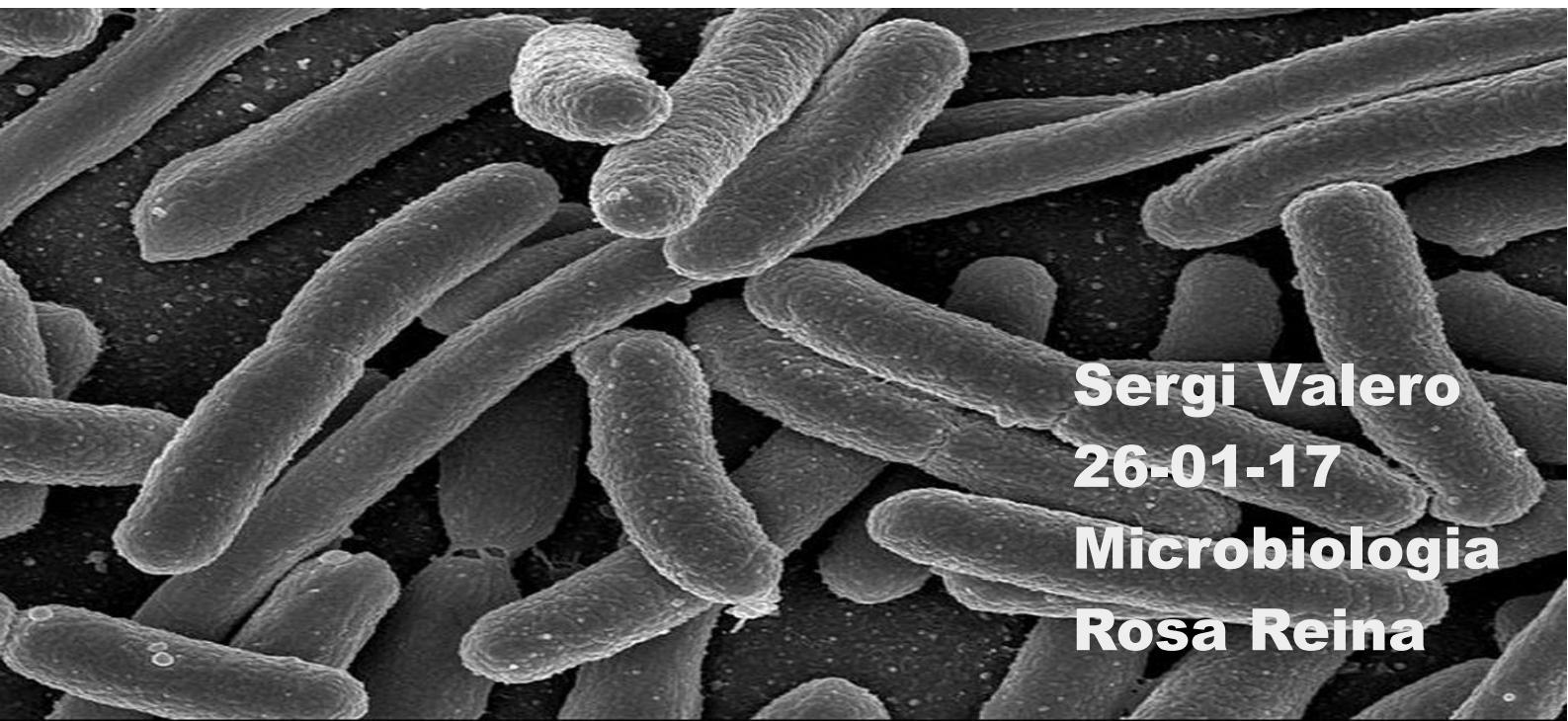


***Estudi bacteriològic de la  
Daptomicina***

***Un antibiòtic més eficaç?***



**Sergi Valero**  
**26-01-17**  
**Microbiologia**  
**Rosa Reina**

*Ara que el treball ja està finalitzat, m'agradaria agrair a totes les persones que m'han animat i m'han ajudat a fer possible aquest treball, tant a la meva família, amics, professors, companys de classe, en concret a la Ariadna Dorado i a la Mireia Molina, que ens hem ajudat mútuament.*

*M'agradaria agrair al CESIRE per subministrar-me el material necessari per fer el projecte i també al meu institut Rovira-Forns per deixar-me fer la part experimental a l'estiu i utilitzar el seu material de laboratori.*

*Agraeixo en especial a la meva tutora d'aquest treball i la meva professora de biologia, Rosa Reina, per haver-me ensenyat tot el que sé sobre biologia i per haver-me ajudat tant en aquest últim any i en concret amb aquest projecte.*

*Gràcies a tothom.*

# Índex

Introducció.....	3
1. Bacteris.....	5
1.1.Estructura.....	5
1.2.Classificació dels bacteris.....	9
1.3. Metabolisme.....	12
1.4. Reproducció.....	13
1.5.Causes de variabilitat bacteriana.....	15
1.6. Mecanismes de contagi.....	16
2. Bacteris utilitzats en aquest projecte.....	17
2.1. <i>Serratia Marcescens</i> .....	17
2.2. <i>Bacillus Cereus</i> .....	17
2.3. <i>Staphylococcus Epidermidis</i> .....	18
3. Antibiòtics.....	19
3.1. Classificació dels antibiòtics.....	20
4. Antibiòtics utilitzats.....	22
4.1. Amoxicil·lina.....	22
4.2. Claritromicina.....	23
4.3. Daptomicina.....	23
5. Tècniques utilitzades.....	25
5.1. Antibiograma.....	25
5.2. Sembra de bacteris.....	25
5.3.Tinció de gram.....	26
6. Part pràctica.....	27
6.1. Part experimental 1.....	27

Pràctica N°1.....	27
Pràctica N°2.....	34
6.2. Part experimental 2.....	40
6.3. Part experimental 3.....	42
7. Conclusions finals.....	44
Webgrafia.....	45
Bibliografia.....	46
Annex 1.....	47
Annex 2.....	49

## Introducció

En aquest treball estudiaré el tema dels bacteris i de la resistència que aquests poden desenvolupar a alguns antibiòtics.

Actualment, els bacteris són objecte d'estudi ja que representen un dels problemes més importants a nivell global degut a que cada vegada més, estan començant a aparèixer soques resistents a antibiòtics a causa de la massiva utilització d'aquests sense l'aprovació d'un professional o sense respectar el temps entre dosi i dosi.

Així, actualment els antibiòtics es troben sota control, no es venen sense recepta mèdica, no s'administren fins a saber de quin tipus d'infecció es tracta, tot això es fa per evitar el seu mal ús i tractar d'evitar l'expansió de soques resistents. Actualment és més difícil sintetitzar antibiòtics efectius ja que molts dels antibiòtics que es sintetitzen són d'origen natural a més de que es requereix el finançament d'investigacions i estudis per tal de sintetitzar nous antibiòtics, i actualment, les investigacions no es financien a tots els països.

He escollit aquest treball perquè m'interessa el tema de la microbiologia i és un problema de salut pública. A més, actualment està el problema dels bacteris resistents a antibiòtics que fan cada vegada menys efecte, que està relacionat amb la investigació en l'àmbit de la microbiologia, que es el que fa uns anys vaig decidir que volia ser, investigador en aquest àmbit en particular. D'altre banda, aquest projecte se m'ha presentat com una petita prova per confirmar que això és realment el que m'agrada i també per introduir-me a l'estudi de microorganismes.

El meu principal objectiu és el d'estudiar l'eficàcia dels antibiòtics d'ús hospitalari enfront els que es venen sota recepta mèdica, ja que els antibiòtics d'ús exclusiu hospitalari estan restringits i potser no presenten tanta resistència comparat amb els que es venen sota recepta mèdica ja que no es poden aconseguir fàcilment.

Per tal d'aconseguir aquest objectiu he hagut d'assolir uns objectius d'aprenentatge que són els següents:

1. Adquirir coneixements sobre bacteris i sobre antibiòtics.
2. Aprendre les tècniques utilitzades a un laboratori de microbiologia.

La Daptomicina, és l'antibiòtic en el que es centra el meu estudi, aquest és d'ús exclusiu hospitalari, i s'administra per via intravenosa al pacient. Per tant, la meva principal hipòtesis es que potser l'administració de Daptomicina no presenta soques bacterianes resistents.

En aquest treball he dut a terme tres pràctiques que han tingut una duració de dues setmanes per tal de realitzar la part experimental. Aquestes pràctiques han estat treballades amb els bacteris: *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus Epidermidis* i *Serratia Marcescens* i amb els antibiòtics: Daptomicina, Amoxicil·lina i Claritromicina

# 1. Bacteris

Els bacteris van ser observats per primera vegada per Anton van Leeuwenhoek al 1863 amb un microscopi dissenyat per ell mateix però ja a l'edat mitjana es coneixia l'existència d'organismes que provocaven malalties.

Els bacteris, van ser els primers a colonitzar la terra i actualment són considerats generalment com a perjudicials, malgrat no tots els bacteris produeixen infeccions o malalties, de fet molts bacteris ens beneficien i permeten la nostra supervivència.

Els bacteris són microorganismes unicel·lulars que pertanyen al regne de les moneres. Són els organismes més abundants al planeta i només es poden observar amb el microscopi degut a la seva mida (entre 0,5 i 5 micròmetres).

Els bacteris, els podem trobar a gairebé qualsevol lloc, ja que tenen unes qualitats que els hi permet colonitzar gairebé qualsevol medi.

## 1.1. Estructura

Segons la seva morfologia podem distingir tres parts: estructura externa, estructura interna i el material genètic.

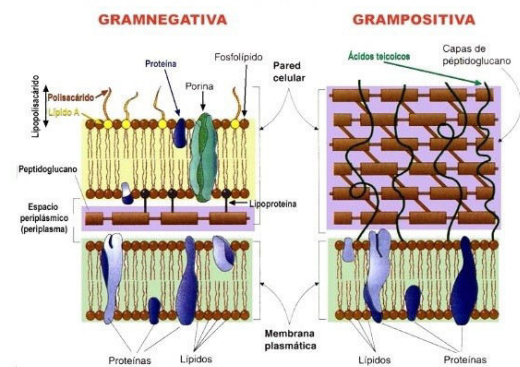
### Estructura externa

Està formada per la paret cel·lular, la càpsula (només en alguns casos) i la membrana plasmàtica.

La **paret cel·lular**, que està constituïda per peptidoglicà<sup>1</sup>, serveix per protegir l'estructura interna del bacteri.

Trobem dos tipus de parets cel·lulars:

- ◆ La **grampositiva**, que té una capa de peptidoglicà molt ampla.
- ◆ La **gramnegativa** que té una capa de peptidoglicà molt fina i té una capa externa de lipopolisacàrids<sup>2</sup> i fosfolípids<sup>3</sup>.



Fotografia 1: Paret grampositiva i gramnegativa

<sup>1</sup> Peptidoglicà: Heteropolímer format per monosacàrids i aminoàcids.

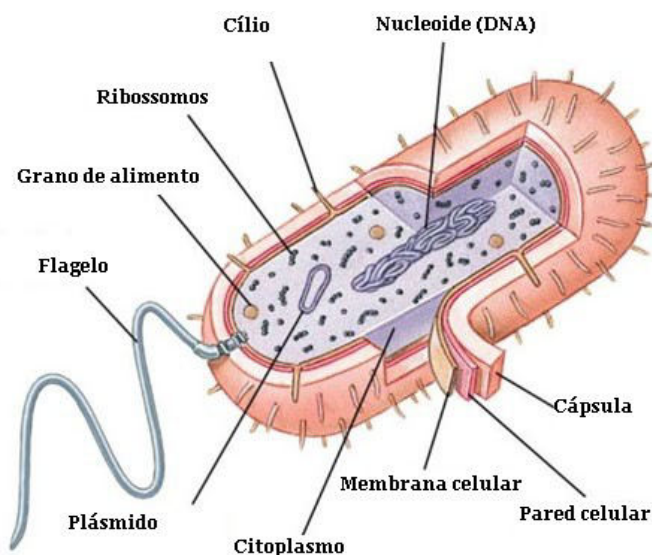
<sup>2</sup> Lipopolisacàrid: Biomolècula formada per un lípid i un polisacàrid units per un enllaç covalent.

