

ÍNDEX

1. Introducció	
1.1. Motivacions.....	4
1.2. Objectius: pregunta inicial.....	4
1.3. Formulació d'hipòtesis.....	5
2. Metodologia.....	6
3. Base teòrica	
3.1. Microbiologia. "Microorganismes".....	8
3.2. Antibiótics.....	10
3.3. Resistència als antibiòtics.....	11
3.4. Empreses farmacèutiques i sensibilització.....	12
3.5. Seguretat al laboratori.....	13
4. Part experimental	
4.1. Material emprat.....	14
4.2. Experimentació.....	17
4.2.1. Mètodes de recompte.....	17
4.2.2. Tinció de Gram.....	20
4.2.3. Preparació de medis de cultiu.....	22
4.2.4. Aïllament d' <i>Streptomyces</i>	27
4.2.5. Antibiograma.....	28
4.2.6. Mètode API 10s.....	30
4.2.7. Tècnica TDS.....	32
5. Enquesta	
5.1. Resultats.....	35
5.2. Justificació.....	37
5.3. Gràfics.....	38
6. Resultats i conclusions.....	41
7. A tenir en compte.....	42
8. Valoració personal.....	43
9. Agraïments.....	43
10. Glossari.....	44
11. Bibliografia.....	45

**TOTES LES FOTOGRAFIES QUE APAREIXEN AL LLARG DEL TREBALL SÓN
INÈDITES, REALITZADES ENTRE EL 28 DE JUNY I EL 16 DE JULIOL DE 2010 ALS
LABORATORIS DE MICROBIOLOGIA DE LA UAB.**

“L’investigador pateix desil·lusions, els llargs mesos passats en una direcció equivocada, els fracassos. Però els fracassos són també útils, perquè, ben analitzats, poden conduir a l’èxit. I per l’investigador no existeix alegria comparable a la d’un descobriment, per petit que sigui...”

Alexander Fleming

1.INTRODUCCIÓ

Sabem realment el que comporten els microorganismes a les nostres vides? Som conscients que no sempre els microorganismes son patògens? En general s'acostuma a relacionar microbi amb malaltia sense tenir en compte que alguns d'aquests ens poden ajudar i d'altres son necessaris per viure.



Els propis microorganismes poden generar substàncies químiques que inhibeixin els efectes d'altres bacteris patògens. I aquest, entre d'altres és el tema que ens ocupa en aquest treball de recerca.

El treball ha estat realitzat, en gran part, al Departament de Microbiologia i Genètica, a la Unitat de Biologia de la Facultat de Biociències de la Universitat Autònoma de

Barcelona, amb l'ajuda de professors i tècnics especialitzats en la matèria. El conjunt forma part del projecte ARGÓ organitzat per la universitat per a ajudar als alumnes en la realització de les tasques del treball de recerca de batxillerat.

1.1 Motivacions

El meu treball de recerca havia de ser, en totes les seves vessants relacionat amb el món de la farmacologia i/o la salut pública, ja que és per on vull encaminar els meus estudis posteriors. Aprofitant l'avinentsa vam buscar, ja que l'institut en té referències, si al programa ARGÓ, que està molt relacionat amb la ciència i la investigació hi havia quelcom similar i, efectivament el tema de NOUS ANTIBIÒTICS de l'apartat de microbiologia em va interessar molt. És una sort i un privilegi poder gaudir d'una estada a la Universitat tutoritzada, i poder treballar amb material adient amb gent habituada a moure's en aquest àmbit.

Per això el meu treball tracta sobre el món dels antibiòtics i les resistències que els bacteris en provoquen.

1.2 Objectius: pregunta inicial

La pregunta principal d'aquest treball de recerca és la següent:

Perquè ens fem resistents als antibiòtics?

Per a respondre-la hem hagut de fer certes recerques a nivell social i d'altres a nivell teòric per mitjà de llibres, articles i material que hem pogut trobar. I després de plantejar aquesta pregunta en sorgeix una altra:

És possible trobar-ne de nous? Amb quins mètodes?

Pel que fa aquesta pregunta ja sabíem la resposta tot i que durant la realització hem anat trobant mètodes per a poder dur-ho a terme i la dificultat que això pot comportar.

Un cop plantejades aquestes preguntes calia fer una recerca i marcar uns objectius de treball. El primer era respondre les qüestions i per a poder-ho fer s'havien de marcar altres objectius.

Haviem de buscar microorganismes productors d'antibiòtics i veure si aquests tenien efecte sobre qualsevol bacteri. Per tant la recerca queda estructurada de la següent manera:

- Respondre a les preguntes plantejades anteriorment, acceptar, refutar, demostrar i/o complementar les hipòtesis.
- Aïllar microorganismes productors d'antibiòtics del sòl.
- Realitzar un antibiograma per a observar sobre quins microorganismes fa efecte l'antibiòtic.
- Utilitzar la metodologia i eines científiques per a arribar a les conclusions.
- Profunditzar, a peu de carrer, per quin motiu es produeixen tantes resistències.

Partint d'aquesta base, vam formular les hipòtesis que podrien respondre les preguntes.

