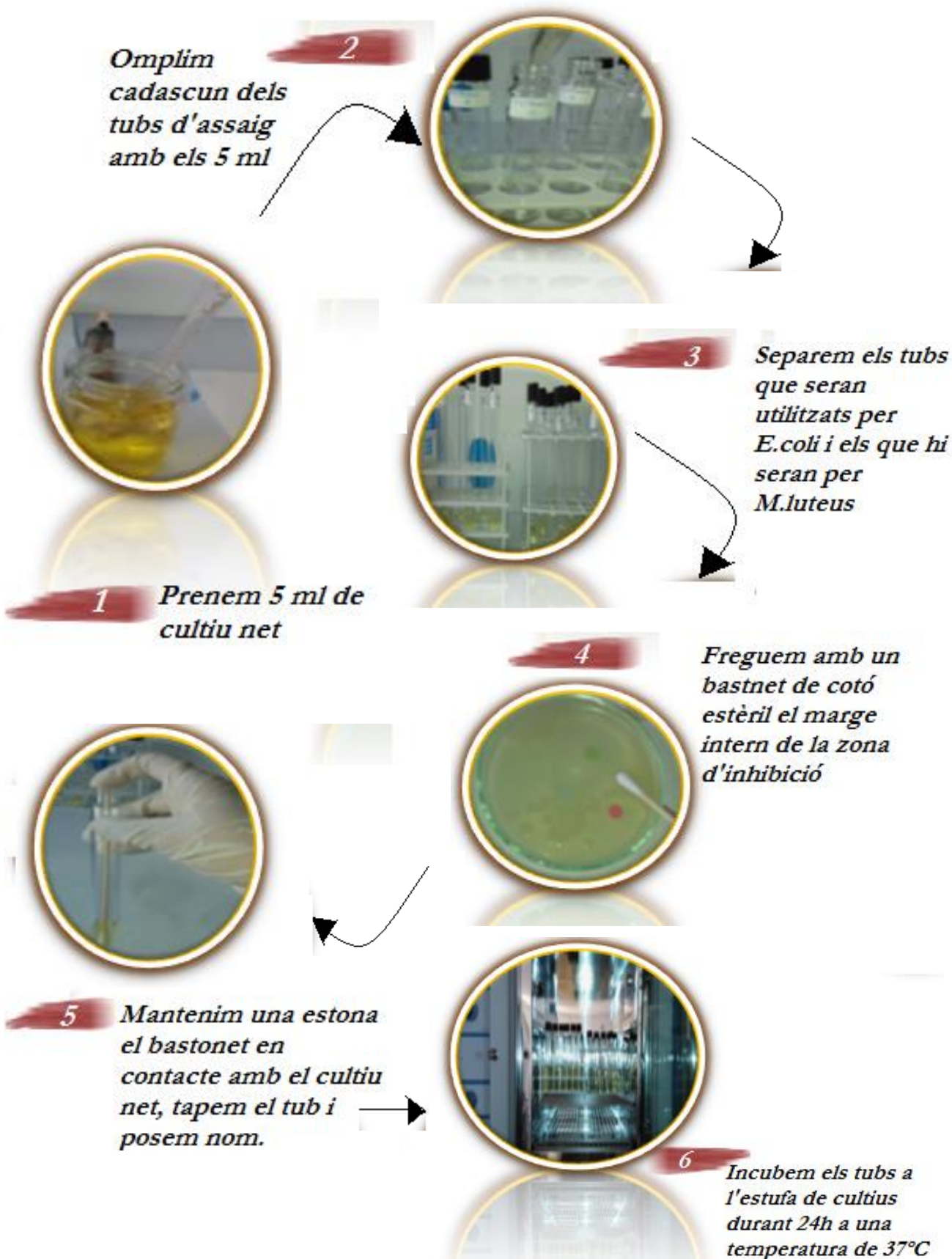


Figura 19: Observació ampliada d'una UCF d'*E. Coli* resistent al Triclosan

6.1.2 EXPERIÈNCIA 2

- Prenem mostres de 5 ml de cultiu net.
- En segon lloc, col·loquem les mostres en tants tubs d'assaig com plaques hàgim observat que continguin colònies de bacteris resistents.
- Després, separem els tubs segons siguin bacteris procedents d'*E.coli* o de *M.luteus*.
- Seguidament, isolem de cada una de les 12 plaques, els bacteris més resistents per cada un dels tractaments, és a dir, aquells que es troben al marge intern, els més propers a la zona d'inhibició, els de la zona adjacent al paper de filtre o, si es dóna el cas, les colònies que s'observen a la zona d'inhibició; tot refregant un bastonet de cotó estèril.
- Transferim les colònies als tubs d'assaigs corresponents, que contenen els 5 ml de líquid de cultiu net.
- A continuació, incubem durant 24h els tubs d'assaig juntament amb els bacteris resistents, de manera que tindrà lloc la multiplicació dels bacteris seleccionats a cada un dels tractaments.

A continuació, podem observar el següent esquema:



Esquema 2: Seqüència del procediment seguit a l'experiència 2



7. Tornem a fer la sembra en noves plaques amb una pipeta d'1 ml, però aquesta vegada només utilitzarem les plaques per a un sol producte, al qual s'ha mostrat resistent el bacteri. Finalment, incubem les plaques durant 24h, observem els resultats i determinem el grau de resistència.

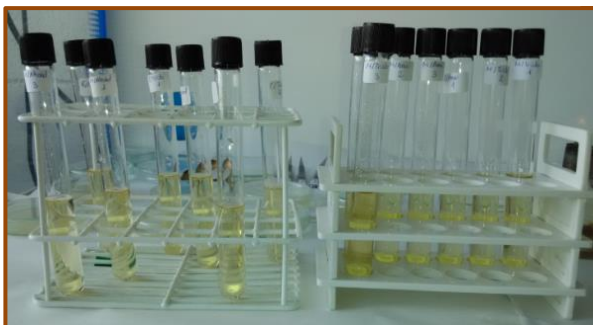


Figura 21: Tubs d'assaigs amb el cultiu net i els bacteris resistents, extrets de l'estufa de cultius després de la incubació 24h.

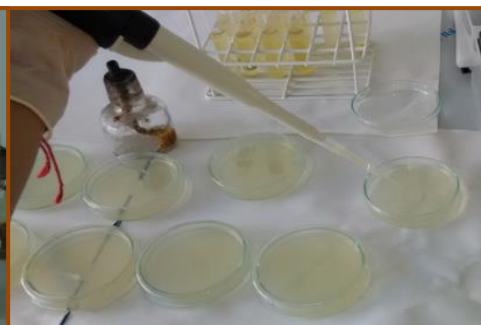


Figura 22: Resembra de bacteris resistents.



Figura 23: Omplim les plaques amb les respectives substàncies antimicrobianes.

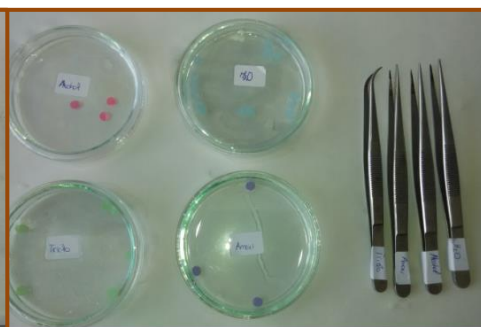


Figura 24: mullem els discs difusors de paper en les respectives solucions



Figura 25: Realitzem una nova sembra dels bacteris resistents al triclosan.

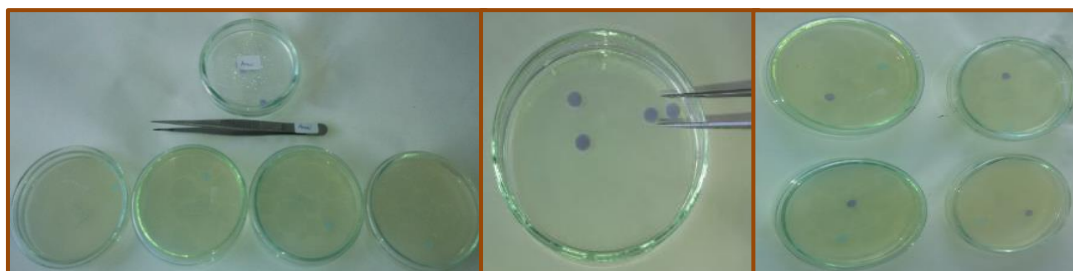


Figura 26: Realitzem una nova sembra dels bacteris resistents a l'amoxicil·lina.

8. Repetir



6.2 RESULTATS

Després d'haver realitzat pas per pas cadascun dels passos dictats anteriorment i un cop trets els antibiogrames de l'estufa, s'ha observat el creixement de diferents colònies bacterianes al voltant dels discs difusors, tot formant-se una mena de calba. Cal dir que, en altres plaques de petri no s'ha pogut mesurar cap zona d'inhibició. A més, el creixement bacterià en les rèpliques ha estat bastant similar en la majoria dels casos. A continuació, es mostraran les mesures del radi d'inhibició que proporciona cada disc difusor, juntament amb les 3 rèpliques corresponents a cada agent antimicrobià, les fotografies, les taules i els gràfics resultants:

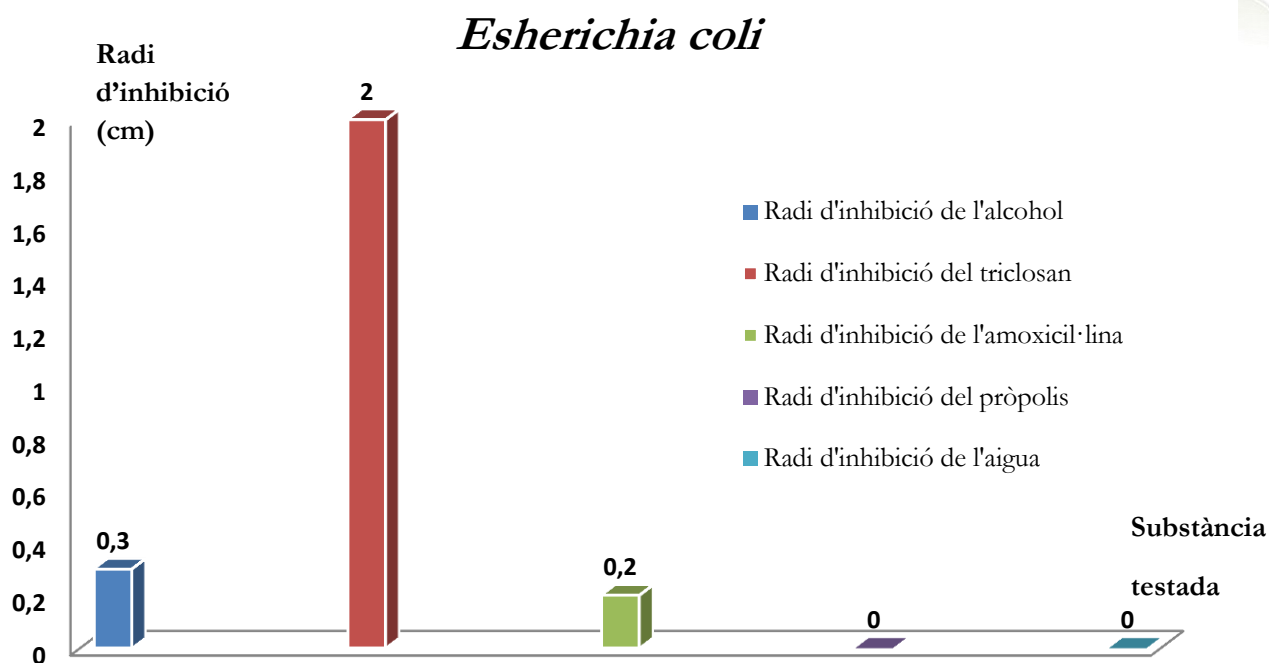
6.2.1 RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 1