<sup>3</sup> Fosfolípids: Tipus de lípids formats per una molècula d'alcohol, dos àcids grassos i un grup fosfat.

La **càpsula** recobreix la paret del bacteri i té com a funció protegir el bacteri de la fagocitosis<sup>4</sup>, evitar la seva dessecació, evitar el atac de bacteriòfags<sup>5</sup> i l'ajuda a adherir-se a diferents superfícies. Està formada per polisacàrids, que són el conjunt d'una gran quantitat de monosacàrids<sup>6</sup>, i varia segons l'espècie del bacteri.

A la part exterior del bacteri podem trobar:

- ◆ Un **flagel**, integrat a la paret, que és una estructura en forma d'hèlix que permet al bacteri moure's lliurement.
- ◆ **Pèls**, que són estructures allargades compostes per una molècula anomenada pilina<sup>7</sup>, que els bacteris utilitzen per adherir-se a superfícies. Aquests pèls són característics només dels gramnegatius.



Troblem dos tipus de pèls:

Fotografia 2: Parts d'un bacteri

- ◆ **Pèls d'unió o fímbrics**, són curts i són els que utilitzen per adherir-se a les superfícies.
- ◆ **Pèls de conjugació**, són llargs i s'uneixen a un altre bacteri per tal de intercanviar material genètic.

La **membrana plasmàtica**, està formada principalment per fosfolípids, protegeix el citoplasma i els orgànuls del bacteri i una de les seves funcions és la de regular l'intercanvi de substàncies amb l'exterior.

<sup>4</sup> Fagocitosis: Procés pel qual una cèl·lula incorpora al seu citoplasma una substància sòlida.

<sup>5</sup> Bacteriòfag: Tipus de virus que infecten exclusivament a bacteris.

<sup>6</sup> Monosacàrid: Glúcid que no es pot descomposar en altres compostos més simples.

<sup>7</sup> Pilina: Molècula que forma part dels microtúbuls.



## Estructura interna

L'estructura interna està formada pel citoplasma, que està compost principalment per aigua i nutrients i conté tots els orgànuls. És on es produeixen tots els processos vitals que el bacteri ha de fer.

Dintre el citoplasma trobem:

- ◆ **Ribosomes:** Estructures de proteïnes i ARN que es troben en el citoplasma encarregades de la fabricació de proteïnes. En el cas de cèl·lules eucariotes també es troben en els mitocondris, reticle endoplasmàtic rugós i cloroplasts (orgànuls de cèl·lules eucariotes).

Els ribosomes estan formats per dos subunitats; la gran que té un coeficient de sedimentació<sup>8</sup> de 50S i la petita amb un coeficient de 30S. Els ribosomes bacterians són més petits en comparació amb els de cèl·lules eucariotes.

- ◆ **Mesosoma:** Invaginació que es produeix a la membrana plasmàtica i permet l'entrada de substàncies necessàries per tal de que el bacteri faci les seves funcions vitals (per exemple la síntesi de proteïnes). Per exemple nutrients.
- ◆ **Inclusions:** Substàncies que pot tenir la cèl·lula o que pot incorporar per endocitosis<sup>9</sup>. Aquestes substàncies poden estar envoltades per enzims i solen ser substàncies de reserva que la cèl·lula pot utilitzar.

---

<sup>8</sup> Coeficient de sedimentació: El grau de sedimentació en una centrifugació.

<sup>9</sup> Endocitosis: Procés pel qual una cèl·lula introdueix al seu citoplasma una substància sòlida o líquida.

## Material genètic

Els bacteris es caracteritzen principalment per l'absència de nucli definit, es a dir, la informació genètica es troba lliure pel citoplasma.



Fotografia 3: Cadena d'ADN

De material genètic tenim de tres tipus:

- ◆ **ADN:** Molècula d'àcid desoxirribonucleic formada per una pentosa<sup>10</sup> (desoxirribosa), bases nitrogenades<sup>11</sup> (Adenina, Timina, Guanina i Citosina) i té forma helicoïdal. Aquesta, té la informació genètica i regula l'expressió gènica i es transmet a la descendència. L'ADN bacterià és una doble hèlix i és circular.
- ◆ **ARN:** Molècula d'àcid ribonucleic formada per una pentosa (ribosa) i per bases nitrogenades (Adenina, Uracil, Guanina i Citosina), només està format per una cadena, i té la informació per sintetitzar les proteïnes.
- ◆ **Plasmidis:** Molècules petites d'ADN que no es troben integrades al ADN bacterià i que es troben lliures pel citoplasma.

Els plasmidis, són de vital importància pel meu estudi ja que és on es solen localitzar el gen o gens que provoquen que un bacteri sigui resistent a un antibiòtic o un grup d'antibiòtics. Aquest gen ho poden traspasar fàcilment a altres bacteris per parasexualitat.

<sup>10</sup> Pentosa: Molècula orgànica formada per 5 carbonis.

<sup>11</sup> Bases nitrogenades: Compostos orgànics que formen part de l'ADN i l'ARN.

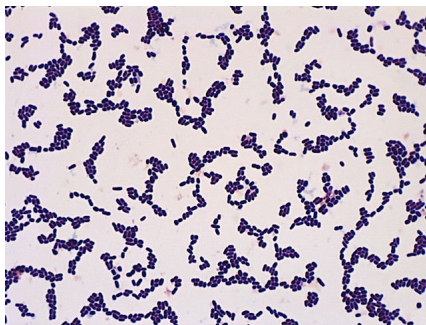
## 1.2. Classificació dels bacteris

Degut a la seva gran variabilitat, els bacteris es poden classificar de diverses maneres: segons la composició de la seva paret, la seva morfologia, segons la composició de la seva membrana plasmàtica, o segons si són beneficiosos o perjudicials.

### Composició de la paret bacteriana

Amb la tinció de gram podem classificar els bacteris segons la composició de la seva paret bacteriana. Distingim en:

- ◆ **Grampositius:** Són aquells que retenen el cristall violeta durant la tinció (s'observen de color blau o lila en el microscopi).
- ◆ **Gramnegatius:** No retenen el cristall violeta i s'observen de color rosa al microscopi.



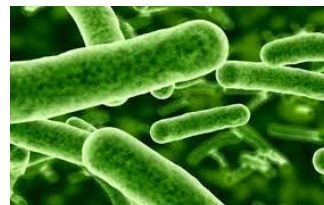
Fotografia 4: Bacteris grampositius



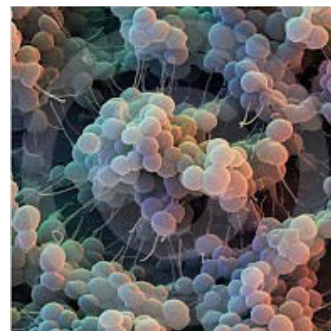
Fotografia 5: Bacteris gramnegatius

## Morfologia

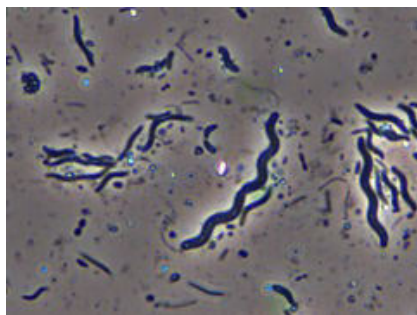
- ◆ **Bacils:** Són bacteris que tenen forma de bastó. Es poden unir en cadenes i llavors s'anomenen estreptobacils.
- ◆ **Cocs:** Són bacteris amb forma esfèrica, aquests es divideixen en:
  - ◆ **Diplococs:** Es una parella de dos cocs amb forma rodona.
  - ◆ **Estreptococs:** Bacteris que tenen forma de cuc i poden fer cadenes.
  - ◆ **Estafilococs:** Són grampositius i tenen forma de cocs que s'agrupen en forma de raïm. El que els diferencia dels estreptococs és que són catalasa-positius<sup>12</sup>.
- ◆ **Espirils:** Bacteris amb forma d'espiral gramnegatius. Aquests poden travessar mucoses degut al seu petit diàmetre.
- ◆ **Vibrions:** Bacteris amb forma de coma.



Fotografia 6: Bacil



Fotografia 7: Cocs



Fotografia 8: Espirils



Fotografia 9: Vibrions

<sup>12</sup> Catalasa-positiu: Presenten un enzim, que és una proteïna que intervé en reaccions químiques, anomenat catalasa i aquest intervé en la descomposició del peròxid d'hidrogen  $H_2O_2$  en  $H_2O$  i  $H_2$ .

## Membrana cel·lular

Segons la seva membrana cel·lular trobem:

- ◆ **Gracilicutes:** Tenen una doble membrana que conté lípids i dona tinció de gram negativa.
- ◆ **Firmicutes:** Només tenen una membrana cel·lular i una paret cel·lular formada per peptidoglicà i dona com a resultat tinció de gram positiva.
- ◆ **Mollicutes:** No tenen segona membrana cel·lular ni paret cel·lular, i donen tinció de gram negativa.

## Com ens afecten

Segons com ens afecten, trobem:

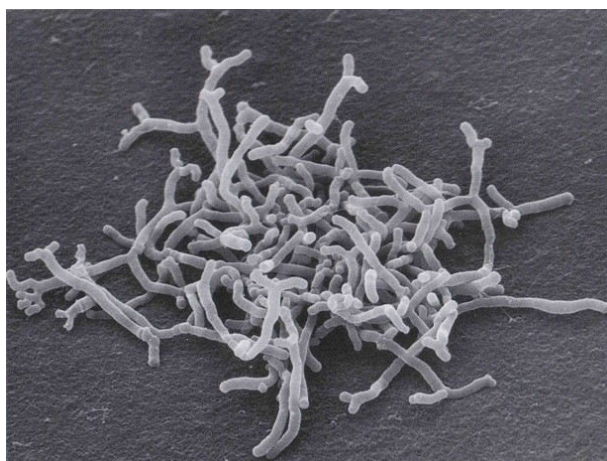
**Bacteris patògens.** Causen malalties al organisme al que ha infectat. Per exemple *Mycobacterium Tuberculosis*, que causa la tuberculosi.

Aquests tipus de bacteris poden produir toxines bacterianes.

Distingim en dos tipus de toxines:

- ◆ **Exotoxines**, són substàncies produïdes pel bacteri i són excretades al medi extracel·lular on poden produir infeccions o danys als teixits de l'organisme. Per exemple trobem en *Staphylococcus Aureus*.
- ◆ **Endotoxines**, són substàncies que es troben a l'estructura del bacteri gramnegatiu, com pot ser la seva capa de lipopolisacàrids. Per exemple algunes soques d'*Escherichia Coli* es troba a l'antigen O (cadena lateral de lipopolisacàrids).

**Bacteris beneficiosos.** No causen malalties, i fins i tot poden produir beneficis per a la nostra salut. Per exemple *bifidobacterium*, que el trobem a la nostra flora intestinal.



Fotografia 10: *Bifidobacterium*

### 1.3. Metabolisme

El metabolisme representa totes les reaccions que fem per tal d'aconseguir energia i substàncies per les nostres funcions vitals.

Els bacteris, presenten una gran varietat de tipus metabòlic, això implica que poden sobreviure en condicions ambientals molt diverses o extremes.

Segons la font d'energia, trobem els **fotòtrofs** i els **quimiòtrofs**.

Els fotòtrofs utilitzen la llum solar. Dintre d'aquest trobem els **fotoheteròtrofs** (utilitzen matèria orgànica com a font de carboni) i els **fotoautòtrofs** (utilitzen matèria inorgànica<sup>13</sup>, per sintetitzar matèria orgànica).