1.3 Formulació d'hipòtesis

Abans de realitzar cap experiment i començar a treballar hem de tenir en compte que és el que estem buscant i a on volem arribar. Per aquest motiu, hem de pensar una possible resposta per a la nostra pregunta, és a dir, una hipòtesis i a partir d'aquí, i un cop realitzada la recerca acceptar-les o refutar-les.

El treball s'ha realitzat emprant la metodologia científica. Per tant, el que hem fet és que a partir de les preguntes, que anomenarem problemes, intentarem reproduir allò que volem observar tenint en compte totes les variables i recordant que són hipòtesis i no afirmacions i que per tant, poden ser certes o falses.

PROBLEMA: Perquè ens fem tant resistents als antibiòtics? I és possible trobar-ne de nous?

HIPÒTESI 1: Potser fer un tractament incorrecte en l'ús d'antibiòtics incrementa les resistències que es poden fer.

Sabíem des d'un començament que això era cert, però per a poder treballar sobre una base fonamentada cal tenir clars certs conceptes i ampliar-ne de nous.

HIPÒTESI 2: Probablement es poden trobar en el sòl nous antibiòtics no sintètics.

Aquesta es la principal recerca del projecte ARGÓ, i tot i saber-ho, no teníem clar qui produïa, aquest antibiòtic ni perquè.

Si acceptàvem aquesta hipòtesi com a bona en sorgia una altra. Si aquest antibiòtic produït realment tenia efectes per a curar .

HIPÒTESI 3: Potser aquests antibiòtics nous tindrien efectes curatius amb qualsevol microorganisme.

En un principi, no creiem que tingués efecte sobre tots els microorganismes ja que això seria molt improbable perquè si fos capaç d'inhibir el creixement d'un individu del seu mateix gènere i espècie, es destruiria a ell mateix. Per tant era qüestió d'esbrinar quins es veien afectats per l'antibiòtic.

HIPÒTESI 4: Potser el fet de seguir de manera correcta el tractament d'antibiòtics faria que aquest problema inicial es resolgués.

Un dels problemes actuals de la medicina és el mal ús dels antibiòtics, causat per molts factors de la societat; el fet que alguns metges els receptin sense ser de primera necessitat, els objectius econòmics de les indústries farmacèutiques i sobretot i en gran part, per el mal ús dels pacients. Està clar que si tots fóssim prou responsables no tindríem aquest problema, però creiem oportú veure fins a quin punt la gent coneix la repercussió del problema.

Un cop formulades les preguntes amb les respectives hipòtesis, ja ens podem endinsar en la recerca, amb els dissenys d'experiments pertinents i la investigació bibliogràfica per a trobar-ne una resposta.

2. METODOLOGIA

La intenció d'aquest treball , com ja s'ha dit abans, es treballar utilitzant en tot moment el mètode científic, i per tant es va dissenyar un experiment que aportés proves per a acceptar o refutar les hipòtesis plantejades així com la investigació prèvia d'una recerca bibliogràfica que fes referència a tot el que s'anés posant en pràctica, és a dir, un fonament teòric que permetés seguir les tècniques i entendre la teoria que es requeria en l'experiment. Així doncs, el treball consta de les següents parts:

- **Observació i plantejament dels problemes.** Primer de tot vam observar la informació que teníem i totes aquelles dades i resultats que el projecte ARGÓ ens havia proporcionat durant els quinze dies de recerca a la UAB. A partir del que havíem treballat i, buscant un fil cohesionant entre les experimentacions i un treball de recerca de batxillerat, vam triar el tema i tot seguit es van plantejar els problemes i les seves possibles hipòtesis, sempre seguint el mètode científic.
- **Recerca bibliogràfica.** És la part teòrica del treball en la que es recull una selecció d'informació relativa al tema, la qual fa referència a tot allò que intervindrà l'experimentació. Amb la informació seleccionada es pretenia entendre els conceptes bàsics i fonamentals sobre microorganismes per tal que poguéssim realitzar les tasques

a la universitat i un cop ja endinsats en el plantejaments del treball, es buscava una amplia relació amb els antibiòtics:

- Com es poden obtenir.
- L'ús que se'n fa.
- Com actua un antibiòtic.
- Com es formen les resistències.

Part experimental. És la part pràctica del treball. Seguint tots els passos correctament s'hauria d'arribar a la solució i a la resposta del nostre problema. Per a realitzar aquest treball hem emprat metodologies diferents en funció del que volíem respondre, així doncs:

Per a respondre les hipòtesis 1 i 4:

- Informació teòrica.
- Realització d'una enquesta.
↓
- Obtenció i extracció de resultats.
↓
- Valoració i conclusions.

I per a respondre les hipòtesis 2 i 3:

- Experiments relacionats amb la investigació principal.
- Disseny de l'experiment.
↓
- Breu introducció als coneixement que es farien servir.
↓
- Obtenció de diferents mostres de sòl.
↓
- Preparació de medis de cultiu.
↓
- Realització d'un banc de dilucions i recompte de microorganismes.
↓
- Aïllament de bacteris.
↓
- Observació i tinció de microorganismes.
↓
- Observació al microscopi i a la lupa.
↓

- Realització de l'antibiograma.
↓
- Observació dels resultats obtinguts.
↓
- Realització de les conclusions.