	<i>Escherichia coli</i>			<i>Micrococcus luteus</i>		
	SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3
H₂O	+	+	+	+	+	+
Alcohol	+	-	-	-	-	-
Triclosan	-	-	-	-	-	-
Amoxicil·lina	-	+	+	-	-	-
Pròpolis	+	+	+	+	+	+

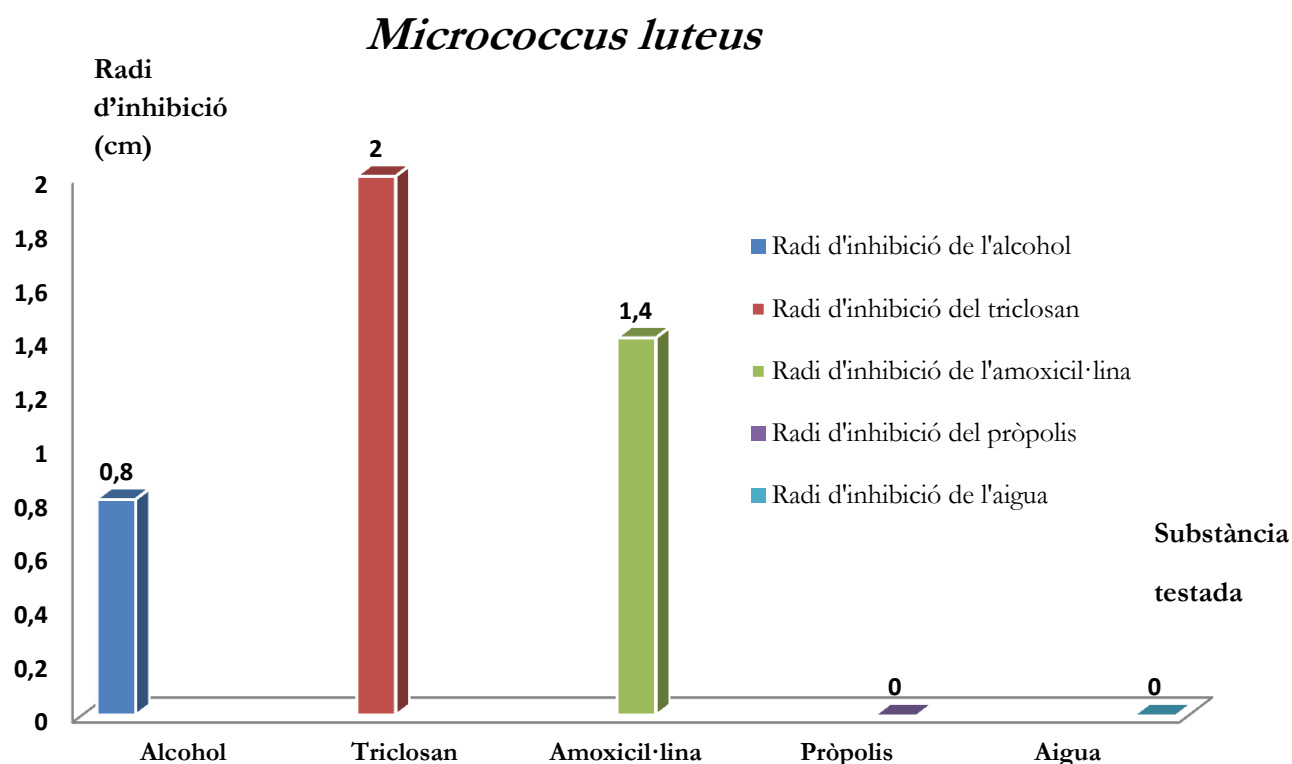
Taula 4: El signe + indica que hi ha hagut creixement bacterià al voltant del disc difusor d'un producte determinat, mentre que el signe - indica que ha aparegut un alo d'inhibició de creixement bacterià.

	<i>Escherichia coli</i>				<i>Micrococcus luteus</i>			
	SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	MITJANA ARITMÈTICA	SEMBRA1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	MITJANA ARITMÈTICA
H₂O	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm
Alcohol	0 cm	0,4 cm	0,5 cm	0,3 cm	1,2 cm	0 cm	1,2 cm	0,8 cm
Triclosan	2 cm	2,2 cm	1,8 cm	2 cm	2,5 cm	1,6 cm	2 cm	2 cm
Amoxicil·lina	0,6 cm	0 cm	0 cm	0,2 cm	0,4 cm	2,1 cm	1,7 cm	1,4 cm
Pròpolis	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm

Taula 5: Mesures del radi d'inhibició format pels agents antimicrobians corresponents a cada rèplica; i de la mitjana aritmètica respectiva.



Gràfic 3: representació de les mitjanes aritmètiques dels radis d'inhibició que proporciona cada agent antimicrobià a *E. coli*



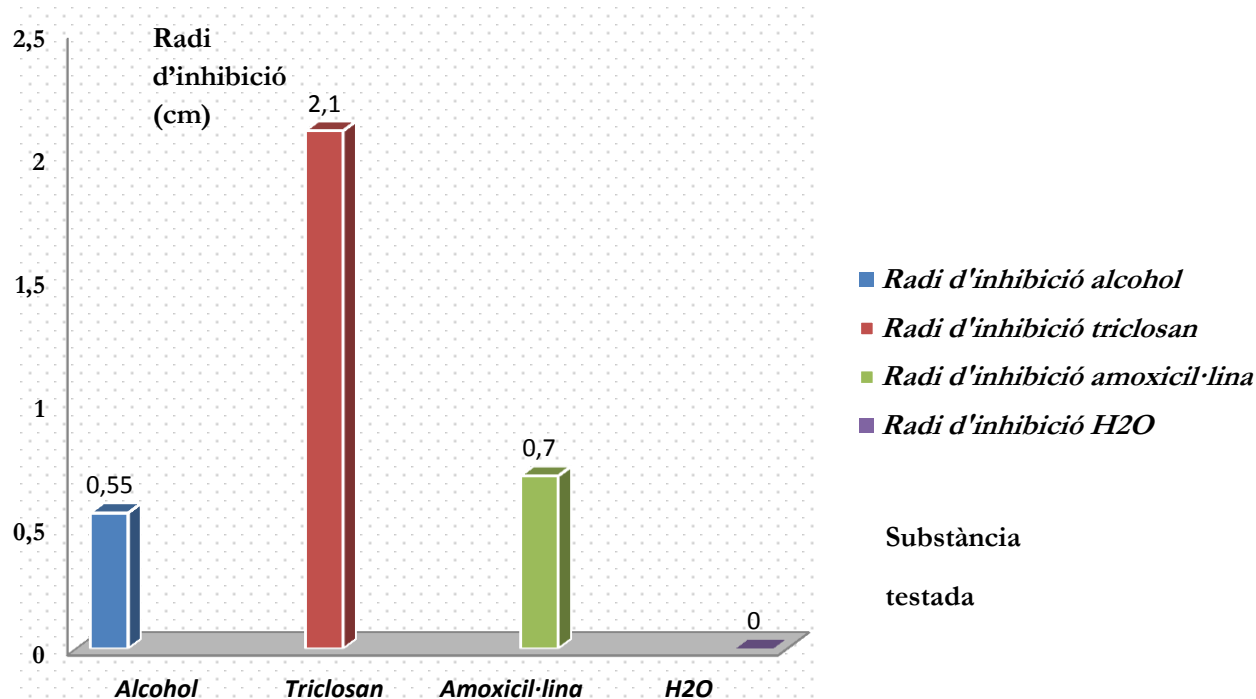
Gràfic 4: representació de les mitjanes aritmètiques dels radis d'inhibició que proporciona cada agent antimicrobià a *M. luteus*



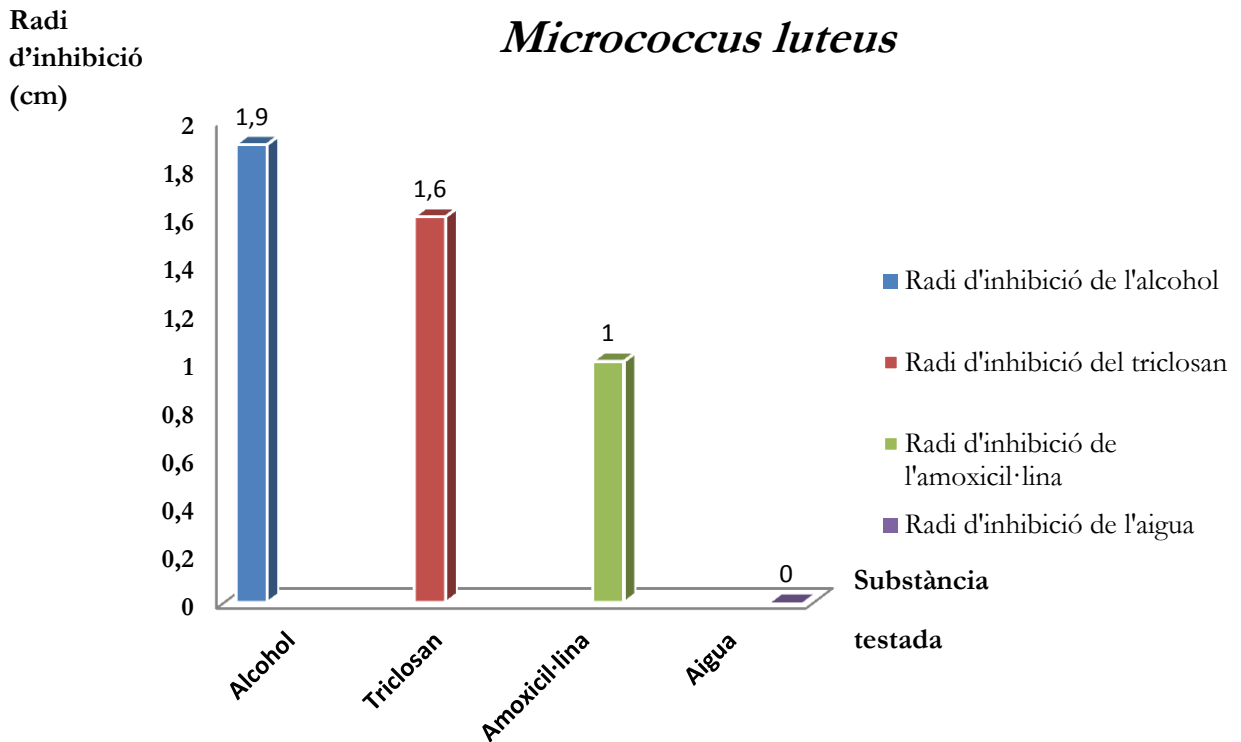
6.2.2 RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 2