En aquest grup trobem per exemple: Cianobacteris, bacteris del sofre, etc.

En segon lloc, trobem els quimiòtrofs, que utilitzen l'energia alliberada en reaccions de oxidació-reducció<sup>14</sup>, aquí trobem els **quimioheteròtrofs** si utilitzen matèria orgànica com a font de carboni, i els **quimioautòtrofs** si utilitzen la matèria inorgànica.

Els bacteris patògens són quimioheteròtrofs ja que en el nostre cos només poden utilitzar energia provinent de reaccions químiques i utilitzen carboni orgànic que pot provenir de les nostres cèl·lules.

Font de Carboni	Font d'energia	
	Llum (fotòtrofs)	Substrats oxidables (quimiòtrofs)
Matèria orgànica (heteròtrofs)	Fotoheteròtrofs	Quimioheteròtrofs
Matèria inorgànica (autòtrofs)	Fotoautòtrofs	Quimioautòtrofs

Taula 1: Classificació en funció de la font de carboni i la font d'energia

<sup>13</sup> Matèria inorgànica: Compostos que no tenen àtoms de carboni, o, si els tenen, no formen esquelets de carboni.

<sup>14</sup> Reaccions d'oxidació-reducció: Reaccions químiques en les que un compost es redueix ( guanya electrons) i un altre s'oxida (perd electrons).

Un altre factor a tenir en compte, és la utilització de l'oxigen pels seus processos metabòlics, segons aquest criteri trobem:

1. **Anaerobis**, si l'oxigen no intervé en el procés metabòlic. En ocasions, dintre d'aquest grup trobem que poden ser:

- ◆ **Anaerobis facultatiu**, utilitzen l'oxigen si està disponible però no el necessiten per desenvolupar-se ja que es poden desenvolupar per mitjà de fermentacions.
- ◆ **Anaerobis estrictes**, si estan en presència d'oxigen no es poden desenvolupar ja que l'oxigen els resulta tòxic.
- ◆ **Metabolisme fermentatiu**, si l'última molècula que rep els electrons de tota la reacció es una molècula orgànica.

2. **Aerobis**, si l'oxigen intervé en el procés metabòlic.

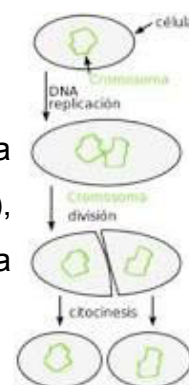
## 1.4. Reproducció

Els bacteris tenen una velocitat de reproducció molt elevada, això els hi permet adaptar-se a una gran varietat de medis i presentar una gran varietat d'espècies.

Troblem dos tipus de reproducció als bacteris, la **asexual** i la **parasexual**.

### Reproducció asexual

Aquest tipus de reproducció consisteix en que els bacteris creixen fins a una certa mida i després es reproduïxen per fissió binària (o bipartició), que consisteix en la divisió de la cèl·lula en dos cèl·lules de la mateixa mida i forma i amb una idèntica informació hereditària.

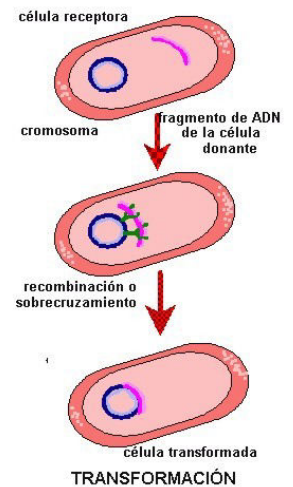


Fotografia 11: Bipartició

## Parasexualitat

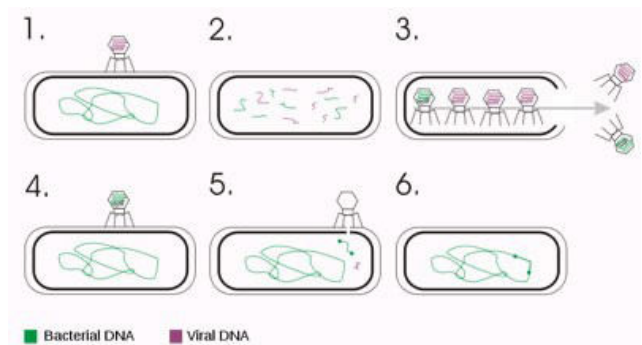
En ocasions, els bacteris poden presentar altres tipus de reproducció en les que s'intercanvia material genètic entre diferents bacteris. Aquests processos són; la transformació, la transducció i la conjugació:

- ◆ **Transformació:** Consisteix en que fragments d'ADN que pertanyen a altres cèl·lules trencades s'introdueixen dins del bacteri i s'introdueixen al ADN bacterià i el recombinen, és a dir, el modifiquen, canviant la seva informació genètica .



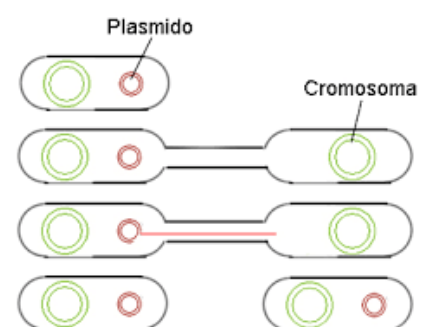
Fotografia 12: Transformació

- ◆ **Transducció:** Un bacteri es atacat per un virus bacteriòfag, aquest introdueix la seva informació genètica a dins, i el bacteri crea noves còpies de l'ADN del virus que després sortiren de la cèl·lula provocant la lisis d'aquesta. Pot passar que el virus porti informació del bacteri degut a un error en l'empaquetament, i quan aquest virus infecta una altre cèl·lula introdueix l'ADN bacterià en comptes del víric.



Fotografia 13: Transducció

- ◆ **Conjugació:** Si una cèl·lula bacteriana presenta el plasmidi F<sup>+</sup>, que és un plasmidi que té informació genètica per formar el pili, la cèl·lula que conte el plasmidi F<sup>+</sup> crea còpies d'aquest fragment d'ADN i el transmet a una altre cèl·lula bacteriana. Pot passar que el plasmidi F<sup>+</sup> s'introdueixi al cromosoma bacterià o que continuï lliure pel citoplasma.



Fotografia 14: Conjugació



## 1.5. Causes de variabilitat bacteriana

Tots els éssers vius, patim canvis a la nostra informació genètica, i poden ser favorables o desfavorables però el factor que fa que en els bacteris ens sembli més evident és la seva elevada velocitat de reproducció que els hi permet adaptar-se ràpidament a un medi degut a la selecció natural.

Els bacteris, com ja hem vist, poden ser molt diversos tant en el metabolisme, en la forma, etc. Aquesta variabilitat es deguda a dos factors clau, l'atzar i les mutacions.

### Mutacions

Una mutació, és un canvi en la informació genètica que, si és favorable, passarà a la descendència, mentre que si no ho és, serà letal per la soca que la posseeixi.

Les mutacions, es poden produir espontàniament per un error aleatori, o poden estar causades per factors externs anomenats agents mutàgens que poden alterar el DNA, per exemple radiacions ionitzants, i substàncies químiques.

Les mutacions més senzilles són les mutacions gèniques, es a dir, es produeixen canvis en la seqüència de nucleòtids d'un gen. Poden ser:

- ◆ **Substitució:** Es canvia un nucleòtid<sup>15</sup> per un altre. El nucleòtid que s'introdueix en la seqüència, pot provocar que es sintetitzi un aminoàcid<sup>16</sup> diferent i com a conseqüència una altre proteïna, però pot ser que aquesta substitució no provoqui cap canvi en la síntesi d'aquest ja que un aminoàcid te diverses combinacions de bases que codifiquen pel mateix aminoàcid.
- ◆ **Inserció:** S'insereix un nucleòtid a la seqüència, i en la proteïna canvien tots els aminoàcids ja que altera la seqüència de llegida de nucleòtids.
- ◆ **Delecció:** S'elimina un nucleòtid, i també alterarà la seqüència i es sintetitzaren diferents aminoàcids.

---

<sup>15</sup> Nucleòtid: Compost orgànic format per una base nitrogenada, una pentosa i àcid fosfòric.

<sup>16</sup> Aminoàcid: Molècula primordial per a la vida, que forma part de les proteïnes.

## L'atzar

L'atzar és una de les causes més comunes de variabilitat. L'atzar pot intervenir en el moment de la bipartició de la cèl·lula. Si en aquest moment es produeix un error de còpia, les dos cèl·lules resultants podran no tenir la mateixa informació genètica i com a conseqüència, no seran idèntiques.

### 1.6. Mecanismes de contagi

Alguns bacteris, no tenen la capacitat de desplaçar-se pel seu compte. Malgrat això, disposen de moltes maneres per viatjar passivament i són les següents:

- ◆ Per mitjà de l'aire. Degut a la seva mida, poden ser transportats en gotes minúscules per l'aire. Un exemple és quan esternudem, que produïm gotetes i poden viatjar bacteris o virus.
- ◆ Per aliments o begudes contaminats. Si l'aliment o beguda ha estat en males condicions de conservació.
- ◆ Contacte directe. Els bacteris, al estar en gairebé qualsevol superfície, ens poden infectar si per exemple tenim una ferida oberta o per zones del cos on no ens protegeix la pell.
- ◆ Per vectors animals. Pot passar que un animal o insecte sigui portador de un bacteri o virus, però no li produeix cap mal, només ho transporta i si aquest animal entra en contacte directe amb nosaltres pot transmetre'ns el bacteri o virus.

## 2. Bacteris utilitzats en aquest projecte

### 2.1. *Serratia Marcescens*

És un bacteri del tipus dels bacils, gramnegatiu de la família *Enterobacteriaceae*. És anaeròbia facultativa. De vegades és patògena i pot provocar conjuntivitis, infeccions als ronyons i vies urinàries i també infeccions respiratòries, meningitis, entre d'altres.

És un bacteri que creix i es reproduïx a temperatura ambient, ja que té un gran interval de temperatures on pot créixer, des de 3,5° C fins als 40° C i a uns nivells de pH entre 5 i 9.



Fotografia 15: *Serratia Marcescens*

Aquests freqüentment són resistents a antibiòtics degut a que tenen gens cromosòmics o plasmídics que codifiquen enzims de resistència. Aquest bacteri presenta una resistència natural a les penicil·lines i cefalosporines.

### 2.2. *Bacillus Cereus*

És un bacil grampositiu de la família *Bacillaceae* que té la capacitat de desplaçar-se. La seva temperatura òptima és de 30°C a 37°C però el seu creixement es pot produir en un ampli interval de temperatures, des de els 5°C fins els 55°C. Aquest bacteri pot produir espores (veure annex 2).

És anaerobi facultatiu i causa enverinament al consumir-se.



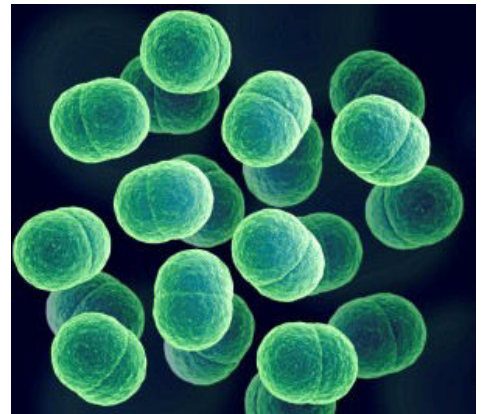
Fotografia 16: *Bacillus Cereus*

### 2.3. *Staphylococcus Epidermidis*

És un bacteri de la família dels *Staphylococcus*, és grampositiu i no té la capacitat de moure's.

Al igual que *Bacillus Cereus* és anaerobi facultatiu, que pot créixer mitjançant la respiració aeròbica o per fermentació.