3. BASE TEÒRICA

3.1 Microbiologia

La microbiologia és l'estudi dels microorganismes, un grup ampli i divers d'organismes microscòpics que existeixen com a cèl·lules aïllades o associades. També inclou l'estudi dels virus, que són microscòpics però no cel·lulars, és a dir, que no es consideren éssers vius.

Els organismes es divideixen en procariotes (eubacteris i arqueobacteris) i en eucariotes (protists, fongs, plantes, animals). Son capaços de realitzar els seus processos vitals de creixement, generació d'energia i reproducció, independentment d'altres cèl·lules siguin de la mateixa classe o d'una altra diferent.

La ciència de la microbiologia

- Com a ciència biològica **bàsica**, la microbiologia proporciona algunes de les eines per a la investigació més oportunes per a estudiar la naturalesa dels processos vitals. Això es deu a que part de les cèl·lules microbianes comparteixen propietats bioquímiques amb les cèl·lules d'organismes pluricel·lulars, i el fet que puguin obtenir una elevada densitat en el cultiu al laboratori, fa que siguin un model de coneixement de les funcions cel·lulars d'organismes superiors.
- Com a ciència biològica **aplicada**, la microbiologia tracta de molts problemes pràctics importants de la medicina, la agricultura i la indústria. Moltes de les malalties més importants de la espècie humana, els animals i les plantes, son produïdes per microorganismes. A més, molts processos industrials i biotecnològics a gran escala, com la producció d'antibiòtics, es basa en la utilització de microorganismes.

Microorganismes com a cèl·lules

La cèl·lula és la unitat de vida fonamental. Una cèl·lula és una entitat aïllada d'altres cèl·lules per una membrana cel·lular que conté al seu interior diversos compostos y estructures subcel·lulars.

La membrana cel·lular es la barrera que separa l'interior de la cèl·lula amb l'exterior, a dins de la membrana cel·lular es troben les diverses estructures i components que fan possible que la cèl·lula funcioni. Són estructures clau, el nucli o nucleòtid on s'emmagatzema la informació genètica (DNA), necessari per a fer noves cèl·lules i el citoplasma, on es troba la maquinaria per al creixement i altres funcions cel·lulars.

Totes les cèl·lules estan formades per quatre tipus de components químics; proteïnes, àcids nucleics, lípids, polisacàrids. Cada tipus de cèl·lula té una estructura i una mida definida. Una cèl·lula és una unitat dinàmica, que realitza constants canvis reemplaçant els seus components.

Els microorganismes i els seus ambients naturals

A la natura, les cèl·lules viuen associades a altres en conjunts anomenats **poblacions**. El lloc on viu una població microbiana en un determinat ambient s'anomena **hàbitat**. **Els microorganismes poden trobar-se tant en ambients familiars com en indrets poc comuns, com aquells tant extrems que es consideren inadequats per a formes de vida superiors.**

Les poblacions microbianes rara vegada viuen soles a la natura, normalment es relacionen amb altres formes anomenades **comunitats microbianes**. Sovint formen biofilms.

L'impacte dels microorganismes sobre l'espècie humana

El control de les malalties infeccioses s'ha aconseguit per un coneixement integrat dels processos infecciosos, per la millora de les pràctiques sanitàries i per el descobriment i ús dels agents antimicrobians.

Tot i que vivim en un món on molts microorganismes patògens estan controlats, aquests poden ser encara un risc important per a la supervivència.

Per tant, els microorganismes encara constitueixen series amenaces per a la existència humana. No obstant, cal destacar que la major part dels microorganismes no son perjudicials per a l'home. De fet, la gran majoria son en realitat beneficiosos i porten a terme processos d'enorme valor per a la societat.

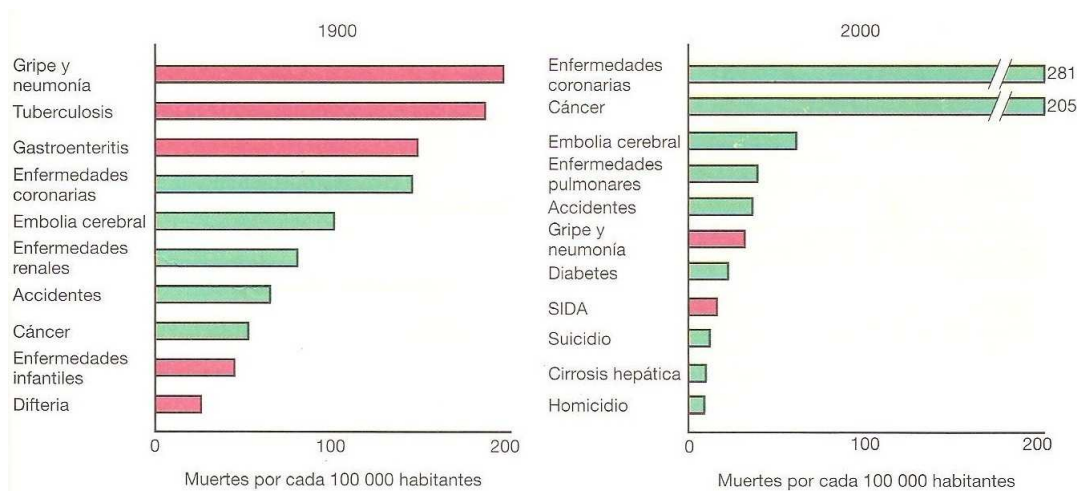


FIGURA 1: Al quadre es mostren les 10 causes de mort més importants de l'any 1900 i del 2000. En vermell es representen les malalties microbianes i les que no ho són es mostren de color verd.