	<i>E. Coli</i>			<i>M. luteus</i>			<i>E. Coli</i>	<i>M. luteus</i>
Colònies resistents procedents de:								
Alcohol	SEMBRA 2		SEMBRA 3	SEMBRA 1		SEMBRA 3	MITJANA ARITMÈTICA	
	0,5 cm		0,6 cm	1,4 cm		2,4 cm	0,55 cm	1,9 cm
Triclosan	SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	2,1 m	1,6 cm
	2 cm	1,8 cm	2,5 cm	2,6 cm	0,5 cm	1,6 cm		
Amoxicil·lina	SEMBRA 1			SEMBRA 1	SEMBRA 2	SEMBRA 3	0,7 cm	1 cm
	0,7 cm			1,7 cm	0,7 cm	0,6 cm		
H ₂ O	Es realitza un control amb aigua en totes les plaques i el resultat és de 0 cm de creixement de l'halo d'inhibició						0 cm	0 cm

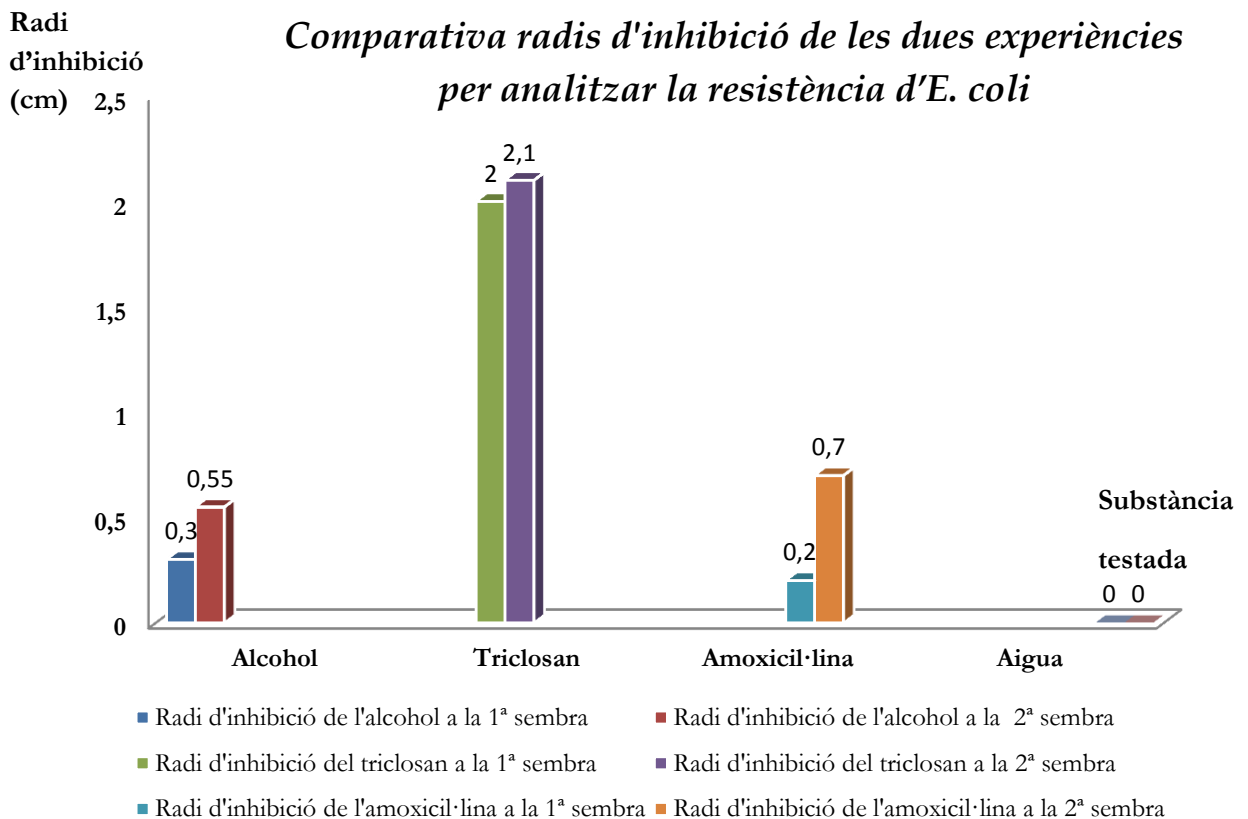
Taula 6: Mesures del radi d'inhibició format pels agents antimicrobians corresponents a cada rèplica; i de la mitjana aritmètica respectiva.

Escherichia coli

Gràfic 3: representació de les mitjanes aritmètiques dels radis d'inhibició que proporciona cada agent antimicrobià a les colònies d'*E. coli* que han mostrat resistència a l'experiència nº 1.



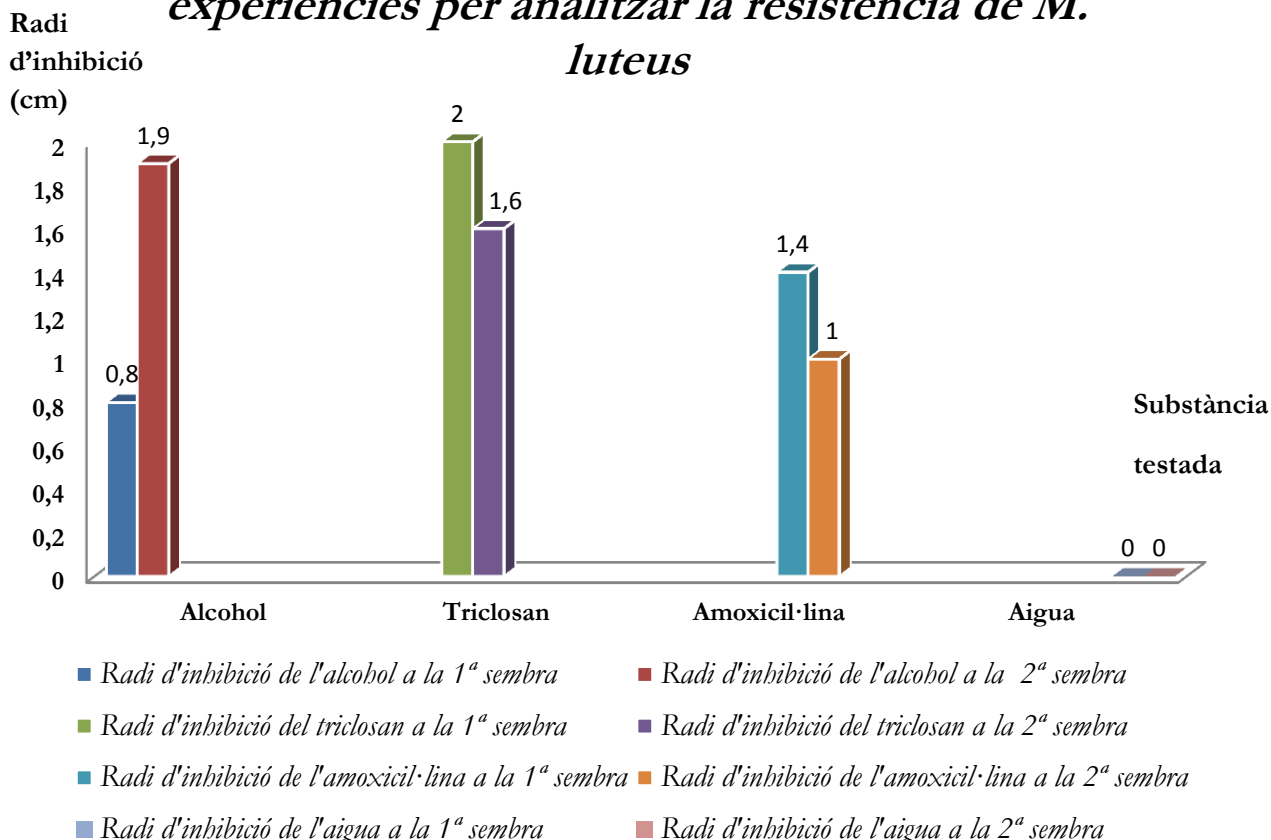
Gràfic 4: representació de les mitjanes aritmètiques dels radis d'inhibició que proporciona cada agent antimicrobià a les colònies de *M. luteus* que han presentat resistència a l'experiència nº 1.



Gràfic 5: representació de la comparació entre les mides del radi d'inhibició d'abans i després de la resembra, en les mateixes condicions



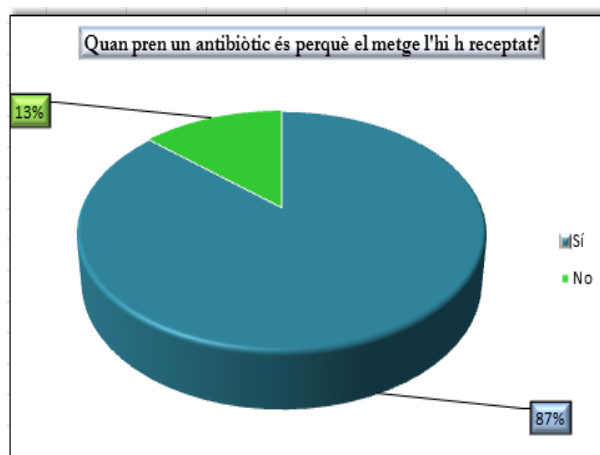
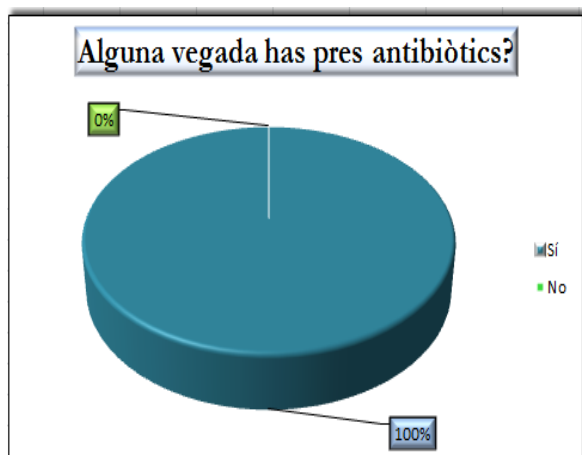
Comparativa radis d'inhibició de les dues experiències per analitzar la resistència de *M. luteus*