Aquest bacteri posseeix una capa externa de polisacàrids, això contribueix a impedir que els antibiòtics entrin a l'interior cel·lular i dificultant el tractament.



Fotografia 17: *Staphylococcus Epidermidis*

Aquesta capa provoca que el bacteri es pugui adherir molt bé al plàstic per tant una de les infeccions habituals es produeix quan s'introdueixen peces de plàstic en alguna part del cos, com per exemple pròtesis. També es pot introduir al nostre cos per mitjà d'una ferida.

### 3. Antibiótics

Els antibiótics, són molt comuns avui en dia, i amb recepta mèdica els podem aconseguir per tractar algunes infeccions o malalties. A l'antiguitat, s'utilitzaven plantes naturals per combatre diferents malalties, malgrat no sabien exactament el que feien aquestes plantes.

El primer antibiótic que va ser descobert va ser la penicil·lina per Alexander Fleming el 1928, quan una placa que estava cultivant de *Staphylococcus Aureus* va ser contaminada per un fong del gènere *Penicillium* i va observar que al voltant d'aquesta colònia del fong no creixien microorganismes.

Els antibiótics són compostos que sintetitzen alguns organismes i que inhibeixen el creixement dels bacteris, actuant en determinades fases del seu metabolisme.

Els antibiótics han de tenir tres propietats per ser utilitzats com a medicaments:

- ◆ Han de ser efectius a concentracions baixes.
- ◆ Han de ser poc o gens tòxiques per les cèl·lules humanes.
- ◆ Han d'actuar contra el bacteri específic que està causant la infecció.

### 3.1. Classificació dels antibiòtics

Els antibiòtics, es poden classificar de diverses maneres: segons la seva procedència, segons els efectes que produeixen als bacteris, i segons el mecanisme d'actuació i els principis actius.

#### Procedència

Segons la procedència trobem que poden ser:

- ◆ **Naturals:** Són aquells sintetitzats per microorganismes a la natura. Per exemple l'estreptomina, produïda pel bacteri *Streptomyces sp*, i que s'utilitza per tractar la tuberculosi.
- ◆ **Sintètics:** Són aquells sintetitzats artificialment al laboratori. Un exemple són les sulfamides.
- ◆ **Semisintètics:** Són antibiòtics descoberts a la natura, però modificats per millorar algunes de les seves característiques. Per exemple que siguin menys tòxiques pel nostre organisme, que sigui més efectiva, etc. Per exemple trobem l'amoxicil·lina, que es una penicil·lina.

#### Mecanisme d'actuació

Els antibiòtics poden actuar contra diferents estructures del bacteri com poden ser la paret cel·lular, la membrana plasmàtica, els àcids nucleics o sobre els ribosomes.

Segons els efectes que produeixen trobem que poden ser:

- **Bacteriostàtics:** Impedeixen la reproducció dels bacteris.
- **Bactericides:** Mata directament els bacteris.

## Paret cel·lular

Alguns antibiòtics actuen inhibint la síntesis de les estructures de la paret cel·lular per exemple el peptidoglicà, que és el principal component de la paret i com a conseqüència s'allibera tot el medi intracel·lular cap a l'exterior i el bacteri mor. Els principis actius que afecten a la paret cel·lular són; **Carbapenem:** *Doripenem*, **Cefalosporines:** *Cefalotina*, **Glucopeptids:** *Vancomicina*, **Penicilines:** *Amoxicilina*.

## Membrana plasmàtica

Els antibiòtics que actuen contra aquesta estructura actuen inhibint la síntesis dels constituents d'aquesta membrana o també poden reaccionar amb els components d'aquesta membrana i afectar a la seva funció. Els principis actius d'aquests tipus d'antibiòtics són; **Lipopeptids:** *Daptomicina*, **Polipeptids:** *Polimixina B*.

## Ribosomes

Aquests tipus d'antibiòtics s'adhereixen a una subunitat del ribosoma, impedit la síntesi de proteïnes i enzims i com a conseqüència pot afectar a les seves funcions vitals i terminant amb la mort bacteriana. Poden bloquejar la síntesi d'ADN, ARN ribosomes o enzims que actuen en la síntesi de proteïnes. La meitat dels antibiòtics actuen per inhibició dels ribosomes.

Els principis actius són: **Aminoglucòsids:** *Estreptomicina*, **Macròlids:** *Clarithromicina*, **Tetraciclines:** *Tetraciclina*, **Sulfonamides:** *Sulfacetamida*, **Quinolones:** *Norfloxacino*.

## 4. Antibiótics utilitzats

### 4.1. Amoxicil·lina

És un antibiòtic derivat de la penicil·lina, concretament una amino penicil·lina. Actua contra tots tipus de bacteris (tant grampositius com gramnegatius). Per això es un dels antibiòtics mes utilitzats.

Va ser testada per primera vegada el 1974.

L'Amoxicil·lina pot provocar com a efectes secundaris febre, nàusees, vòmits o diarrees.



Fotografia 18: Amoxicil·lina amb àcid clavulanic

### Mecanisme d'acció

Interromp la síntesi de peptidoglicà, per tant la membrana cel·lular no es pot sintetitzar correctament i provoca la consegüent mort del bacteri.

Concretament, l'Amoxicil·lina que he utilitzat conté també àcid clavulànic, que ajuda a vèncer alguns tipus de resistència a antibiòtics i per tant és més eficaç.



## 4.2. Claritromicina

És un antibiòtic que pertany al grup dels *Macròlids* que s'utilitza per al tractament d'infeccions de la pell, les mames i les vies respiratòries.

### Mecanisme d'actuació

Actua unint-se a la subunitat 50S del ribosoma i inhibeix la síntesi de proteïnes. Això provoca que el bacteri no pugui sintetitzar proteïnes vitals o enzims i finalment acaba morint.

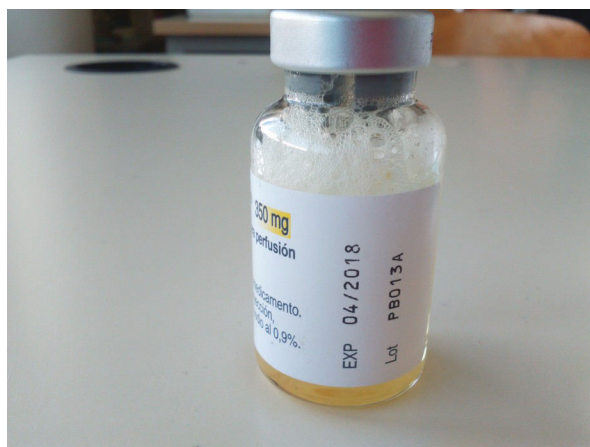


Fotografia 19: Claritromicina

## 4.3. Daptomicina

La Daptomicina és un antibiòtic d'ús hospitalari. És un antibiòtic lipopeptídic que conté un nucli hidrofílic, es a dir, és soluble en aigua (es tracta d'un lipopèptid de 13 aminoàcids) i una cola lipofílica, es un derivat semisintètic a partir de *Streptomyces roseosporus*.

És un antibiòtic d'ús clínic, és solament eficaç contra bacteris grampositius i té un efecte bactericida en una gran varietat de bacteris grampositives incloent les que són resistents a altres antibiòtics.



Fotografia 20: Daptomicina

## Mecanisme d'actuació

La Daptomicina és activa només en front de bacteris en fase estacionària, es a dir, la fase on no s'estan reproduint.

Actua inserint-se a la membrana citoplasmàtica de bacteris grampositius, creant uns porus dependents d'ions calci ( $\text{Ca}^{2+}$ ), i com a conseqüència allibera alguns components cel·lulars a l'exterior.

Aquest procés provoca una expulsió d'ions potassi que dona lloc a que la membrana es despolimeritzi<sup>17</sup> i la mort cel·lular a causa de la inhibició de ADN, ARN i la síntesi de proteïnes.

La mort del bacteri no comporta la lisis cel·lular per tant al produir una menor alliberació de productes de degradació bacteriana pot tenir avantatges pel tractament d'alguns processos per exemple, sepsis<sup>18</sup> o meningitis<sup>19</sup>.

---

<sup>17</sup> Despolimerització: procés pel qual molècules de baix pes molecular ja unides, es separen.

<sup>18</sup> Sepsis: Quan s'alliberen substàncies a la sang per combatre una infecció, pot provocar una inflamació que s'estén a tot l'organisme, pot provocar la mort de l'organisme.

<sup>19</sup> Meningitis: És una infecció de les membranes que cobreixen el cervell i la medul·la espinal.

## 5. Tècniques utilitzades

### 5.1. Antibiograma

Un antibiograma, és una tècnica utilitzada als laboratoris de microbiologia que serveix per comprovar l'eficàcia d'un antibiòtic enfront d'un determinat bacteri, mesurant el radi d'inhibició.

Aquesta tècnica, consisteix en el següent procés:

1. S'agafa una mostra d'un bacteri en medi de cultiu líquid i es fica a una placa amb medi nutritiu.



Fotografia 21: Antibiograma

2. Amb unes pinces s'agafen unes circumferències, normalment de paper, es mullen a un antibiòtic i es fiquen a diferents zones de la placa. També s'agafa una circumferència que es mulla en aigua, com a control.

3. La placa es deixa a una temperatura en la que el bacteri pugui créixer i reproduir-se i s'espera 1 dia.

4. S'observen els radis d'inhibició i es mesuren.

Si no s'observa cap radi d'inhibició això vol dir que aquest antibiòtic no és efectiu contra l'antibiòtic.

Quant més gran sigui el radi d'inhibició, es pot afirmar que aquest antibiòtic és més efectiu.

### 5.2. Sembrada de bacteris

Aquesta tècnica s'utilitza per comprovar la presència d'un determinat microorganisme a una superfície determinada.

Jo he utilitzat dos tipus de sembrada, sembrada per estria simple fins l'esgotament i una sembrada creuada.

### 5.3. Tinció de gram

Aquesta tinció va ser desenvolupada per Hans Christian Gram (1853-1938).

La tinció de gram és una tècnica utilitzada als laboratoris de microbiologia i s'utilitza per a classificar els bacteris segons la composició de la seva paret bacteriana.

El procediment d'aquesta tinció és el següent:

1. Agafar les mostres pertinents del bacteri a estudiar.
2. S'agafa un portaobjectes i s'afegeix una gota d'aigua.
3. S'agafa una mostra d'aquest bacteri del medi de cultiu i s'estén sobre aquesta gota i es fixa amb calor.
4. S'afegeix cristall violeta<sup>20</sup> i esperem un minut, després rentem amb aigua per eliminar el cristall violeta. El cristall violeta tenyeix a tots els bacteris, tant grampositius com gramnegatius.
5. S'afegeix lugol<sup>21</sup> i deixem 30 segons, aquest és el que fixara el colorant, formant uns complexos insolubles amb el cristall violeta que a més, intensifica el color del colorant.
6. S'afegeix alcohol 96 i després de 15 segons s'esbandeix abundantment amb aigua. L'alcohol dissol la capa de lípids de les parets dels bacteris gramnegatius, d'aquesta manera el complex cristall-violeta amb el Lugol es separa de la capa de peptidoglicà. Mentre que la paret de les grampositives, que és més gran, manté el color al seu interior.
7. Per últim s'afegeix safranina durant 2 minuts aproximadament. Aquest és el que tenyirà els bacteris gramnegatius.

---

<sup>20</sup> Cristall violeta: Grup de compostos que s'utilitzen com a indicadors de pH o com a colorants.

<sup>21</sup> Lugol: Dissolució de iode ( $I_2$ ) i iodur de potassi (KI).

## 6. Part pràctica

### 6.1. Part experimental 1

L'objectiu d'aquesta part experimental és el d'estudiar l'eficàcia de la Daptomicina enfront d'antibiòtics subministrats sota recepta mèdica: Amoxicil·lina i Claritromicina, i també observar la presència de soques resistents.

Per tal de que s'entengui millor, he dividit aquesta practica en 2 parts.