Creixement de poblacions bacterianes

El creixement es defineix com un augment del nombre de cèl·lules microbianes d'una població. La velocitat de creixement és el canvi en el nombre de cèl·lules o en la massa cel·lular experimentat per unitat de temps. Durant el cicle de divisió cel·lular, tots els components estructurals de la cèl·lula es dupliquen. L'interval per a la formació de dues cèl·lules a partir d'una es suposa una generació i el temps que això triga a ocórrer temps de generació.

Molts bacteris tenen temps de generació compresos entre 1-3 hores, però unes quantes creixen molt ràpidament i es divideixen en tan sols 10 minuts.

Corba de creixement

La corba de creixement dels bacteris pot dividir-se en diferents fases anomenades; fase de latència, fase exponencial, fase estacionaria i fase de mort.

- **Fase de latència:** Quan s'inocula una població en un medi fresc, per norma general el creixement no comença immediatament, sinó que triga un període de temps que constitueix la fase de latència.
- **Fase exponencial:** En general, les cèl·lules en creixement exponencial estan en l'estat fisiològic més sa i per això, són les més recomanades per als estudis enzimàtics i estructurals.
- **Fase estacionaria:** El que generalment succeeix és que un nutrient essencial del medi de cultiu s'utilitza i passa a ser factor limitant del creixement o bé s'acumulen en el medi alguns productes de desfet fins a nivells inhibidors que fan que el creixement exponencial decaigui. En aquesta fase no hi ha ni augment ni descens net del nombre de cèl·lules
- **Fase de mort:** Si la incubació continua després de que la població hagi assolit la fase estacionaria, les cèl·lules poden continuar vives i metabòlicament actives, però també poden morir. Si això succeeix, es diu que la població està en fase de mort.

3.2 Antibiòtics

El terme antibiosi, vol dir, literalment, "anar en contra de la vida", i fa referència a interaccions d'antagonisme entre microorganismes. Els antibiòtics són els responsables de l'antibiosi i tenen la funció de dificultar o impedir la proliferació d'altres microorganismes perjudicials o competidors per a ells.

Un antibiòtic es defineix com una substància química produïda per un microorganisme que es capaç de matar (bactericides) o inhibir el desenvolupament d'altres microorganismes (bacteriostàtics).

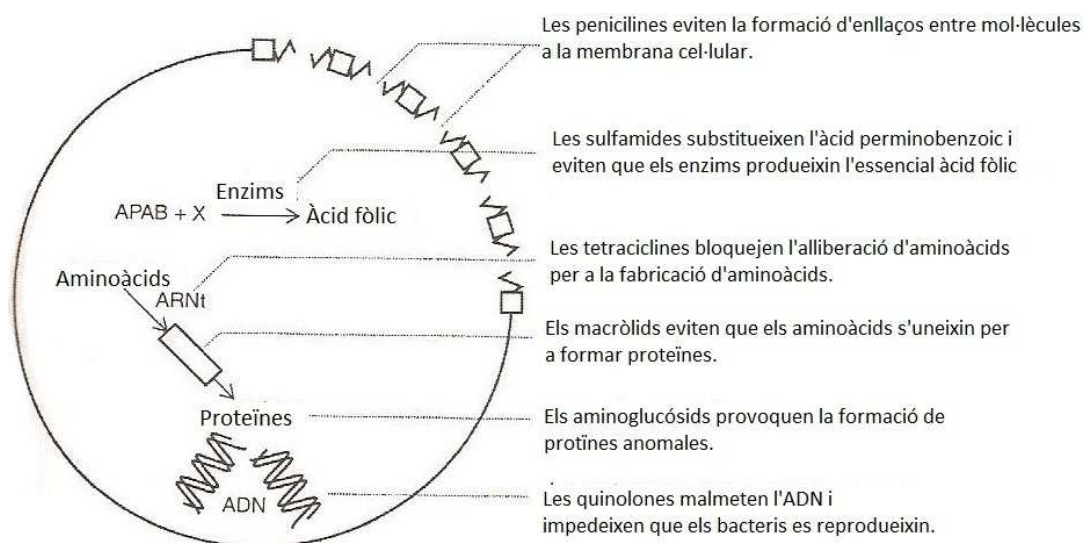


FIGURA 2: El dibuix mostra com actuen els antibiòtics dins d'una cèl·lula.