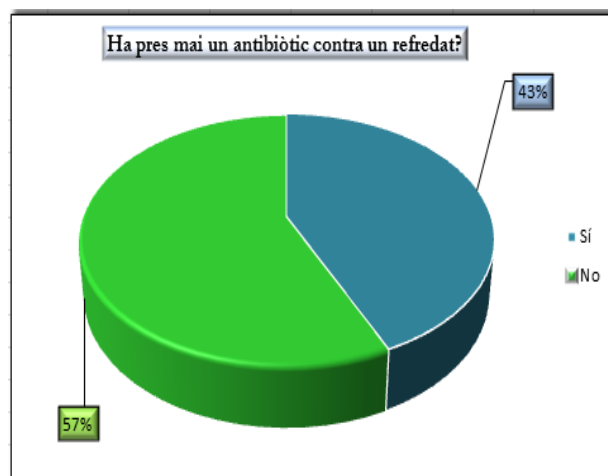
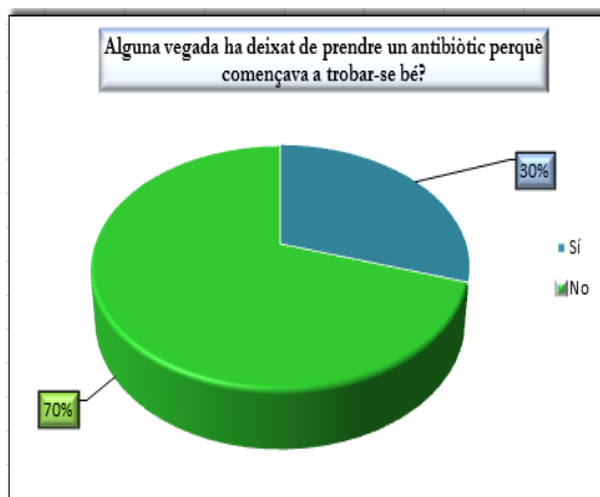
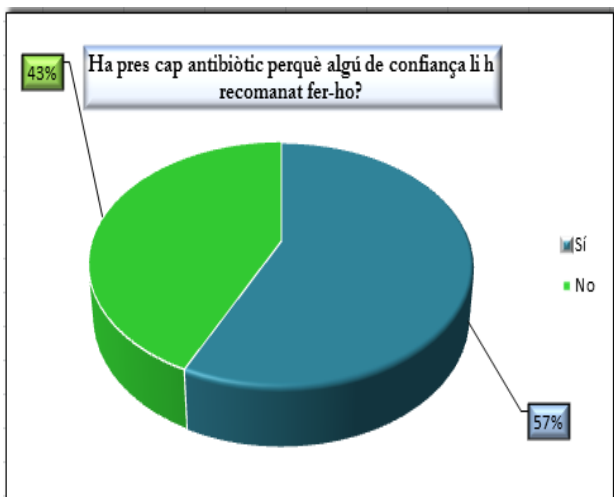
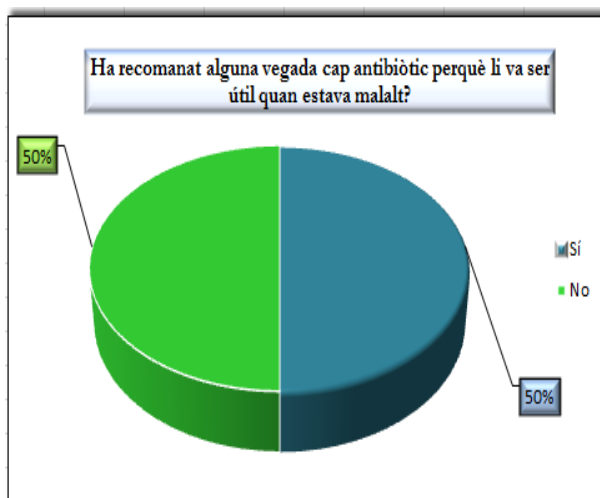
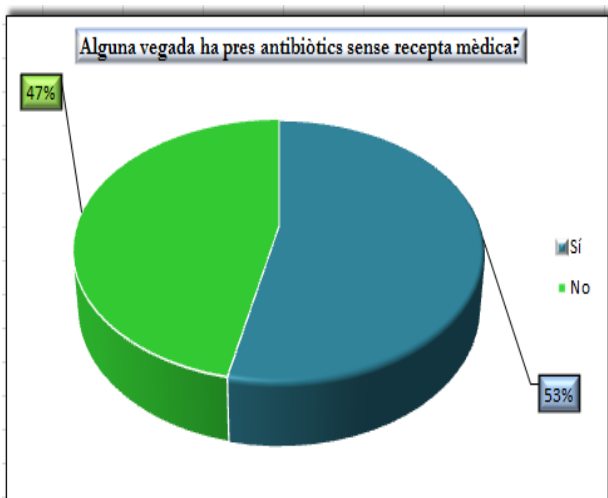


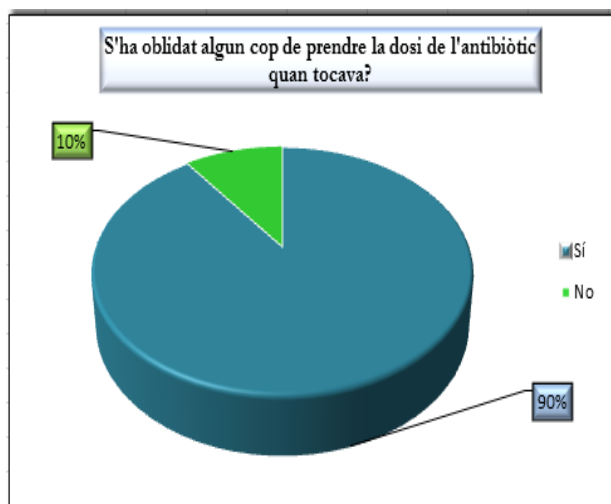
Gràfic 6: representació de les mitjanes aritmètiques dels radis d'inhibició d'abans i després de la resembra, en les mateixes condicions

6.2.3 RESULTATS DE L'EXPERIÈNCIA 3

Per conèixer la informació que té la població del meu municipi sobre els antibiòtics i els seus tractaments, van ser enquestades 60 persones (37 homes i 23 dones) d'entre 16 i 78 anys, els resultats de les quals són els següents:







6.3 CONCLUSIONS DE L'EXPERIMENT

6.3.1 CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 1

Arran els resultats obtinguts, puc dir que els antibiogrames ha estat la prova microbiològica clau per acceptar o refutar les meves hipòtesis redactades. Després de realitzar l'experiència 1, corroborarem i afirmem la tercera hipòtesi:

Potser el pròpolis no és eficaç enfront els bacteris *M.luteus* i *E.coli*.

Els resultats demostren com l'antibiòtic natural utilitzat, el pròpolis, no és eficaç per inhibir o aturar el creixement d'*Escherichia coli*, ni el de *Micrococcus luteus*, ja que no ha format cap halo d'inhibició en cap de les sèmres, mentre que l'amoxicil·lina i els biocides com el triclosan i l'alcohol sí que ho són, tot i que ho fan amb diferent grau d'eficàcia. Les possibles causes davant aquest resultat poden ser les següents:

- Potser el mecanisme d'acció del pròpolis necessita d'altres substàncies per actuar com a agent antimicrobià.
- Potser el mecanisme d'acció del pròpolis no actua directament inhibint o destruint el creixement dels bacteris, sinó que es comporta activant el sistema immunològic per lluitar contra les infeccions.
- Potser hem utilitzat concentracions mínimes o inferiors o a la quantitat necessària del pròpolis perquè aquest actuï eficaçment com a agent antimicrobià.
- Potser el pròpolis no actua com a agent antimicrobià respecte les dues soques estudiades: *E.coli* i *M.luteus*. Mentre que per altres bacteris sí que podria tenir poder bactericida o bacteriostàtic.



A més, els resultats també corroboren com un mateix agent antimicrobià pot inhibir o aniquilar el creixement de diferents espècies bacterianes alhora, en aquest cas, el creixement d'*Escherichia coli* i *Micrococcus luteus*, com ha estat en la meva experiència amb el Triclosan, l'alcohol i l'Amoxicil·lina. Davant els resultats de les primeres sembres i comparant les mesures del radi d'inhibició format pels diferents agents antimicrobians en els antibiogrames realitzats, observem el següent:

- L'alcohol és més eficaç per inhibir el creixement de *M. luteus* que per fer-ho en *E. coli*.
- El triclosan és l'agent antimicrobià més eficaç per inhibir el creixement de les dues soques bacterianes, ja que en tots els antibiogrames realitzats amb les respectives rèpliques, ha format un halo d'inhibició més gran.
- L'amoxicil·lina és molt eficaç en el cas de *M.luteus*, però gairebé no ho és per *E. coli*, ja que només en una de les 3 rèpliques de les sembres amb *E.coli* ha actuat com a agent antimicrobià, formant un halo d'inhibició.

Podem afirmar doncs la gran eficàcia dels dos biocides estudiats: triclosan i alcohol, enfront *E.coli* i *M.luteus*, encara que, entre tots dos, cal destacar el poder antimicrobià del triclosan.

Per últim, atenent a la taula de classificació dels bacteris en funció de la seva sensibilitat (adjuntada a l'annex 3), podem ordenar els bacteris estudiats en sensibles, intermediaris o resistents segons la mida del radi d'inhibició. Afirmem doncs:

- *Escherichia coli* es mostra resistent a l'amoxicil·lina.
- *M.luteus* es mostra intermediària enfront l'amoxicil·lina.

En el cas del pròpolis, tot i no tenir dades de referència, és evident que totes dues soques bacterianes es mostren resistents en quant a tots els agents antimicrobians estudiats, ja que en ninguna de les sembres no hem pogut observar cap radi d'inhibició.

En quant als biocides estudiats, degut a la manca de dades referencials, no tenim cap evidència per afirmar o no la resistència dels bacteris *E.coli* i *M.luteus* en front el triclosan i l'alcohol, però sí que podem dir que el triclosan ha format a gran velocitat, els majors radis d'inhibició a les primeres sembres, tant en *E.coli* com en *M.luteus*, de manera que podríem fer una extrapolació dels valors emprats per classificar els antibiòtics (annex 3) i dir que són sensibles a aquest biocida, però no tenim dades per corroborar-ho.



6.2.3 CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 2

Arran els resultats obtingut a l'experiència, per tal d'entendre'ls inicialment hem de tenir en compte que es podrien haver donat els dos casos següents:

- **Les soques bacterianes no presenten resistència:** l'halo d'inhibició és més gran o igual que a la sembra de l'antibiograma de l'experiència 1.
- **Les soques bacterianes presenten resistència** L'halo d'inhibició és més petit que a la sembra de l'antibiograma de l'experiència 1.

Per tant, el creixement de l'halo d'inhibició és inversament proporcional al grau de resistència adquirit pel bacteri.

Després de fer la sembra de les colònies resistents d'*E. coli* amb l'antibiòtic sintètic i els biocides, observem que l'halo d'inhibició és més gran o igual que l'antibiograma de l'experiència 1. Després d'analitzar els resultats deduïm que:

- *E. coli* no ha presentat resistència a les substàncies antimicrobianes estudiades: triclosan, l'alcohol i l'amoxicil·lina.

Les possibles causes d'aquest resultat poden ser les següents:

- Potser a l'hora d'isolar les colònies que s'havien mostrat resistents, vaig agafar mostres que es trobaven just a la perifèria de la circumferència, les quals no es mostren resistents, sinó sensibles.
- Potser, com que vaig deixar les plaques que contenien la sembra dels bacteris resistents durant 78 hores a l'estufa de cultius, l'acció dels antibiòtics respecte la primera sembra, podria haver estat més elevada, degut a que es van incubar les plaques de petri a l'estufa el triple de temps que les plaques de l'experiència nº 1 (de la qual es van isolar les colònies resistents).
- Potser hauria d'haver fet més rèpliques.

En quant a la resembra de les colònies resistents de *M. luteus* a l'antibiòtic sintètic i als biocides, observem el següent:

- *M. luteus* no ha presentat resistència a l'alcohol, degut a que la mida de l'halo d'inhibició a la segona sembra ha estat molt més gran.
- *M. luteus* ha presentat resistència enfront el triclosan i l'amoxicil·lina, ja que l'halo d'inhibició a la segona sembra ha resultat ser més petit.