#### Pràctica N°1

##### Problema

Els antibiòtics d'ús exclusiu hospitalari són més eficaços que els administrats a les farmàcies sota prescripció mèdica?

##### Objectiu

Comparar l'eficàcia d'un antibiòtic d'ús exclusiu clínic (Daptomicina) amb els que es venen sota prescripció mèdica (Amoxicil·lina i Claritromicina) pels bacteris: *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus Epidermidis* i *Serratia Marcescens*.

##### Hipòtesis

Potser la Daptomicina serà més eficaç enfront els bacteris *Staphylococcus Epidermidis*, *Bacillus Cereus* i *Serratia Marcescens*.

##### Material

- |                                |                                   |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| - Amoxicil·lina                | - Encenedor d'alcohol             |
| - Daptomicina                  | - Encenedor                       |
| - Claritromicina               | - Nansa de sembra                 |
| - 12 plaques de petri amb AGAR | - Tub 3 ml <i>Bacillus Cereus</i> |

- Micropipeta
- Estufa de cultiu
- Guants
- Pinceres metàl·liques
- Gradeta
- Tub 3 ml *Staphylococcus Epidermidis*
- Tub 3ml *Serratia Marcescens*
- Circumferències de paper
- Alcohol 96
- Microscopi òptic



Fotografia 22: Antibiòtics, sèrum i xeringues



Fotografia 23: Micropipeta

## Procediment

1. Agafem 12 plaques de petri amb AGAR nutritiu, i amb retolador permanent les identifiquem.
2. A la part darrera de la placa identifiquem la posició on anirà cada antibiòtic.
3. Agafem el tub on es troben els bacteris, el movem una mica perquè no quedin precipitats i es trobin en suspensió. Agafem 1 ml de cada bacteri amb una micropipeta i el fem a la seva corresponent placa i girem una mica la placa per tal de que el líquid arribi a cobrir tota la placa.

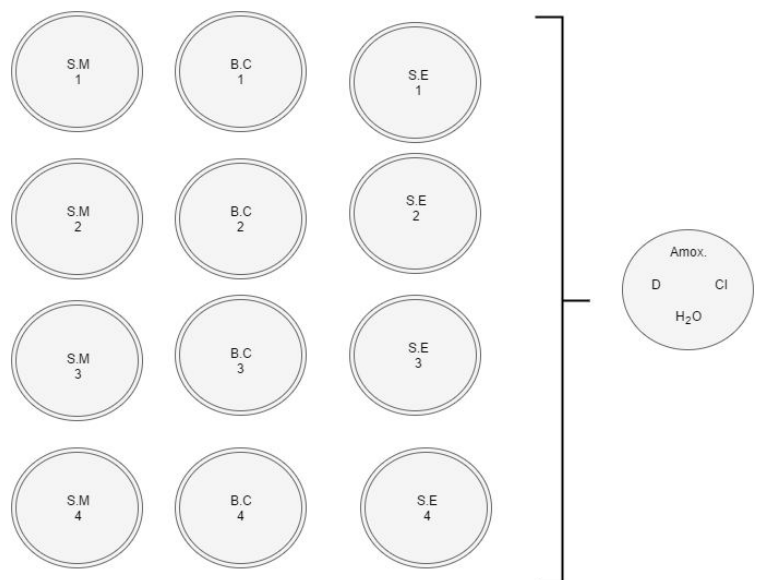


Figura 1. Numeració de les plaques

4. Agafem una mostra de cada antibiòtic i els fem a plaques de plàstic buides.

5. Foradem un paper amb la foradadora i amb aquestes circumferències que obtenim les agafem amb unes pinces metàl·liques prèviament esterilitzades, les mullem al antibiòtic i a continuació les col·loquem a les plaques de petri amb agar nutritiu que estaven identificades.

6. Repetim el procés a totes les plaques i amb tots els antibiòtics.

7. Fiquem les mostres de *Bacillus Cereus* i *Staphylococcus Epidermidis* a l'estufa de cultiu a una temperatura de 37°C i *Serratia Marcescens* a temperatura ambient.



Fotografia 24: Mullant el paper a l'antibiòtic

8. Esperem vint-i-quatre hores i observem els resultats.

9. Al dia següent agafem les plaques i mesurem amb un regle el radi que apareix de la circumferència que es forma al voltant dels cercles per tal de determinar la seva eficàcia i comparar.

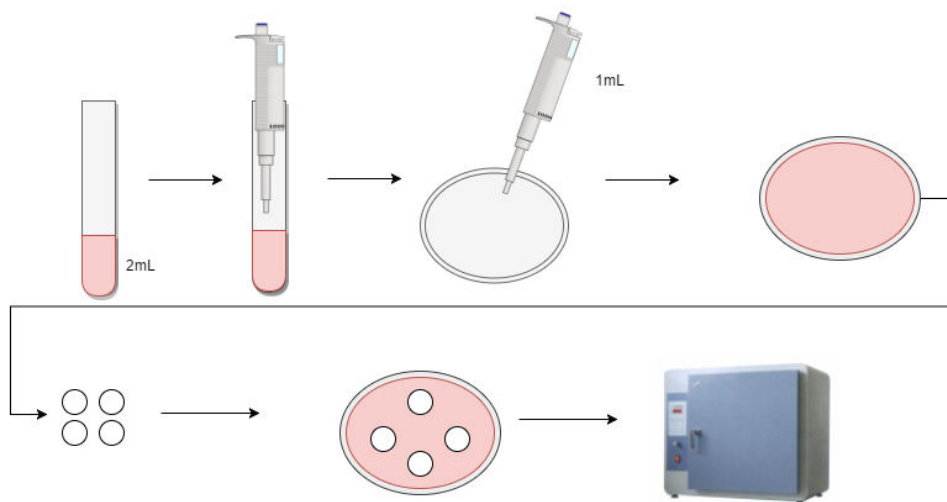


Figura 2: Antibiograma

## Resultats

### ***Bacillus Cereus***

A les plaques 1, 2 i 3 no es va repartir uniformement la mostra per tota la placa amb agar nutritiu. A la placa 4 la mostra s'ha repartit uniformement. L'aigua no presenta cap radi a cap placa ja que és el control.

A totes les plaques de *Bacillus Cereus* es possible mesurar els radis que han provocat la Daptomicina, l'Amoxicil·lina i la Claritromicina.

A les plaques número 1 i 2 s'observen una colònia dins del radi d'inhibició de l'Amoxicil·lina.

### ***Staphylococcus Epidermidis***

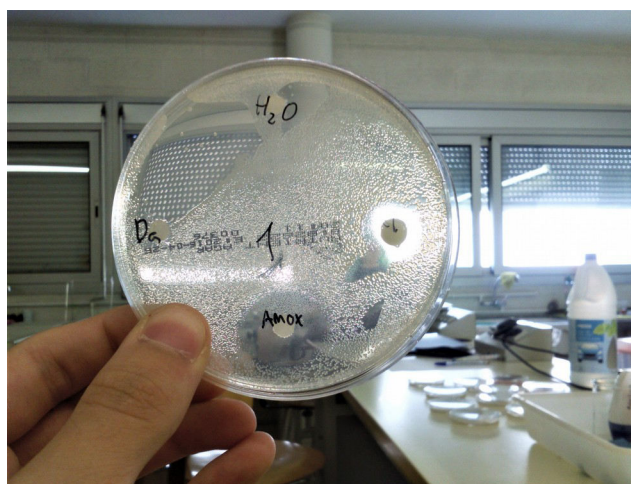
A la placa 1 de *Staphylococcus Epidermidis* observem dos radis d'inhibició, el de l'Amoxicil·lina i el de la Claritromicina. La Daptomicina no presenta radi d'inhibició.

A les plaques 2, 3 i 4 de *Staphylococcus Epidermidis* podem observar i mesurar els tres radis d'inhibició.

A la placa número 1, en el radi d'inhibició de l'Amoxicil·lina, s'observen moltes petites colònies de *Staphylococcus Epidermidis*.



Fotografia 25: Placa de *Bacillus Cereus* 4



Fotografia 26: Placa 1 de *Staphylococcus Epidermidis*



### Serratia Marcescens

A la placa 1 de *Serratia Marcescens* no es va escampar suficient, s'observen colònies separades de *Serratia Marcescens*, només la Claritromicina presenta radi d'inhibició.

A la placa 2 de *Serratia Marcescens*, només es mesurable el radi de l'Amoxicil·lina i de la Claritromicina.



Fotografia 27: Placa de *Serratia Marcescens* 4

A les plaques 3 i 4 de *Serratia Marcescens* es poden mesurar els radis només de la Claritromicina i de l'Amoxicil·lina.

No s'observen colònies resistents de *Serratia Marcescens*.

### Sensibilitat

Una taula de sensibilitat, ens indica si un determinat antibiòtic provoca algun efecte en un bacteri específic. Si és sensible (X), si no és sensible (-).

	<i>Bacillus Cereus</i>				<i>Serratia Marcescens</i>				<i>Staphylococcus Epidermidis</i>				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Aigua	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoxicil·lina	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Claritromicina	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Daptomicina	X	X	X	X	-	-	-	-	-	X	X	X	X

Taula 2: Sensibilitat dels bacteris als antibiòtics utilitzats

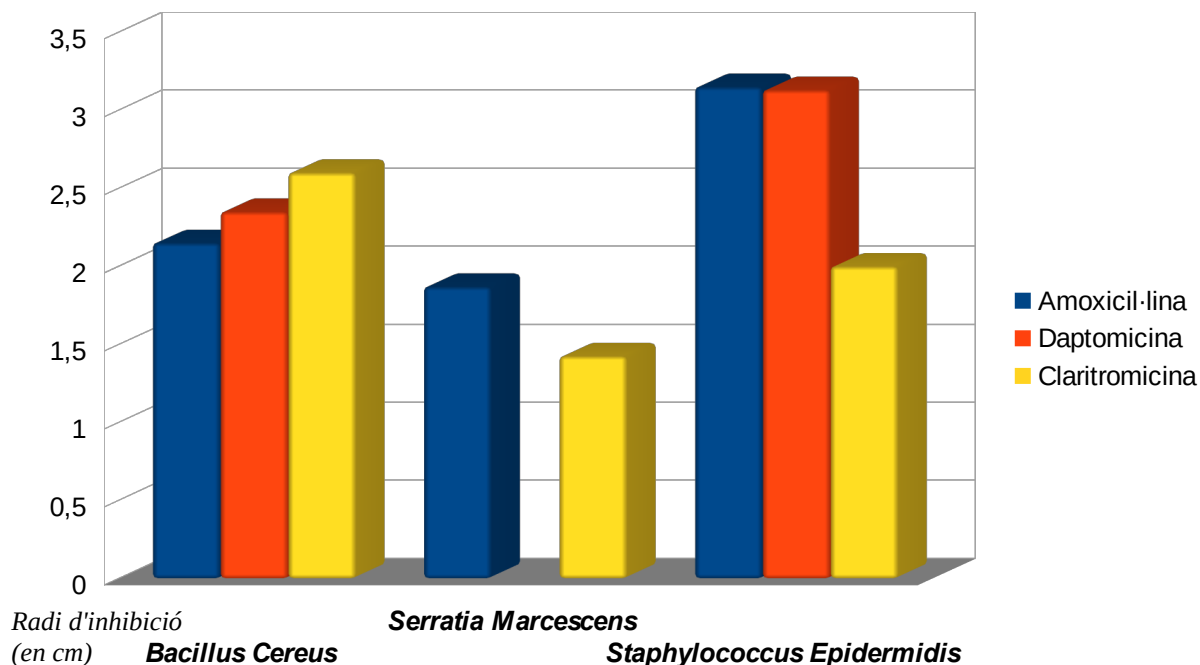
## Radis d'inhibició

	<i>Bacillus Cereus</i>				<i>Serratia Marcescens</i>				<i>Staphylococcus Epidermidis</i>			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
H <sub>2</sub> O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amoxicil·lina	2	2	2.2	2.4	-	1.4	2	2.2	1.9	4	2.7	4
Claritromicina	-	-	2.8	2.4	1.5	1.2	1.4	1.6	1.5	2.6	1.5	2.4
Daptomicina	2.6	2.2	2.4	2.2	0	0	0	0	-	2.8	3.2	3.4

Taula 3: Radis d'inhibició (en cm) de cada placa amb cada antibiòtic

	<i>Bacillus Cereus</i>	<i>Serratia Marcescens</i>	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>
	Plaques 1-4	Plaques 1-4	Plaques 1-4
Aigua	0	0	0
Amoxicil·lina	2.15	1.87	3.15
Claritromicina	2.6	1.425	2
Daptomicina	2.35	0	3.13

Taula 4: Mitjana dels radis d'inhibició (en cm) dels diferents antibiòtics



Gràfic 1: Eficàcia de cada antibiòtic per cada especie bacteriana

## Conclusions

A la taula de sensibilitat, trobem que no són sensibles a l'aigua, ja que és el control i no té poder bactericida. També el bacteri *Serratia Marcescens* no és sensible a la Daptomicina, degut a que aquest bacteri es gramnegatiu, i la Daptomicina només actua contra bacteris grampositius.