Els microorganismes productors d'antibiòtics es troben normalment al sòl. Entre els bacteris que produeixen antibiòtics els més comuns són els gèneres *Bacillus* i *Streptomyces*. Entre els fongs, els més comuns són els gèneres *Penicillium* i *Aspergillus*.

El descobridor dels antibiòtics va ser Alexander Fleming l'any 1928 mentre cultivava un bacteri i se li va contaminar la placa, provocant que el fong produís un antibiòtic per defensar-se; la penicil·lina.

El descobriment de nous antibiòtics ha constituït la dedicació essencial de gran nombre de microbiòlegs de la indústria farmacèutica. La gran majoria de descobriments es concentren en el gènere *Streptomyces* que es troba predominant en el sòl. Els antibiòtics naturals es fabriquen a partir d'organismes que es produeixen a la natura.

Per a poder ser utilitzats com a medicaments cal que els antibiòtics compleixin tres requisits:

- **Especificitat:** actuar contra el bacteri causant de la infecció que volem tractar.
- **Elevada activitat:** ser efectius a concentracions baixes.
- **Baixa toxicitat:** ser poc tòxiques o innòcues per a les nostres cèl·lules.

El nostre treball es centra en la importància del descobriment de nous antibiòtics, la necessitat de fer-ne un ús responsable, i investigar les tècniques per a trobar-ne.

3.3 Resistència als antibiòtics

Les conseqüències de l'adaptació microbiana als antibiòtics constitueix un problema important per a la humanitat.

Els metges es veuen moltes vegades forçats a receptar medicaments que curin el més ràpid possible, ja que la gent no es sol poder permetre estar de baixa massa temps, ja sigui per motius de comoditat o bé econòmics. Tanmateix els antibiòtics es fan servir per a curar infeccions dels animals de consum.

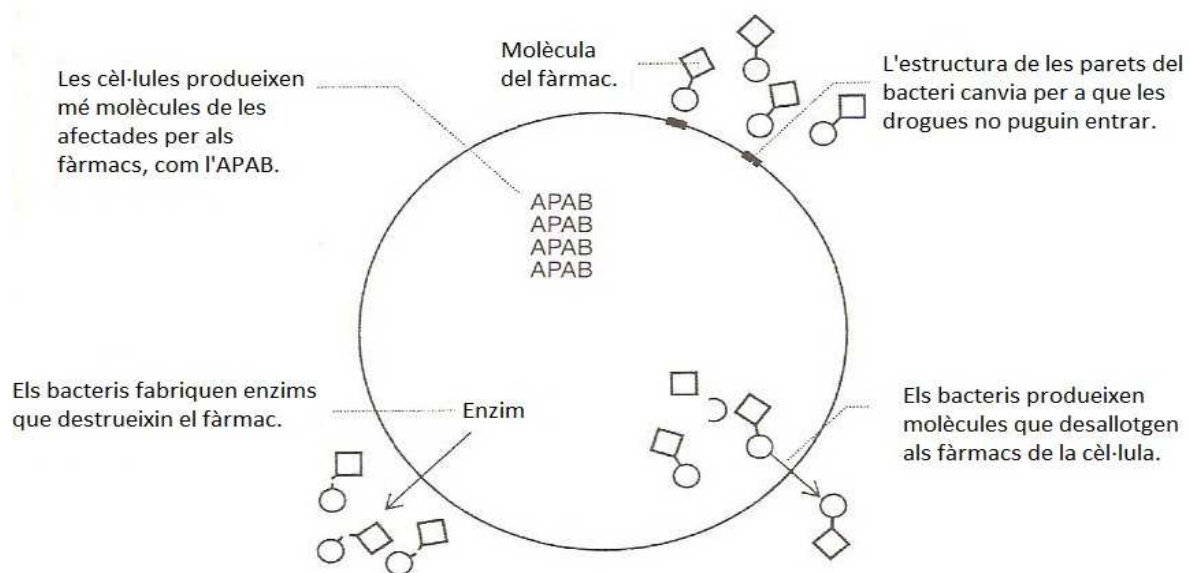


FIGURA 3: El dibuix posa de manifest de quina manera es creen resistències.

La dificultat de trobar nous fàrmacs deriva del fet que els bacteris es reproduïxen amb gran velocitat, hi ha una possibilitat real que entre els milions de bacteris que es formen en el món, un d'aquests pot mutar genèticament. Si aquesta modificació afecta a una de les dianes moleculars dels antibiòtics, pot ser que les cèl·lules es tornin resistents i tots els bacteris que resultin de la reproducció d'aquest també ho siguin.

La resistència adquirida consisteix en l'aparició de soques resistents a un o més antibiòtics en una espècie que fins aleshores era sensible a la seva acció. Aquest tipus de resistència és un problema sanitari cada cop més important. A més, els gens alterats responsables de la resistència dels fàrmacs es poden transferir d'un bacteri a un altre.