Entre les causes responsables de per què *M. luteus* ha presentat resistència enfront dos dels agents antimicrobians estudiats, podem trobar la següent: no tots els bacteris amb



què sembrem la placa al començament de l'experiència són genèticament iguals, ja sabem que totes les poblacions d'organismes presenten variabilitat genètica, alguns d'ells poden ser portadors d'algun gen que els confereix la capacitat de ser resistents a l'antibiòtic o biocida amb el que hem impregnat un disc de paper de filtre. Aquests gens de resistència freqüentment es troben als plasmidis, fragments circulars d'ADN que poden passar d'un bacteri a un altre pel procés de conjugació bacteriana. En els marges de la zona d'inhibició s'ha produït un procés de selecció natural, i per tant hauran sobreviscut aquells bacteris que eren portadors del gen que conferia una certa resistència a l'antibiòtic o biocida. El que estem fent en cada resembra és augmentar la probabilitat d'agafar bacteris amb el gen de resistència; per tant, quan es desenvolupen en la nova placa de Petri (que té les mateixes característiques, és a dir, el mateix medi, que l'anterior) és d'esperar que augmenti molt el nombre de bacteris amb resistència, de manera que el creixement de l'halo d'inhibició en les plaques que contenen bacteris resistents, hauria de ser pràcticament nul o més petit que a les primeres sembres, degut a que vam deixar créixer les colònies resistents, que es trobaven dins el radi d'inhibició, a l'estufa de cultius durant 24 hores amb l'objectiu que es multipliquessin.

6.2.3 CONCLUSIONS DE L'EXPERIÈNCIA 3

En quant als resultats de l'enquesta, podem arribar a les següents conclusions:

- La població no és conscient de la importància dels antibiòtics i per què és necessari acabar els tractaments, degut a que hi ha una gran quantitat de persones que deixen el tractament a mitges un cop ja no tenen els símptomes inicials, un cop comencen a trobar-se bé (el 30% de la població enquestada).
- D'altra banda, més de la meitat de les persones enquestades prenen antibiòtics sense recepta mèdica, ja sigui perquè se l'han recomanat o perquè li va ser útil pel tractament d'una malalta anterior.
- En tercer lloc, el 90% de la població s'ha oblidat algun cop de prendre's la dosi de l'antibiòtic quan li tocava i, més de la meitat d'aquestes persones, esperen a la següent dosi.



- Per últim, gairebé la meitat dels enquestats han pres antibiòtics per curar un refredat, tot pensant que aquests agents antimicrobians són eficaços pel tractament de malalties víriques.

Tots aquests resultats evidencien un claríssim mal ús dels antibiòtics per part de la població del meu municipi, cosa que pot provocar no només problemes amb els bacteris sinó també amb el sistema immunitari. Ens ha de quedar clar que, quan prenem un antibiòtic cada 6 hores, per exemple, ho fem entre aquest període perquè és aquest el temps que se sap que la concentració que és manté en sang és letal per als bacteris. Si modifiquem l'interval (si prenem l'antibiòtic 8, 10, 12 hores més tard de la darrera toma) o deixem de prendre l'antibiòtic, el que estem fent és disminuir en sang la concentració del mateix i, per tant, existeix la probabilitat que algun bacteri pugui resistir aquesta concentració. Per selecció natural, només sobreviuran els bacteris que puguin resistir-la, seran aquests el que es reproduïxin i nosaltres patiríem una infecció causada per bacteris que serien més resistents que abans. Si moltes persones actuen d'aquesta forma el que estan fent és augmentar la probabilitat de patir infeccions causades per bacteris resistents. Cal dir que el problema però no només el tenen els pacients, sinó que moltes vegades els metges per falta de temps o vocació, receptant antibiòtics en malalties d'origen víric. Aquests factors agreugen la situació d'aquesta pandèmia de bacteris multiresistents.



7. CONSIDERACIONS FINALS

Un cop finalitzat el meu treball, m'agradaria recórrer en el temps a l'inici de la meva recerca. La veritat és que l'elecció del tema va ser difícil, ja que a part que m'interessava fer un bon treball, també tenia en ment escollir un tema que fos d'interès i actualitat per la nostra societat. El que sí que tenia clar era que el realitzaria sobre l'àmbit de la biologia, ja que és l'estudi de la ciència amb el qual més m'identifico i al qual en un futur m'agradaria poder dedicar-li gran part del temps, podent exercir un treball professional de ciències.

Dit això, *Antibiòtics naturals, un mètode antimicrobià més eficaç?*, m'ha lliurat l'oportunitat de créixer com a futura científica i, fins i tot, com a persona. Un dels meus objectius era tenir la possibilitat d'una petita presa de contacte amb el món de la investigació científica. Després d'haver-ho aconseguit, puc dir que afortunadament m'ha encantat la feina al laboratori. M'he adonat que és un àmbit de l'estudi al qual cal dedicar-li moltes hores d'esforç i, sobretot, constància. A diferència d'altres estudis realitzats anteriorment, puc afirmar que la investigació és un treball empíric i exacte, davant el qual no pots inventar-te cap resultat, ja que una de les condicions bàsiques del raonament científic és que les teories deuen ser recolzades pels fets.

A més, és un treball al qual es podria continuar brindant hores i hores d'esforç i dedicació. Això últim és un dels aspectes que més m'ha impactat, perquè la veritat és que, el coneixement científic està en perpètua evolució, canvia d'un dia per l'altre. En el cas de la meva recerca, he de dir que tant la meva tutora com jo, ens hem adonat que podríem continuar investigant durant molt de temps, i la veritat és que m'agradaria poder dedicar-li més hores. Vull dir que estic molt satisfeta amb el meu treball, ja que m'ha motivat a lluitar pel que realment vull i m'ha conduït una mica més a allò que vull estudiar. Encara no sé ben bé a què em dedicaré, però m'encantaria poder treballar a un laboratori. Ara per ara, puc dir que he après a ser més rigorosa, i a treballar amb més exactitud.

Les propostes de millora o línies d'investigació, que ens han anat apareixen a mesura que aprofundíem amb l'objecte d'estudi són moltes i de les quals m'agradaria destacar les següents:

- Augmentar les condicions d'esterilitat.



- Fer més rèpliques dels antibiogrames de les que hem realitzat, per tal d'incrementar la fiabilitat dels resultats.
- Continuar fent noves sembres d'aquelles colònies de *M. luteus* que havien presentat resistència enfront el triclosan i l'amoxicil·lina, fins no produir-se halo d'inhibició.
- Testar més antibiòtics naturals, per poder arribar a unes conclusions més fiables sobre l'eficàcia dels antibiòtics naturals.
- Aprofundir en la investigació sobre el mecanisme d'acció del pròpolis en d'altres soques bacterianes.
- Testar d'altres antibiòtics sintètics, a part de l'amoxicil·lina.
- Utilitzar d'altres soques bacterianes diferents d'*E. coli* i *M. luteus*.

He de dir també, que l'enquesta sobre l'ús d'antibiòtics a les persones del meu municipi, m'ha permès comprovar l'ús indiscriminat que es fa d'aquests agents antimicrobians, així com la manca d'informació que té la majoria de la població. És per això que, de cara al futur, recomanaria, tant des de les escoles com des dels centres mèdics, reforçar la formació i informació en aquest àmbit. Sinó, desgraciadament, continuarem augmentant la probabilitat de patir infeccions causades per bacteris resistents.

M'encantaria finalitzar les conclusions personals dient que soc d'aquelles persones que pensen que la ciència té una gran bellesa.



8. WEBGRAFIA

TREBALL UAB DEONTOLOGIA I VETERINARIA LEGAL: Jana Cantavella i Anna Martínez [En línia] <http://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/85715/resant.pdf> > [consulta 22.6.2014]

TEMAS DE BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA MÉDICA [en línia] <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf> > [consulta 4.7.2014]

MARIANA, Cristina. *Malalties Bacterianes*. [en línia] <<http://elsbacteris.blogspot.com.es/2009/03/malalties-bacterianes.html> > [22.7.2014]

VAL, Dani. *Los antibiòtics*. [en línia] < <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos.htm> > [5. 8. 2014]

SOTO, LUIS. *Resistencia Bacteriana*. [en línia] < http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol32_1_03/mil07103.htm > [7. 8. 2014]

PÉREZ, Carlos. *ANTIBIÒTICOS* [Enlínia]<<http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/posgrado/especializaciones/espsaludanimal/informacion/material/FarmacologiaClinica/Antibioticospresentacion.pdf>> [consulta 7. 8. 2014]

PÉREZ, Carlos. *Resistencia Bacteriana* [en línia] <http://www.susmedicos.com/art_Resistencia_Bacteriana.htm > [consulta 7. 8. 2014]



GRUP D'ESTUDIANTS DE BIOLOGIA DE LA UDG. Resistència Bacteriana [en línia]

<<http://microbiologia0910udg.blogspot.com.es/2009/11/introduccio-als-antibiotics.html>> [consulta 22.8.2014]

ROJAS REMÓN Laura. Estudi dels mecanismes de resistència múltiple als antibiòtics en *Morganella Morganii*. [en línia]

<http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/2516/01.LRR_TESIS.pdf?sequence=1> [consulta 8.9.2014]

BUTLLETÍ D'INFORMACIÓ TERAPÈUTICA DEL SERVEI CATALÀ DE LA SALUT [en línia]

http://medicaments.gencat.cat/web/.content/minisite/medicaments/professionals/6_publicacions/butlletins/butleti_informacio_terapeutica/documents/arxiu/bit_v12_n05.pdf> [consulta 1.9.2014]

XTEC [en línia]

http://www.xtec.cat/~jcoll/activitats/els_prospectes_dels_antibiotics.htm > [consulta 1.9.2014]

CITIZENDIUM [en línia] http://en.citizendium.org/wiki/micrococcus_luteus > [consulta 2.9.2014]

LÓPEZ, Laura. *Diguem...NO als bacteris.* [en línia] <<http://diguemnoalsbacteris.blogspot.com.es/2009/01/els-antibiotics-naturals.html>> [2. 9. 2014]



MCGRAW-HILL UNIDAD 9: BIOCIDAS [en línia] <http://www.mcgraw-hill.es/bcv/guide/capitulo/8448183886.pdf>> [consulta 21.9.2014]

GREENFACTS [en línia] <http://ec.europa.eu/health/opinions/es/biocidas-resistencia-antibioticos/biocidas-resistencia-antibioticos-greenfacts.pdf> > [consulta 8.10.2014]

VIQUIPÈDIA [en línia] <http://ca.wikipedia.org/wiki/Biocida> > [consulta 19.10.2014]

GREENFACTS 2010 [en línia]

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/triclosan/es/index.htm > [consulta 14.11.2014]

ARTICLE DE SINC LA CIENCA ES NOTICIA[en línia] <http://www.agenciasinc.es/Noticias/El-biocida-triclosan-induce-resistencia-a-los-antibioticos> > [consulta 28.11.2014]

¡CUÁNTA CENCIA! [en línia] <http://www.cuantaciencia.com/salud/biocida-resistencia-antibioticos>> [consulta 3.12.2014]

BLOG BIOSFERA [en línia] http://www.biosfera.cat/biosfera_cat_biosfera/?p=6436 > [consulta 8.12.2014]

BOTANICAL [en línia]

<http://www.botanical-online.com/medicinalsantibioticosnaturales.htm>> [consulta 10.12.2014]



LÍNEA Y SALUD [en línia] <http://www.lineaysalud.com/nutricion/alimentos/404-el-propoleos-propoleo-o-propolis.html> > [consulta 18.12.2014]

BUTLLETÍ REVISTA SUSTRAI

[en línia]

http://www.habe.euskadi.net/s234728/es/contenidos/boletin_revista/sustrai_85/es_agripes/adjuntos/85_56-61_c.pdf > [consulta 21.12.2014]



9. BIBLIOGRAFIA

DOUDOROFF, Michael; ADELBERG, Edward A.; STANIER, Roger Y. *Microbiologia*. Madrid; Aguilar, 1965

BANWART, George J. *Microbiologia basica de los alimentos*, Barcelona; Antrophos, 1982

Ciències per al món contemporani 1r de Batxillerat. Barcelona; Teide SA, 2008

Biologia 1r Batxillerat. Barcelona; Teide SA, 2011

Biologia 2n Batxillerat. Barcelona; Teide SA, 2011

Biologia, Conceptes bàsics; Teide SA, 2011



ANNEX 1: GLOSSARI

➤ LA TRADUCCIÓ

La traducció és el procés durant el qual es produeix la síntesi de proteïnes a partir de mRNA (RNA missatger), la molècula portadora de la informació que determinarà la seqüència d'aminoàcids de la proteïna. A les eucariotes té lloc als ribosomes del citoplasma, de manera que ha de transcórrer un temps fins que l'ARNm surt del nucli i arriba al citoplasma, mentre que a les cèl·lules procariotes la traducció i la transcripció es produeixen simultàniament.