A la taula 2, que ens indica el radi d'inhibició i que està lligat a l'eficàcia del antibiòtic, observem que per *Bacillus Cereus*, el radi d'inhibició més gran ha sigut el de la Claritromicina, per tant, podem afirmar que la Claritromicina ha resultat més efectiva que l'Amoxicil·lina i la Daptomicina enfront aquest bacteri.

L'Amoxicil·lina, ha resultat ser més efectiva en front del bacteri *Serratia Marcescens*, i en aquest cas la Daptomicina no feia cap efecte en aquest bacteri.

L'Amoxicil·lina també ha resultat més efectiva enfront de *Staphylococcus Epidermidis*, encara que presentava moltes colònies resistents. També la Daptomicina gairebé ha sigut igual d'efectiva per aquest bacteri.

En conclusió, la Daptomicina, que és l'antibiòtic d'ús exclusiu clínic no presenta una major eficàcia que l'Amoxicil·lina i la Claritromicina enfront aquests bacteris estudiats i la Daptomicina no presenta colònies resistents dins del radi d'inhibició.

## Pràctica N°2

### Problema

Els antibiòtics d'ús exclusiu hospitalari presentaran menys soques bacterianes resistents enfront els antibiòtics administrats sota recepta mèdica?

### Objectiu

Comparar la presència de soques resistents dels bacteris *Bacillus Cereus*, *Serratia Marcescens* i *Staphylococcus Epidermidis* en els antibiòtics Daptomicina, Amoxicil·lina i Claritromicina.

### Hipòtesis

Potser la Daptomicina presentara menys soques resistents de *Bacillus Cereus*, *Serratia Marcescens*, *Staphylococcus Epidermidis* enfront l'Amoxicil·lina i la Claritromicina.

### Material

- |                                |  |
|--------------------------------|--|
| - Amoxicil·lina                | - Encenedor d'alcohol                            |
| - Daptomicina                  | - Encenedor                                      |
| - Claritromicina               | - Nansa de sembra                                |
| - 12 plaques de petri amb AGAR | - 4 plaques de <i>Bacillus Cereus</i>            |
| - Micropipeta                  | - 4 plaques de <i>Staphylococcus Epidermidis</i> |
| - Estufa de cultiu             | - 4 plaques de <i>Serratia Marcescens</i>        |
| - Guants                       | - Circumferències de paper                       |
| - Pinces metàl·liques          | - Alcohol 96                                     |
| - Gradeta                      | - Microscopi òptic                               |

## Procediment

1. Per a cada bacteri, agafem una mostra de les colònies més properes a cada antibiòtic o colònies que estiguin dins del radi d'inhibició.

2. Aquestes mostres de bacteris les agafem amb una nansa de sembra i les cultivem en 2 ml de medi de cultiu líquid. Identifiquem cada tub amb el nom del bacteri, l'antibiòtic i la placa a la qual pertany.

3. Fiquem a l'estufa de cultiu els tubs que contenen *Bacillus Cereus* i *Staphylococcus Epidermidis* i les de *Serratia Marcescens* les deixem a temperatura ambient. Esperem un dia.

4. Amb una micropipeta agafem 1 ml del cultiu líquid i la fem amb una placa amb AGAR nutritiu, estenem bé per tal que el líquid quedi ben repartit per la placa.

5. Agafem un paper i fem circumferències de paper. Per a cada placa, agafem 4 circumferències de paper, 3 les mullem al antibiòtic al qual les colònies pertanyen i l'altre el mullem a l'aigua com a control.

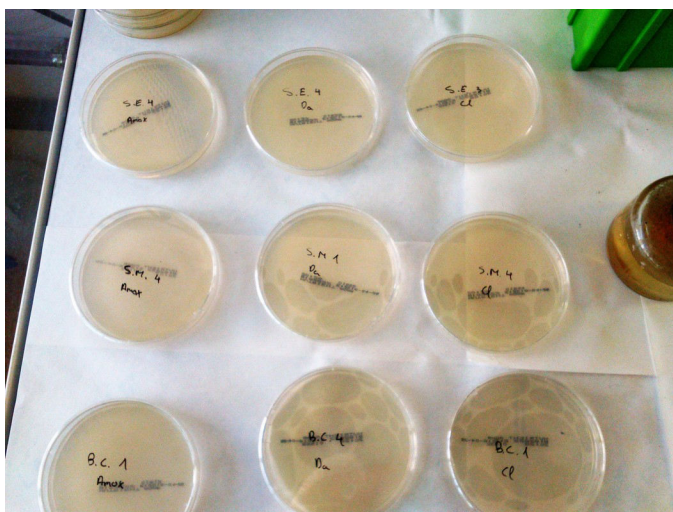
6. Repetim aquest procés amb els diferents antibiòtics.

7. Fiquem les plaques de *Staphylococcus Epidermidis* i *Bacillus Cereus* a l'estufa de cultiu i les plaques de *Serratia Marcescens* les deixem a temperatura ambient.

8. Esperem un dia, observem i mesurem els radis d'inhibició i comparem amb els anteriors.



Fotografia 28: S'agafen mostres més properes a l'antibiòtic. Un exemple seria la part més vermella.



Fotografia 29: Plaques previament numerades

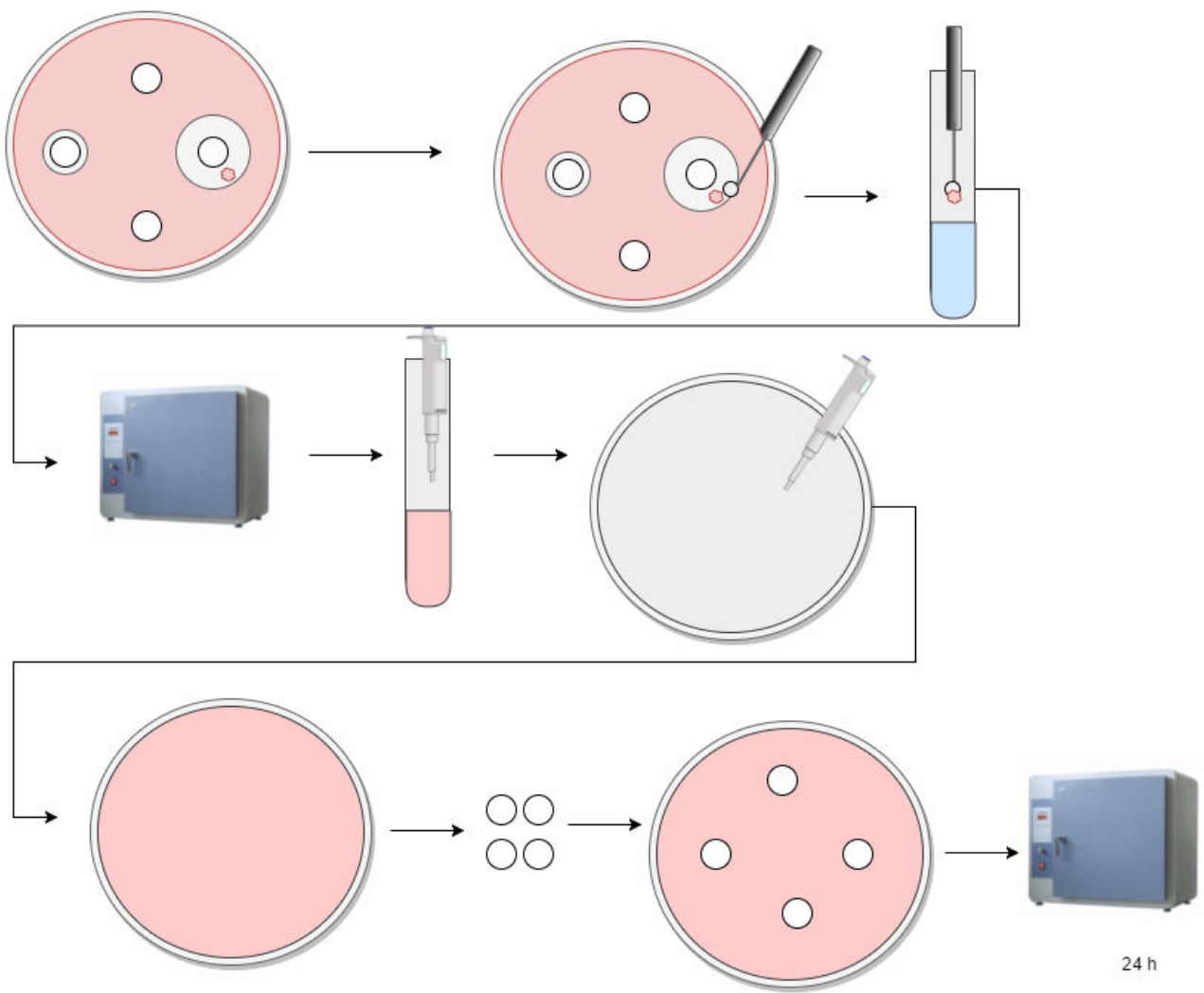


Figura 3: Antibiograma a partir de colonies resistents

## Resultats

### Daptomicina

		Aigua
<i>Staphylococcus Epidermidis</i> 4	0,77 cm	0
<i>Bacillus Cereus</i> 4	0,43 cm	0
<i>Serratia Marcescens</i> 1	0	0

Taula 5: Radis d'inhibició de la Daptomicina

Es pot observar que el radi d'inhibició ha disminuït molt comparat amb la pràctica 1.

### Claritromicina

		Aigua
<i>Staphylococcus Epidermidis</i> . Placa 3	1,33 cm	0
<i>Bacillus Cereus</i> . Placa 1	1,1 cm	0
<i>Serratia Marcescens</i> . Placa 4	1,3 cm	0

Taula 6: Radis d'inhibició de la Claritromicina

Els radis d'inhibició han disminuït comparat amb la pràctica 1.

### Amoxicil·lina

		Aigua
<i>Staphylococcus Epidermidis</i> Placa 4	2,1 cm	0
<i>Bacillus Cereus</i> Placa 1	-	0
<i>Serratia Marcescens</i> Placa 4	1,5 cm	0

Taula 7: Radis d'inhibició de l'Amoxicil·lina

Els radis d'inhibició de l'Amoxicil·lina no han disminuït molt.