3.4 Empreses farmacèutiques i sensibilització

Un dels problemes que podem observar derivat de les resistències és que costa molt trobar nous antibiòtics. L'investigació té uns costos molt elevats i per posar al mercat un fàrmac calen moltes proves, anys i processos legals per a posar-los a la venda sense risc cap a la població. Per aquest motiu, des del govern espanyol s'intenten fer campanyes de sensibilització amb el lema; "PUEDEN DEJAR DE CURAR", per via escrita, radiofònica, televisiva i cinematogràfica.



FIGURA 4: Campanyeta de l'estat.

3.5 Seguretat al laboratori

Treballar al laboratori té un risc i per això s'ha de vigilar.

S'han de tenir en compte la necessitat de tenir determinats elements:

- Extintors, mànegues, dutxa d'emergència, rentauulls, detector de fum, alarma, mantes antiincendis, sortides d'emergència.

És molt important treballar en les condicions adequades; Treballar amb ordre i netedat, no tenir objectes personals al voltant de les mostres, procurar no tenir a la vora productes que puguin vessar i no tenir un excés de material a la zona de maniobra.

En un laboratori no es pot menjar, no es pot fumar i no es pot córrer.

Per a la manipulació de productes químics cal saber sempre uns paràmetres:

- La fitxa de seguretat, l'etiqueta del producte.

Les solucions preparades als laboratoris han de tenir sempre un etiquetat de seguretat redactada per la persona que l'ha preparat. És aconsellable no acumular reactius, consultar la seguretat del producte, no pipetejar amb la boca, evitar el contacte amb els aerosols, esterilitzar tot el material emprat abans i després, classificar els productes en quatre grups de risc.

Per a evitar riscos s'ha de seguir un pla de manteniment adequat, consultar les instruccions, avisar de les anomalies detectades al personal de seguretat, separar els residus de forma correcta i fer servir material de protecció personal (EPI).

Pel que fa la normativa de treball i bioseguretat microbiològica cal tenir en compte els següents punts:

- És obligatori l'ús de bata i portar els cabells recollits.
- No està permès beure, menjar o fumar.
- No es pot abandonar una pràctica a mitges, ni entrar o sortir del laboratori durant la realització d'aquesta.
- No es poden utilitzar les pipetes amb la boca.
- S'utilitzaran sistemes volumètrics automàtics quan el producte químic sigui perillós.
- S'utilitzarà el material de protecció adient, corresponent amb el grau de perillositat de la pràctica.
- Es descontaminarà amb autoclau el material reutilitzable que hagi estat en contacte amb microorganismes.
- Se separaran ordenadament els residus en contenidors adequats segons el tipus de residu.
- És obligatori netejar-se les mans amb sabó desinfectant en sortir del laboratori.
- S'han de desinfectar amb etanol les superfícies on s'ha treballat.