Per fer proteïnes calen els elements següents:

- **Ribosomes, formats per RNA i proteïnes.**
- **Mrna**
- **Molècules de tRNA (RNA de transferència):** un tipus d'ARN amb una estructura secundària complexa que s'uneix per l'extrem 3' a un aminoàcid, el qual ve determinat per una seqüència de tres nucleòtids complementària dels codons de l'ARNm, que s'anomena anticodó.
- **Aminoàcids**
- **Diversos enzims**

La base molecular de la traducció és la següent:

- **Cada tres nucleòtids consecutius de l'mRNA formen un triplet anomenat codó. Cada codó té afinat per una molècula de tRNA específica, que transporta un aminoàcid concret.**
- **La molècula de tRNA també té un grup de tres nucleòtids concrets, l'anticodó, complementari al codó.**
- **L'associació aminoàcid-tRNA la fa l'aminoacil-tRNA-sintetasa, un enzim específic per a cada aminoàcid.**

La traducció segueix les fases següents:

- **Iniciació:** en aquesta fase inicial, té lloc la unió de l'mRNA al ribosoma, el reconeixement del primer codó per part del tRNA corresponent i la incorporació al primer aminoàcid.



- **Allargament:** en aquest moment, té lloc la incorporació successiva dels nous aminoàcids a la proteïna en creixement, dirigida pels codons de l'mRNA. La síntesi de proteïnes es dona simultàniament en diversos ribosomes situats l'un a continuació de l'altre, i així formen un poliribosoma.
- **Finalització:** la fase final s'esdevé l'alliberament dels components de la maquinària de traducció en trobar un codó d'aturada, també anomenat codó de terminació o codó sense sentit.

Així, la seqüència de nucleòtids de l'ARNm s'interpreta a partir d'un punt d'inici de la traducció assenyalat pel codó AUG (que determina l'aminoàcid metionina) i continua en direcció de 5' a 3' fins trobar un codó de parada.

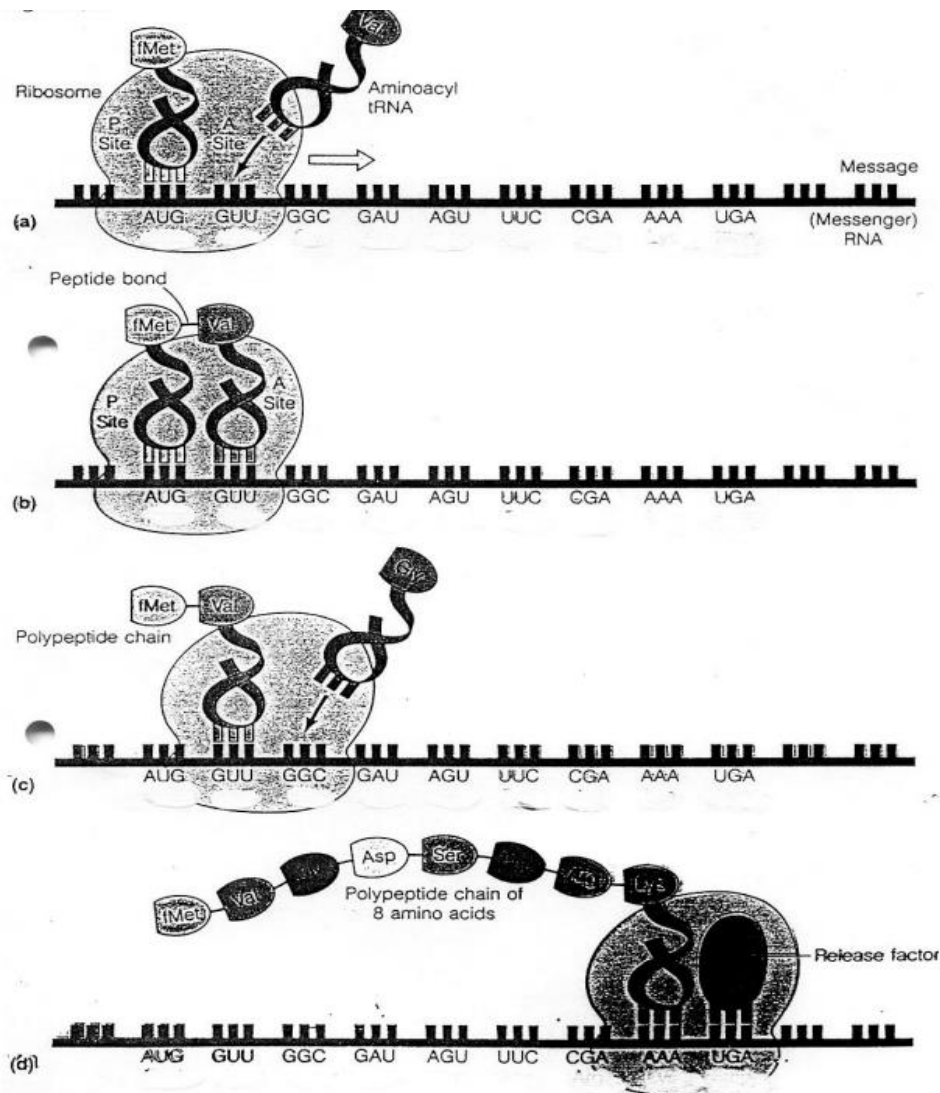


Figura 1: Seqüència del procés de la traducció



➤ ALEXANDER FLEMING

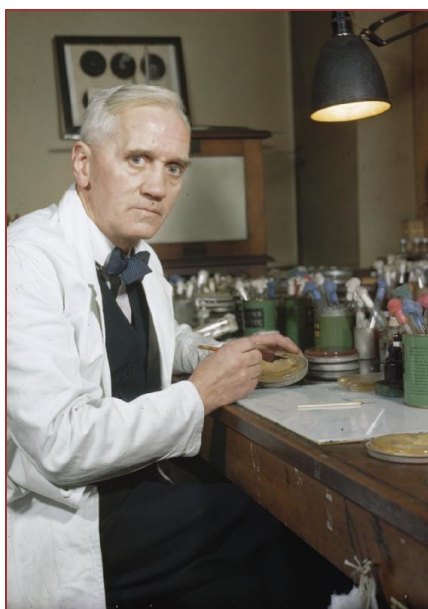


Figura 2: Alexander Fleming

Va ser un científic escocès del segle XIX i XX (1881-1955), el qual va descobrir les propietats antibacterianes de la penicil·lina i la liozima, per lo que és principalment conegut.

Va néixer en Darvel (Ayrshire) i als 13 anys va decidir mudar-se a Londres amb el seu germà i el seu germanastre, els quals estaven estudiant medicina. Allà, influenciat per ells, i gràcies a una beca d'estudis, Fleming va estudiar medicina en *St. Mary's Hospital Medical school* de Paddington. Als 25 anys, quan encara no havia finalitzat la carrera, va ficar-se al món de la bacteriologia, moment en que va decidir dedicar la resta de la seva vida

a estudiar les infeccions bacterianes.

És reconegut mundialment pel descobriment de dos extraordinaris agents antimicrobians:

- **Liozima (1922):** estudiant possibles tractaments per a un tipus d'infecció coneguda com gangrena gaseosa, Fleming va descobrir l'acció antimicrobiana de la liozima al percatar-se de la destrucció de las bactèries d'una de les seves plaques sobre la qual va esternudar accidentalment (les mucoses corporals contenen l'enzim liozima).
- **Penicilina (1928):** el descobriment més important de Fleming va arribar quan en una de les seves plaques d'*Estrafilocos* que estava analitzant es van infectar accidentalment pel fong *Penicillium chrysogenum*. La gran curiositat d'aquest científic va conduir-lo a estudiar aquelles mostres amb floridures i descobrir l'efecte antimicrobià d'un dels components d'aquell fong: la penicil·lina.

El primer medicament antibiòtic, però, no es va poder comercialitzar fins 12 anys després, tot just quan el bioquímic alemany EMST Boris Chain i el farmacòleg australià Howard Walter Florey van desenvolupar un mètode de purificació de la penicil·lina eficient, que va permetre la seva síntesi i distribució mundial.



Per últim, destacar que l'any 1945 van rebre el Premi Nobel de fisiologia o Medicina arran el descobriment de la penicil·lina i el seu efecte curatiu sobre les malalties infeccioses.

➤ LA TINCIÓ GRAM

Tipus de tinció diferencial, descoberta per Christian Gram l'any 1853, empleada a la bacteriologia amb l'objectiu de visualitzar els bacteris. S'utilitza tant per analitzar la morfologia cel·lular bacteriana com per diferenciar els bacteris segons si son grampositius o gram negatius:

- **Bacteris grampositius:** són aquells bacteris que a l'exposar-se a la tinció Gram, queden tenyits de color violeta, com a resultat de tenir a la seva paret diverses capes de mureïna, enllaçada per la part més externa a molècules d'àcid teïoic, cosa que fa que la capa sigui més gruixuda i, per tant, més resistent, uniforme i densa.
- **Bacteris gramnegatius:** són aquells bacteris que a l'exposar-se a la tinció Gram, s'observa el color rosa, com a resultat de tenir a la seva paret una única capa de mureïna, ja que aquesta no queda tenyida.

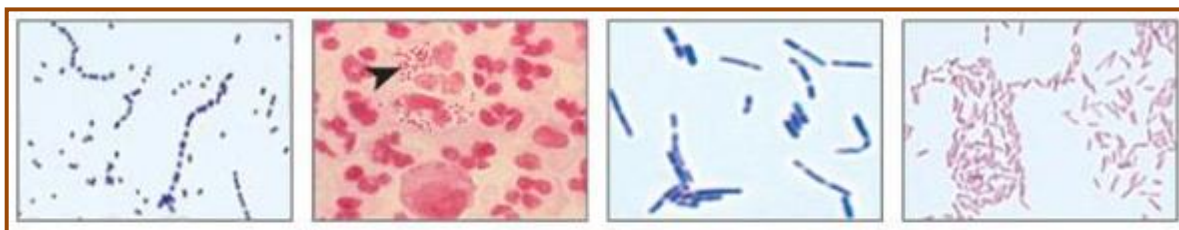


Figura 3: Diferents mostres de la tinció Gram

L'explicació a la coloració resultant de la tinció Gram és la següent:

El primer pas en qualsevol tinció ha de ser sempre la fixació amb calor. Després, en agregar el cristall violeta, aquest ingressa a totes les cèl·lules bacterianes.