A la placa de *Bacillus Cereus* amb Amoxicil·lina s'observen moltes colònies separades entre sí i no s'observa cap radi d'inhibició

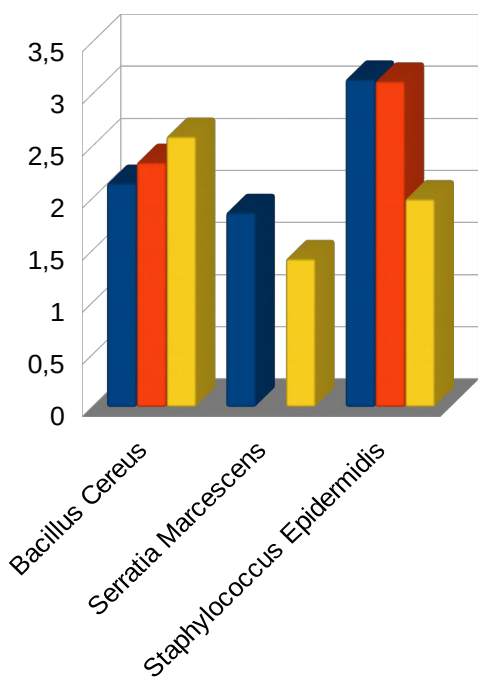


Fotografia 30: Placa de *Bacillus Cereus* amb Amoxicil·lina

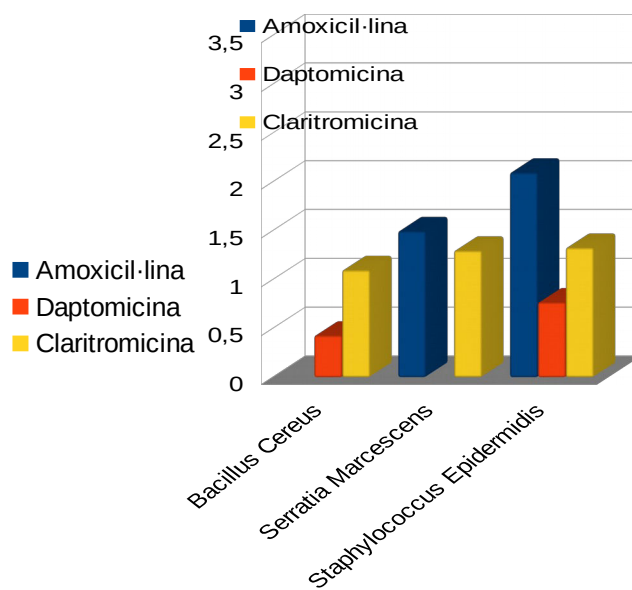
## Conclusions part pràctica 2

La placa de *Bacillus Cereus* amb Amoxicil·lina es va contaminar de fongs, per tant no es pot mesurar el radi d'inhibició.

Els radis d'inhibició dels tres antibiòtics han disminuït, això vol dir que els bacteris s'han fet resistents.



Gràfic 2: Eficàcia dels antibiòtics a la part pràctica 1



Gràfic 3: Eficàcia dels antibiòtics a la part pràctica 2

Comparant aquests dos gràfics, s'observa com disminueix molt el radi d'inhibició.



### ***Bacillus Cereus***

Al no poder mesurar el radi d'inhibició de *Bacillus Cereus* amb Amoxicil·lina a la part pràctica 2, no es pot calcular quant ha disminuït el radi d'inhibició.

El radi d'inhibició de la Claritromicina disminueix en un 57,77%.

El radi d'inhibició de la Daptomicina disminueix en un 81,7%

### ***Staphylococcus Epidermidis***

El radi d'inhibició de l'Amoxicil·lina disminueix en un 33,33%

El radi d'inhibició de la Claritromicina disminueix en un 33,5%

El radi d'inhibició de la Daptomicina disminueix en un 75,4%

### ***Serratia Marcescens***

El radi d'inhibició de l'Amoxicil·lina disminueix en un 19,7%

El radi d'inhibició de la Claritromicina disminueix en un 8,77%

## Conclusions finals de la part experimental 1

Com podem observar a les taules dels radis d'inhibició, si comparem els de la part pràctica 1 amb els de la part pràctica 2, observem que el radi d'inhibició clarament és més petit.

Això confirma que els bacteris han establert una resistència enfront aquests antibiòtics específics, per tant l'antibiòtic no és tan efectiu, malgrat també cal tenir en compte que els antibiòtics van ser utilitzats en un període d'una setmana i la Daptomicina només era efectiva al màxim durant tres dies, per tant no podem saber amb suficient certesa si aquest factor ha pogut influir en la reducció del radi d'inhibició per la Daptomicina.

Per *Serratia Marcescens* la Claritromicina és la que s'ha reduït menys per tant la Claritromicina és capaç de presentar menys resistència enfront aquest bacteri.

Per *Staphylococcus Epidermidis* l'Amoxicil·lina és la que s'ha reduït menys i per tant és la que es capaç de presentar menys resistència.

Per *Bacillus Cereus* la Claritromicina és la que es redueix menys per tant no presentarà tanta resistència en comparació amb la Daptomicina.

## 6.2. Part experimental 2

En aquesta part experimental, el meu objectiu és conèixer tècniques de sembra de bacteris.

### Objectiu

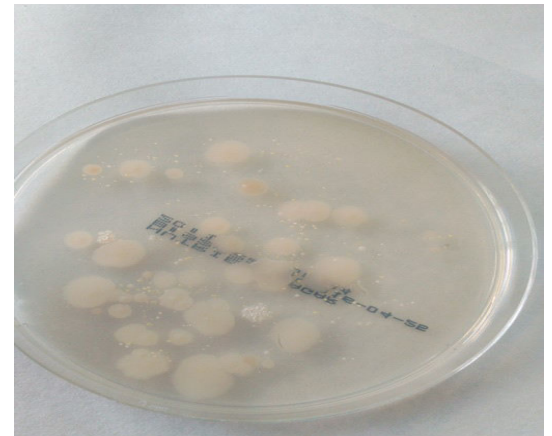
Estudiar i posar en pràctica els diferents tipus de sembra que s'utilitzen a un laboratori de microbiologia.

### Material

- Nansa de sembra
- Bastonet de cotó
- Mostra de bacteris agafada d'una superfície
- 3 Plaques de petri
- Estufa de cultiu
- Encenedor d'alcohol
- Tub amb medi de cultiu líquid

### Procediment

1. Amb el bastonet de cotó, agafem d'una superfície bruta una mostra i la estenem sobre una placa de petri.
2. Fiquem la placa a l'estufa de cultiu i esperem 24 hores.
3. Observem les colònies que han crescut i escollim una que tingui la morfologia d'un bacteri.
4. Encenem un encenedor d'alcohol per tal de crear un ambient d'esterilitat.
5. Amb la nansa de sembra, agafem la colònia amb molt de compte i la fem al tub amb medi de cultiu líquid. Esperem 24 hores.



Fotografia 31: Placa contaminada de la barana del pati



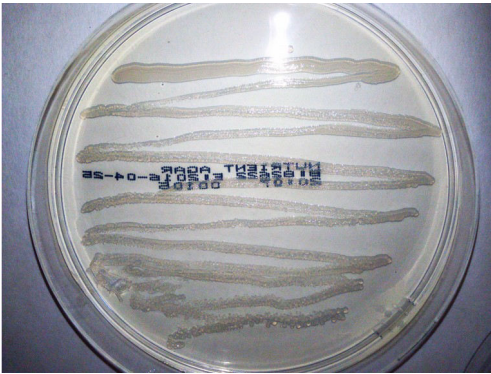
Figura 4: Sembrada fins l'esgotament i sembrada creuada

6. Agafem la nansa de sembra i la mullem al tub amb el medi de cultiu i l'estenem a una placa anant d'una punta cap a una altra fins l'esgotament.

7. Agafem la nansa de sembra, la mullem al tub i l'estenem fent línies, primer en horitzontal i després en vertical.

8. Fiquem a l'estufa de cultiu i esperem 24 hores i observem.

## Resultats



Fotografia 32: Sembra fins l'esgotament



Fotografia 33: Sembra creuada

### 6.3. Part experimental 3

En aquesta part pràctica he fet una tinció de gram per tal d'esbrinar si la mostra que he agafat era de bacteris grampositius o gramnegatius i determinar també la seva morfologia.

#### Objectiu

Aprendre tècniques de classificació de bacteris en un laboratori de microbiologia, en aquest cas utilitzant com a criteri la composició de la paret bacteriana.

#### Material

- Nansa de sembra
- Placa contaminada
- Pinces de fusta
- Encenedor d'alcohol
- Portaobjectes
- Aigua destil·lada
- Cristall violeta
- Lugol
- Etanol
- Safranina
- Oli d'immersió
- Microscopi òptic

#### Procediment

1. Agafem mostres d'una superfície i contaminem una placa.
2. Fiquem aquesta placa a la estufa de cultiu i esperem un dia a que creixin bacteris.
3. Escollim una colònia que tingui la morfologia d'una colònia bacteriana.
4. Fiquem una gota d'aigua a un portaobjectes.
5. Agafem una part de la colònia del bacteri i l'estenem sobre aquesta gota i amb l'ajuda d'un encenedor d'alcohol fixem aquesta colònia amb calor.
6. Afegim cristall violeta i esperem un minut, després rentem amb abundant aigua per eliminar el cristall violeta.
7. Afegim Lugol i deixem 30 segons. Esbandim amb aigua.



Fotografia 34: Colònia per fer la tinció de gram

8. S'afegeix alcohol 96 i després de 15 segons s'esbandeix abundantment amb aigua.

9. Finalment, s'afegeix safranina durant 2 minuts aproximadament.

## Resultats

Al portaobjectes s'observa que els bacteris tenyits són de color rosa.



Fotografia 35: Bacteris tenyits

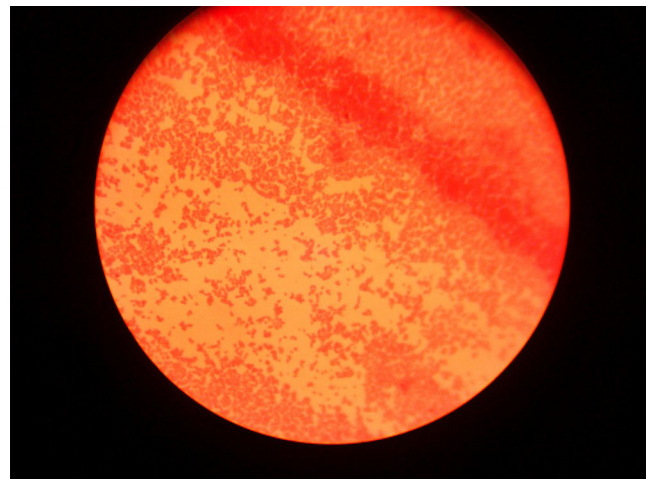
Al observar-ho amb el microscopi òptic observem que tenen una forma de rodona, i alguns estan agrupats en parelles o en cadenes.

També s'observa que són de color rosa.

## Conclusions

Els bacteris, tenen forma rodona per tant són cocs i es troben en totes les seves possibles variacions: diplococs, estreptococs, estafilococs.

Al ser de color rosa, malgrat a la fotografia 36 no s'observa bé, ens indica que són gramnegatius.



Fotografia 36: Bacteris tenyits

## 7. Conclusions finals i recomanacions

Els meus objectius principals d'aquest treball eren:

- ◆ Comparar l'eficàcia de la Daptomicina enfront l'Amoxicil·lina i la Claritromicina.
- ◆ Estudiar la presència de soques bacterianes resistents a la Daptomicina.

Primer, la Daptomicina no ha resultat ser més efectiva que l'Amoxicil·lina i la Claritromicina en aquest estudi. Potser degut per una part a que la Daptomicina un cop preparada la dissolució només pot ser utilitzada uns dies després, i per tant no és tan efectiva com al principi, mentre que l'Amoxicil·lina i la Claritromicina són més efectives durant més dies.

La Daptomicina és utilitzada en ambients exclusius clínics, potser degut a que al ser utilitzada per via intravenosa, arriba al focus d'infecció més ràpidament impedit que aquests bacteris invasors colonitzin ràpidament la zona.