4. PART EXPERIMENTAL

4.1 Material emprat

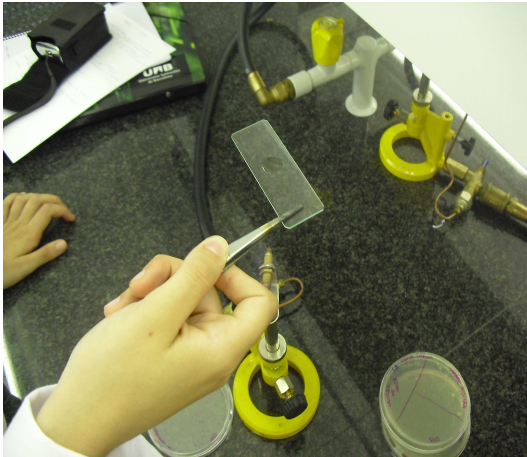


FIGURA 5: Portaobjectes



FIGURA 6: Placa de Petri



FIGURA 7: Cobreobjectes

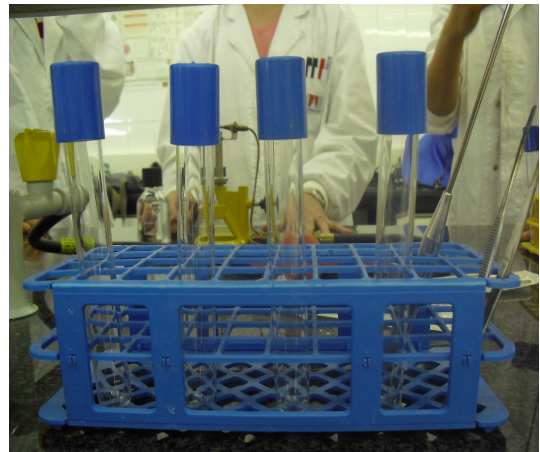


FIGURA 8: Tubs d'assaig i gradeta



FIGURA 9: Medis de cultiu en pols



FIGURA 10: Estufa



FIGURA 11: Bec Bunsen



FIGURA 12: Autoclau



FIGURA 13: Vas de precipitats i agitador

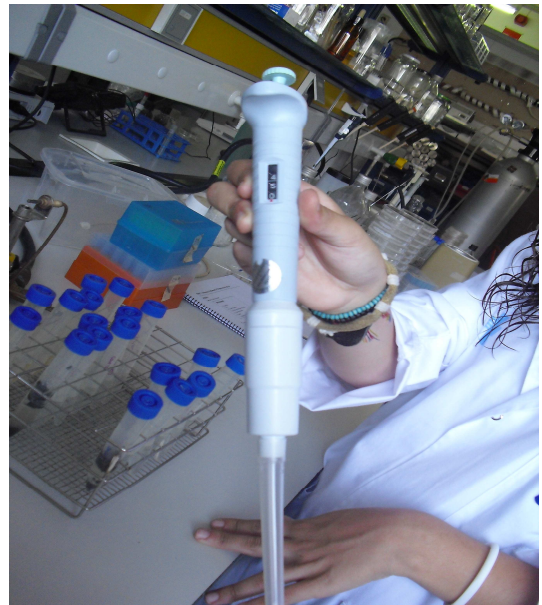


FIGURA 14: Micropipeta

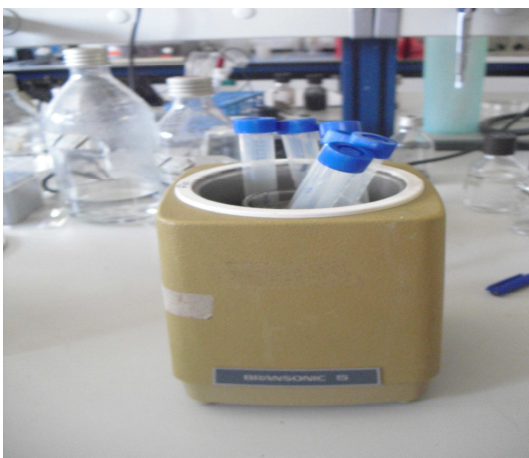


FIGURA 15: Sonicador

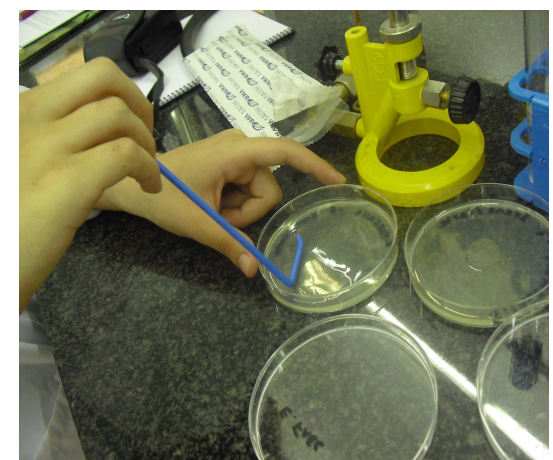


FIGURA 16: Nansa de Digralsky

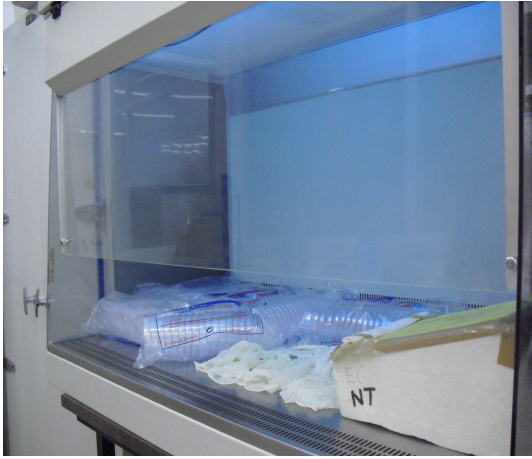


FIGURA 17: Cabina de fluxe laminar

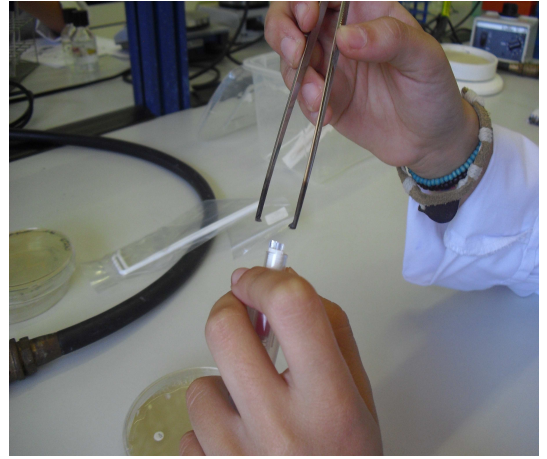


FIGURA 18: Pinces



FIGURA 19: Vòrtex

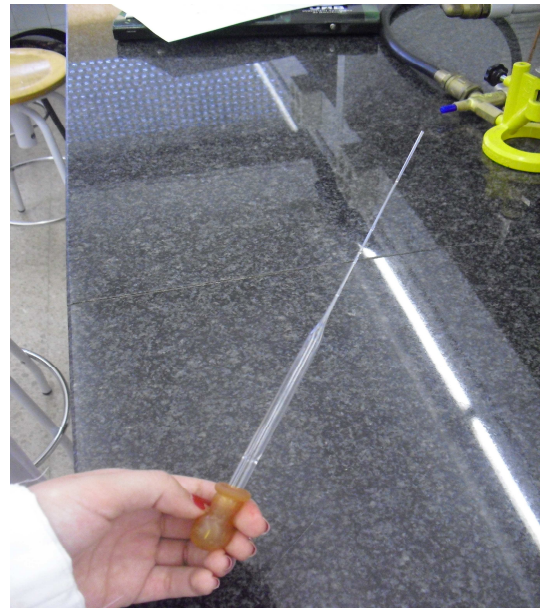


FIGURA 20: Pipeta Pasteur



FIGURA 21: Erlenmeyer



FIGURA 22: Parafilm

4.2 Experimentació

4.2.1 Mètodes de recompte

El recompte del nombre de microorganismes d'una mostra pot calcular-se, d'una banda, determinant el nombre de microorganismes que creixen en un determinat medi de cultiu desenvolupant colònies visibles (recompte **viable**) i d'una altra banda, comptant les cèl·lules o agrupacions de cèl·lules que es poden observar en la mostra mitjançant tècniques microscòpiques (recompte **directe**).

Tècniques de dilució i càlculs

En condicions adients de creixement, els bacteris es multipliquen i donen lloc a poblacions tan grans que sovint esdevé necessari diluir-les per tal d'obtenir colònies aïllades que es puguin comptar. Per això és necessari barrejar una petita quantitat de mostra amb un volum d'aigua o bé una dissolució salina (Ringer)

Una dilució simple es calcula de la següent manera:

$$\text{Dilució} = \frac{\text{Volum de mostra}}{\text{Volum total (mostra diluent)}}$$

Per exemple, la dilució de 1 ml de mostra en 9 ml de diluent equival a:

$$\frac{1}{1+9} = \frac{1}{10} \quad \text{I s'escriu 1:10}$$