El Lugol està format per I₂ (iode) en equilibri amb KI (iodur de potassi), el qual està present per a solubilitzar el iode. El I₂ entra en les cèl·lules i forma un complex insoluble en solució aquosa amb el cristall violeta. La mescla d'alcohol-acetona que s'agrega, serveix per a realitzar la descoloració, ja que en la mateixa és soluble el complex I₂/cristall violeta. Els organismes grampositius no es decoloren, mentre que els gramnegatius sí ho



fan. Per a posar de manifest les cèl·lules gramnegatives s'utilitza una coloració de contrast. Habitualment és un colorant de color roig, com la safranina o la fucsina bàsica. Després de la coloració de contrast les cèl·lules Gram negatives es veuen roges, mentre que les Gram positives romanen blaves. La safranina pot o no utilitzar-se, no és crucial per a la tècnica. Serveix per a fer un tinció de contrast que posa de manifest els bacteris gramnegatius. Al terme del protocol, els grampositius es veuran blau-violades i els gramnegatius, es veuran roses, si no s'ha fet tinció de contrast; o roges, si es va usar, per exemple, safranina.

➤ LA REACCIÓ CATALASA

Molts organismes poden descompondre el peròxid d'hidrogen (H_2O_2) per l'acció dels enzims, és a dir, per l'acció de proteïnes globulars responsables de la major part de l'activitat química dels organismes vius. Actuen com a catalitzadors, que són substàncies que acceleren les reaccions químiques sense ser destruïdes o alterades durant el procés. Els enzims són extremadament eficients i es poden utilitzar una vegada i una altra repetidament. Un enzim pot catalitzar milers de reaccions en cada segon. Tant els valors de pH com de la temperatura a els que treballa l'enzim són extraordinàriament importants. La majoria dels organismes tenen un interval de temperatura preferent en el qual sobreviuen i els seus enzims funcionen millor dins de l'interval de temperatura. Si l'ambient on es troba l'enzim és massa àcid o massa bàsic, l'enzim pot desnaturitzar de manera irreversible o transformar-se de manera que la seva forma no li permeti més realitzar el seu funcionament apropiat.

El H_2O_2 és tòxic per a la majoria des organismes vius. Molts organismes són capaços de destruir el H_2O_2 mitjançant l'acció d'enzims abans que pugui realitzar molt de mal.

Aquesta molècula es converteix en oxigen i aigua segons la següent reacció:

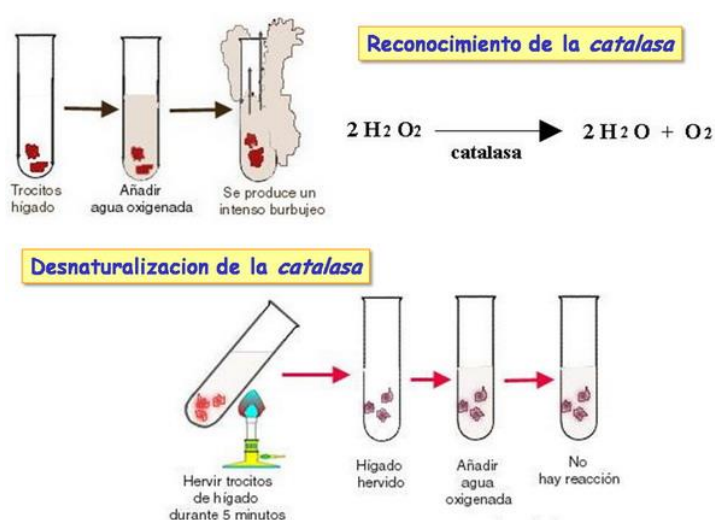
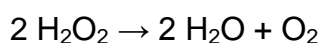


Figura 2: Reconeixement i desnaturització de la catalasa del fetge



Encara que aquesta reacció ocorre espontàniament, els enzims incrementen la velocitat de reacció de forma considerable. **És la catalasa, un dels enzims responsables de catalitzar aquesta reacció.**

➤ LA REACCIÓ OXIDASA

L'**oxidasa** és un enzim que catalitza una reacció d'oxidació/reducció emprant oxigen molecular (O_2) com acceptor d'electrons. En aquestes reaccions l'oxigen es redueix a aigua (H_2O) o peròxid d'hidrogen (H_2O_2). Les oxidases són una subclasse de les oxidoreductasas. Un exemple important és el citocrom C oxidasa, un enzim essencial que permet als organismes emprar oxigen en la generació d'energia i que és el compost final de la cadena transportadora d'electrons.

En microbiologia la prova de l'**oxidasa** s'utilitza com una característica fenotípica en la identificació de soques bacterianes ja que **determina si el bacteri produeix citocrom oxidasa** (i per tant utilitza oxigen a la cadena de transport d'electrons). Els bacteris que han d'utilitzar oxigen s'anomenen aerobis, i els que poden utilitzar oxigen però també altres compostos s'anomenen anaerobis facultatius.



ANNEX 2: FOTOGRAFIES ANTIBIOGRAMES DE LES EXPERIÈNCIES

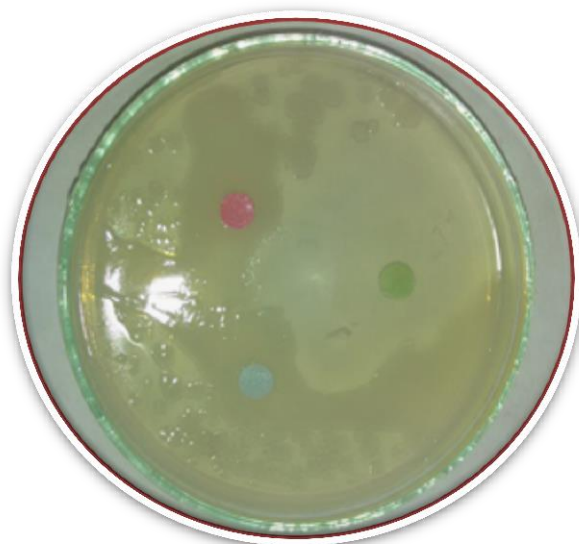


Figura 1: 1^a sembra d'E.coli amb triclosan, alcohol i aigua

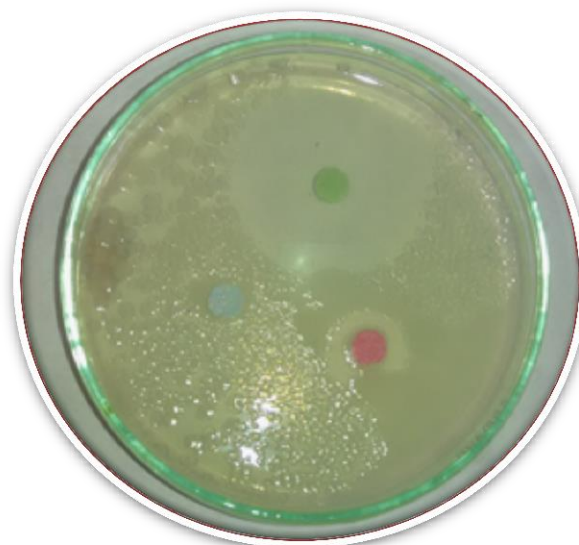
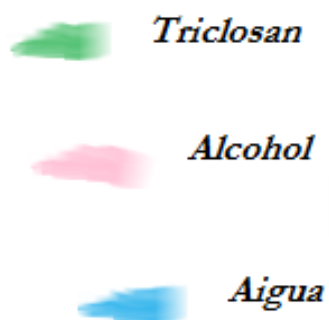


Figura 2: 2^a sembra d'E.coli amb triclosan, alcohol i aigua

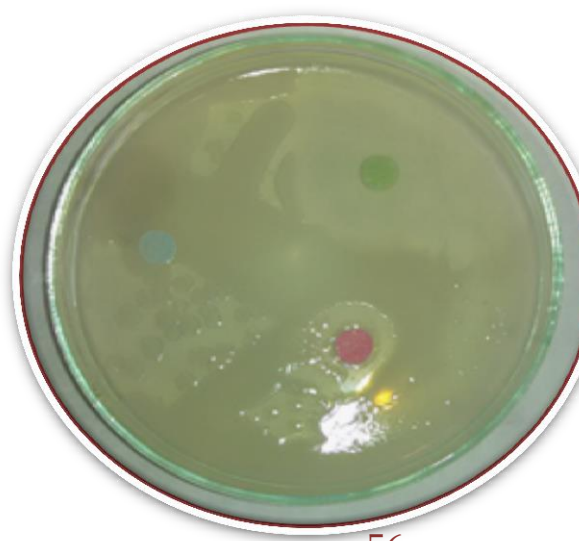


Figura 3: 3^a sembra d'E.coli amb triclosan, alcohol i aigua

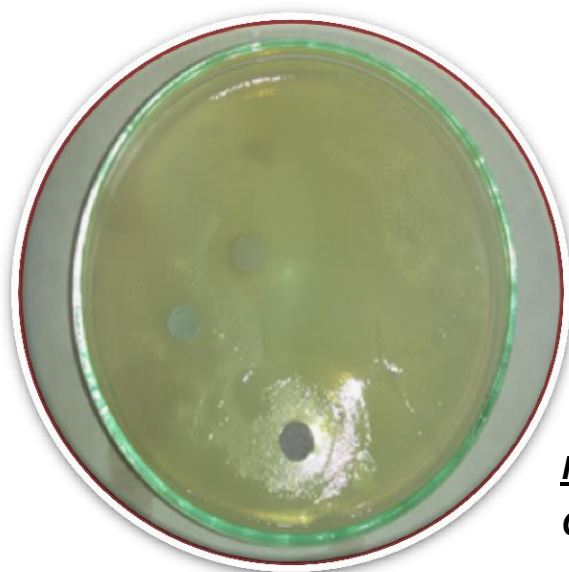



Figura 4: 1^a sembra d'E. Coli amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua.