Segons el meu estudi, aquest antibiòtic d'ús exclusiu clínic no ha resultat ser més efectiu i no s'han trobat soques bacterianes resistents, malgrat al fer la segona sembra a la pràctica 2, en el que agafàvem mostres de bacteris del voltant del radi d'inhibició, s'observa que el radi havia disminuït, per tant vol dir que són més resistents i per tant que l'antibiòtic és menys eficaç, encara que cal tenir en compte el temps que l'antibiòtic és efectiu un cop preparada la dissolució. Per tant, podem concloure que si es fes un ús més habitual de la Daptomicina, podria deixar de ser efectiu.

Com a recomanacions per projectes futurs:

- ◆ Utilitzar antibiòtics que puguin ser efectius durant més temps.
- ◆ Esterilitzar bé l'ambient per tal de que no es contaminin les mostres.
- ◆ Millorar les tècniques de sembra, ja que havia tingut problemes de repartiment homogeni de la mostra de bacteris a les plaques d'agar.
- ◆ Fer més rèpliques al agafar les colònies resistents.

## Webgrafia

### Bacteris:

- ◆ <https://ca.wikipedia.org/wiki/Procariota>
- ◆ [https://ca.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_cereus](https://ca.wikipedia.org/wiki/Bacillus_cereus)
- ◆ [https://es.wikipedia.org/wiki/Serratia\\_marcescens](https://es.wikipedia.org/wiki/Serratia_marcescens)
- ◆ [https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_epidermidis](https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis)
- ◆ <http://yasalud.com/estafilococo-epidermidis/>
- ◆ [https://es.wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n\\_de\\_Gram](https://es.wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n_de_Gram)
- ◆ [https://ca.wikipedia.org/wiki/Violeta\\_de\\_genciana](https://ca.wikipedia.org/wiki/Violeta_de_genciana)
- ◆ <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/micro/contenidos6.htm>
- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Endospora>
- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium>

### Antibiòtics:

- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Antibi%C3%B3tico>
- ◆ <https://es.wikibooks.org/wiki/Microbiolog%C3%ADa/Antibi%C3%B3ticos>
- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Claritromicina>
- ◆ <https://ca.wikipedia.org/wiki/Amoxicil%C2%B7lina>
- ◆ [http://www.hca.es/huca/web/contenidos/websdepartam/farmacia/informes/DAPTOM\\_ICINA.pdf](http://www.hca.es/huca/web/contenidos/websdepartam/farmacia/informes/DAPTOM_ICINA.pdf)
- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Despolimerizaci%C3%B3n>
- ◆ <https://es.wikipedia.org/wiki/Penicilina>

Científics:

- ◆ [https://es.wikipedia.org/wiki/Hans\\_Christian\\_Gram](https://es.wikipedia.org/wiki/Hans_Christian_Gram)
- ◆ [https://es.wikipedia.org/wiki/Alexander\\_Fleming](https://es.wikipedia.org/wiki/Alexander_Fleming)

Infeccions:

- ◆ <https://medlineplus.gov/spanish/sepsis.html>
- ◆ <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000680.htm>

Tinció de gram:

- ◆ <https://www.youtube.com/watch?v=FceD8FFhuew&t=236s>

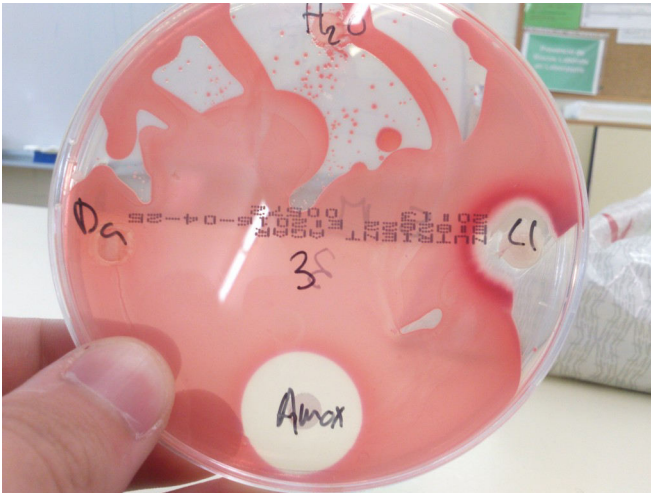
## Bibliografia

- ◆ ***Biocontext 2*. Barcelona; Editorial Teide, 2014**
- ◆ ***Biologia, Conceptes bàsics*. Barcelona, Editorial Teide**
- ◆ ***Biologia 2n batxillerat*. Grup promotor Santillana, Editorial Santillana, 2009**
- ◆ ***Infecciones por grampositivos: perspectivas terapéuticas actuales*. Francisco Soriano, departamento de Microbiología Médica i Quimioteràpia Antimicrobiana. Fundación Jiménez Díaz-Campo. Madrid, España.**

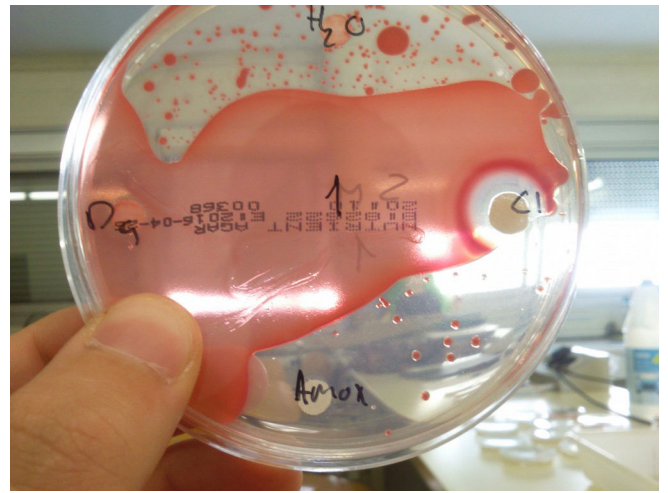


## Annex 1

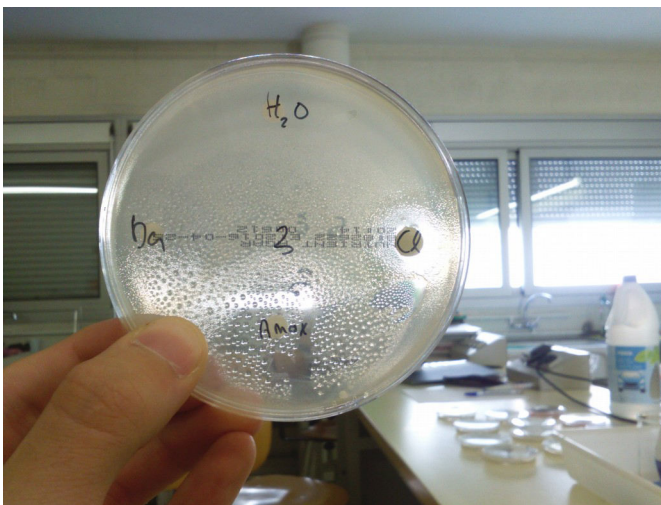
### Fotografies de la part experimental



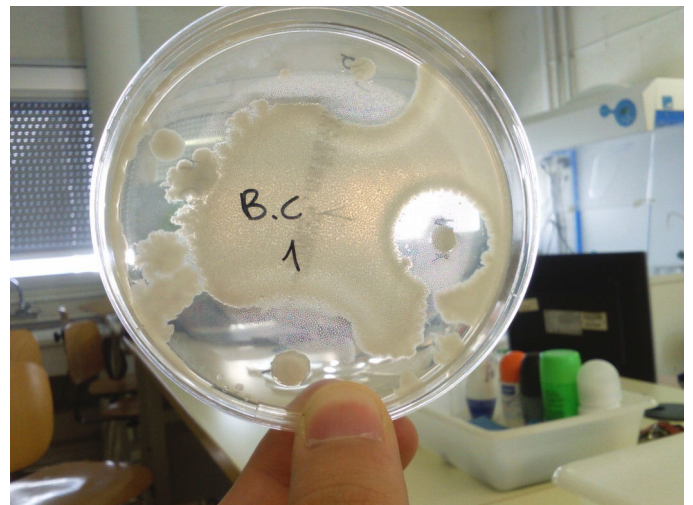
Fotografia 37: Placa 3 de *Serratia Marcescens*



Fotografia 38: Placa 1 de *Serratia Marcescens*



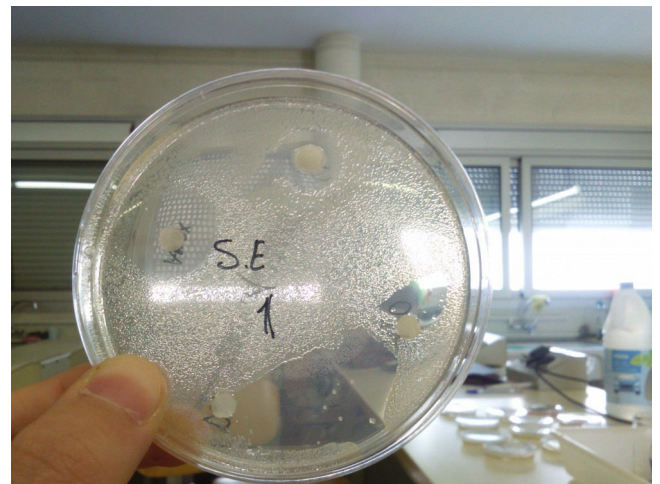
Fotografia 39: Placa 3 de *Bacillus Cereus*



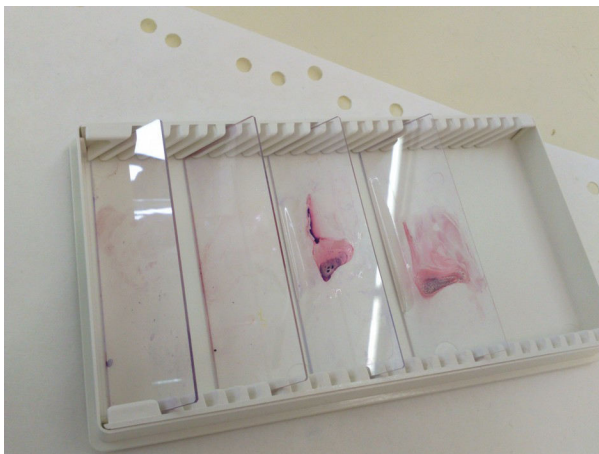
Fotografia 40: Placa 1 de *Bacillus Cereus*



Fotografia 41: Placa de *Staphylococcus Epidermidis* amb Amoxicil·lina



Fotografia 42: Placa 1 de *Staphylococcus Epidermidis*



Fotografia 43: Portaobjectes amb bacteris tenyits



Fotografia 44: Material

## Annex 2

### Endospores

Alguns tipus de bacteris poden formar endospores, que són espores produïdes per bacteris. Aquestes endospores no formen part d'un procés reproductiu en la majoria dels cassos.

Les endospores són estructures hivernants que es troben a dins del bacteri i tenen una altíssima resistència, són capaços d'aguantar alts nivells de radiació, el buit de l'espai exterior i condicions extremes molt diverses. La seva principal funció és sobreviure en diverses condicions ambientals.

Aquestes endospores no presenten un metabolisme i poden sobreviure en aquest estat milions d'anys i també poden causar malalties.

El procés pel qual es formen comença quan els bacteris es troben en una situació medi ambiental desfavorable, llavors comencen a esporular. El ADN es replega i es comença a formar una membrana al voltant d'aquest ADN i la membrana plasmàtica la envolta formant una doble membrana al voltant de l'ADN. Quan el procés d'esporulació acaba es projecta aquesta espora a l'exterior.

Quan les condicions tornen a ser favorables, aquesta espora es reactiva, iniciant un procés metabòlic que la convertirà en una cèl·lula.

Per exemple trobem que el bacteri *Clostridium Tetani*, causant del tetanus, presenta endospores.