 Pròpolis

 Amoxicil·lina

 Aigua

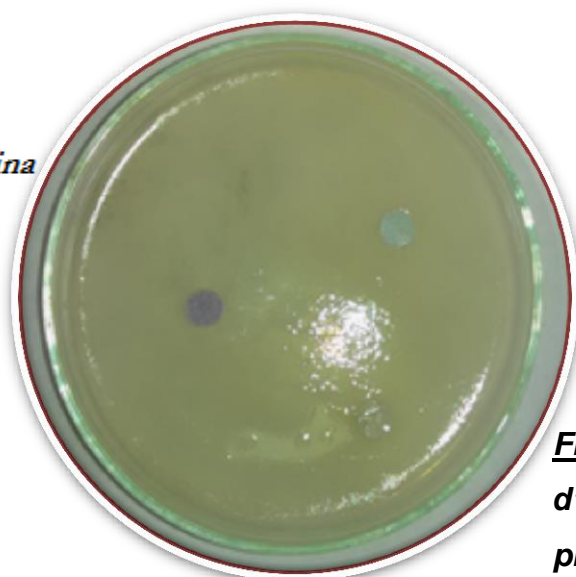


Figura 5: 2^a sembra d'E.coli amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua

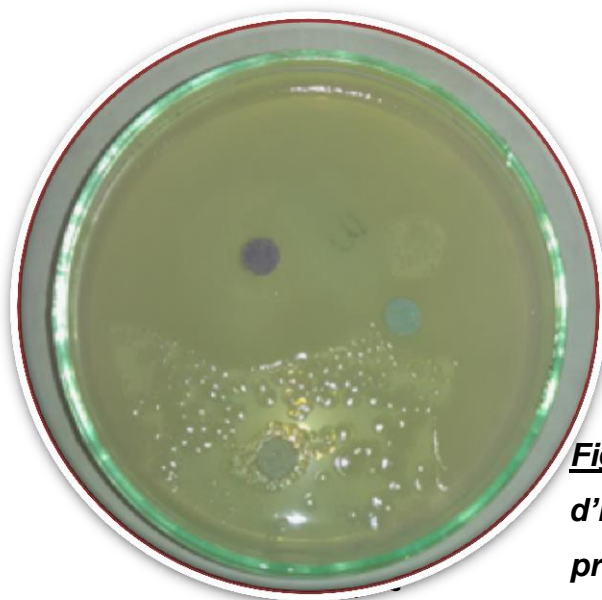


Figura 6: 3^a sembra d'E.coli amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua

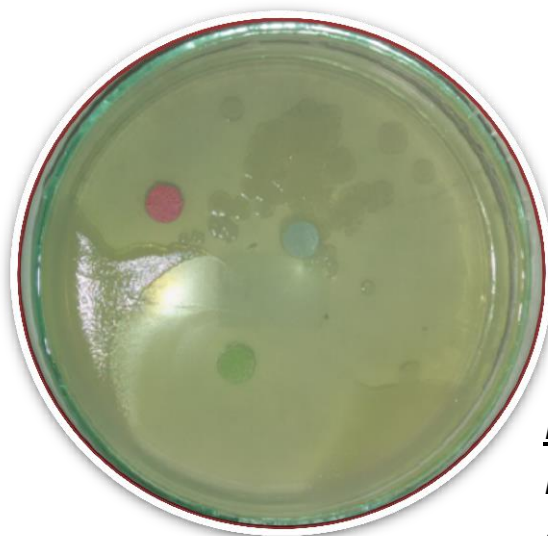


Figura 7: 1^a sembra de *M.luteus* amb triclosan, alcohol i aigua



Triclosan



Alcohol



Aigua



Figura 8: 2^a sembra de *M.luteus* amb triclosan, alcohol i aigua

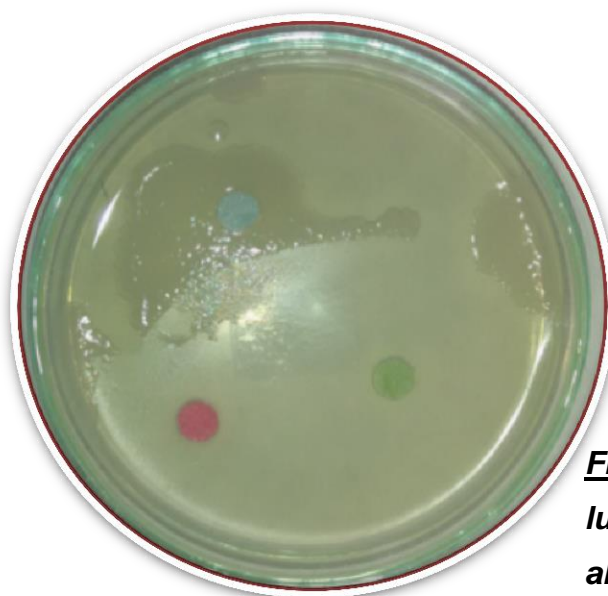


Figura 9: 3^a sembra de *M.luteus* amb triclosan, alcohol i aigua

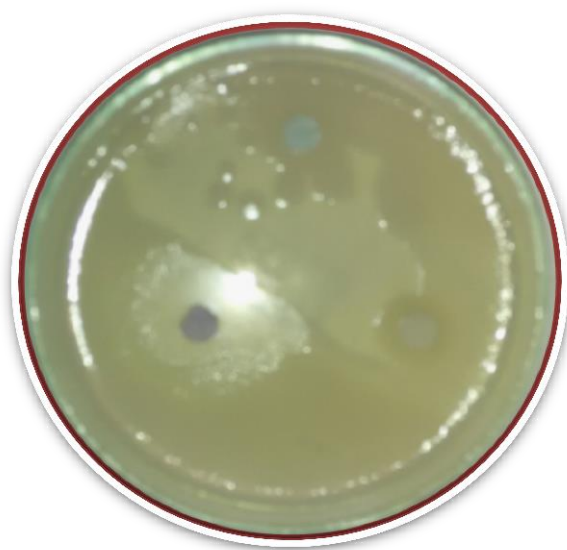


Figura 10: 1^a sembra de *M. luteus* amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua

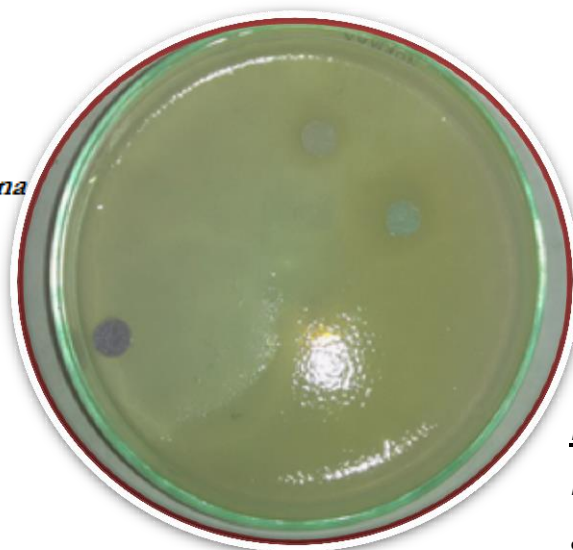
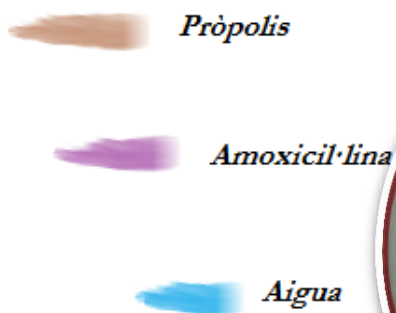


Figura 11: 2^a sembra de *M. luteus* amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua

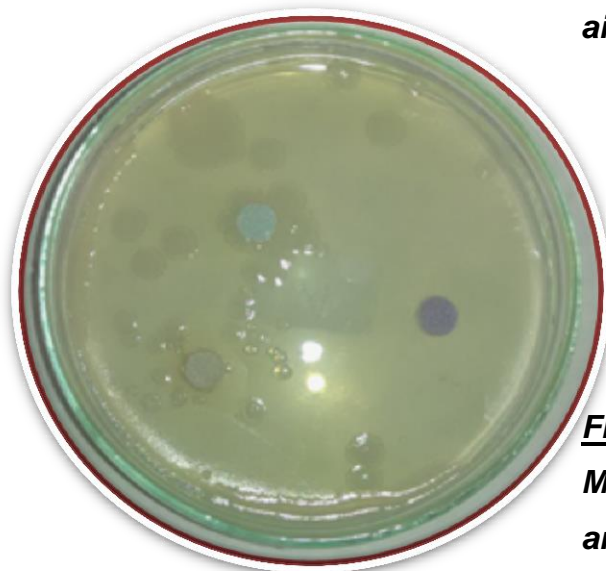


Figura 12: 3^a sembra de *M. luteus* amb amoxicil·lina, pròpolis i aigua



ANNEX 3: TAULA DE SENSIBILITAT ANTIMICROBIANA

ANTIBIÒTIC	CÒDIC	μm	DIÀMETRE D'INHIBICIÓ mm		
			Resistent	Intermedi	Sensible
Ac. Nalidíxic	NA	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Ac. Pipemidic	PI	20	≤ 13	14-17	≥ 18
Amikacina	AN	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Amoxicil·lina + Ac. Clavulànic	AMC	20	≤ 13	14-17	≥ 18
Ampicil·lina	AM	10	≤ 16	--	≥ 17
Azitromicina	ATM	15	≤ 13	14-17	≥ 18
Cefalotina	CF	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefazolina	CZ	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefixima	CFM	5	≤ 15	16-18	≥ 19
Cefotaxima	CTX	30	≤ 14	15-22	≥ 23
Cefoxitina	FOX	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Ceftazidima	CAZ	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefuroxima	CXM	30	≤ 14	15-22	≥ 23
Ciprofloxacina	CIP	5	≤ 15	16-20	≥ 21
Clindamicina	CC	2	≤ 14	15-20	≥ 21
Eritromicina	E	15	≤ 13	14-22	≥ 23
Fosfomicina	FOS	200	≤ 12	13-15	≥ 16
Gentamicina	GM	10	≤ 12	13-14	≥ 15
Imipenem	IPM	10	≤ 13	14-15	≥ 16
Levofloxacino	LVX	5	≤ 13	14-16	≥ 17
Nitrofurantoina	FM	300	≤ 14	15-16	≥ 17
Norfloxacino	NOR	10	≤ 12	13-16	≥ 17
Oxacina	OX	1	≤ 10	11-12	≥ 13
Penicil·lina	P	10	≤ 14	--	≥ 15



A



ENQUESTA TREBALL DE RECERCA

Enquesta sobre l'ús dels antibiòtics - TR: Anàlisi microbiològic - Maribel Enamorado Jiménez

Edat

Sexe

- Masculí
- Femení

Ha pres alguna vegada antibiòtics?

- Sí
- No

Quan pren un antibiòtic és perquè el metge l'hi ha receptat?

- Sí
- No

Ha recomanat alguna vegada cap antibiòtic perquè li va ser útil quan estava malalt?

- Sí
- No

Ha pres cap antibiòtic perquè algú de confiança li ha recomanat?

- Sí
- No

S'ha oblidat algun cop de prendre la dosi l'antibiòtic a l'hora que li tocava?

- Sí
- No

En cas que sí, què ha fet al respecte?

- Esperar a la següent dosi
- Prendre-m'ho en doble quantitat a la següent dosi
- Prendre-m'ho igualment independentment de l'hora que fos

Creu que la gent en fa un mal ús dels antibiòtics i dels medicaments en general?
En cas que no, per què?

- Perquè se'ls deixa de prendre quan comença a trobar-se bé
- Perquè no se'ls pren a l'hora que toca
- Perquè pensa que un antibiòtic té múltiples utilitats
- Perquè se'ls pren tot just després d'haver menjat independentment de l'hora
- Altres

Creu que els antibiòtics actuen al mateix nivell en totes les persones?

- Sí
- No
- No sé

Alguna vegada ha deixat de prendre un antibiòtic perquè començava a trobar-se bé?

- Sí
- No

Ha pres mai un antibiòtic contra un refredat?

- Sí
- No

Creu que els antibiòtics són eficaços contra les malalties víriques?

- Sí
- No

Alguna vegada ha pres antibiòtics sense recepta mèdica?

- Sí
- No

Creu que en sap suficient sobre l'ús dels antibiòtics?

- Sí
- No

En cas que no, quina creu que és la informació que no ens proporcionen i ens caldria saber?