L'experiència ens demostra que les dilucions són més exactes si es fan sèries de petites dilucions que fent-ne una de gran. El conjunt d'aquestes dilucions s'anomena **dilució seriada**, i la dilució total és el producte de cadascuna de les dilucions de la sèrie. Per exemple, si diluïm 0.5 ml de mostra en 4.5 ml de diluent, i llavors 0.5 ml d'aquesta primera dilució en 4.5 ml de diluent, la dilució final serà:

$$\frac{0.5}{5} \times \frac{0.5}{5} = \frac{1}{100} \quad \text{ó 1:100}$$

Per facilitar els càlculs, la dilució s'escriu utilitzant notació exponencial. En l'exemple anterior, la dilució final 1:100 s'escriurà 10^{-2} o també -2. Per fer una dilució seriada, cal procedir com s'indica a continuació:

- Tenim cada mostra de microorganisme en el seu tub d'assaig corresponent amb Ringer.
- Pipetejar en condicions estèrils (al costat del bec Bunsen) la mostra en el tub diluent.
- Barregem el contingut.
- Agafem 0.5 ml de la dilució feta anteriorment i els introduïm en un altre tub amb 4.5 ml de diluent.
- Repetim aquest procediment 4 vegades. Cada vegada que agafem el volum amb la pipeta hem de canviar aquesta, perquè no passin més microorganismes dels desitjats.
- A l'últim tub semblarà que no hi tinguem res més que Ringer però serà on hi haurà menys bacteris i això farà que un cop sembrats podem distingir les colònies més fàcilment.
- De les dilucions seriades se sembren 0.1 ml sobre la placa, distribuint-los amb la nansa de Digralsky. La sembra ha de ser el màxim de ràpid possible per evitar que la mostra quedi acumulada en un mateix lloc, i així poder observar bé les colònies.



FIGURA 23: Material per a la dilució.



FIGURA 24: Pipetejant per prendre mostres.



FIGURA 25: Extensió amb la nansa de Digralsky.



FIGURA 26: Placa de Petri amb una sembra.

- Les plaques es posen a la temperatura òptima i, un cop passat el temps necessari, dos o tres dies, es fa un recompte del nombre de colònies, utilitzant les plaques que tinguin entre 30 i 300 colònies.

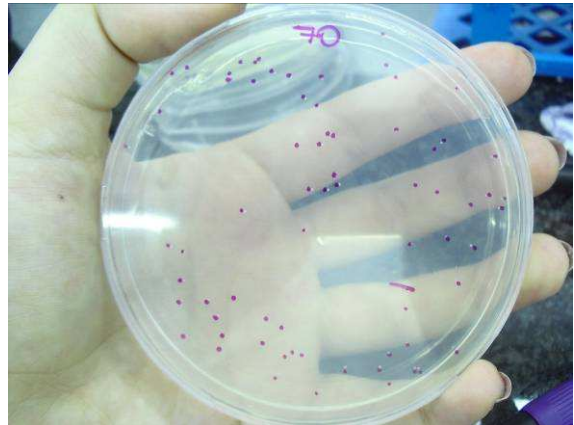


FIGURA 27: Recompte del nombre de colònies.

Els resultats s'expressen en unitats formadores de colònies per mil·límetre (cfu/ml) segons la fórmula següent:

$$\text{cfu/ml} = \frac{\text{nombre de colònies}}{\text{dilució acumulada} \times \text{volum sembrat}}$$

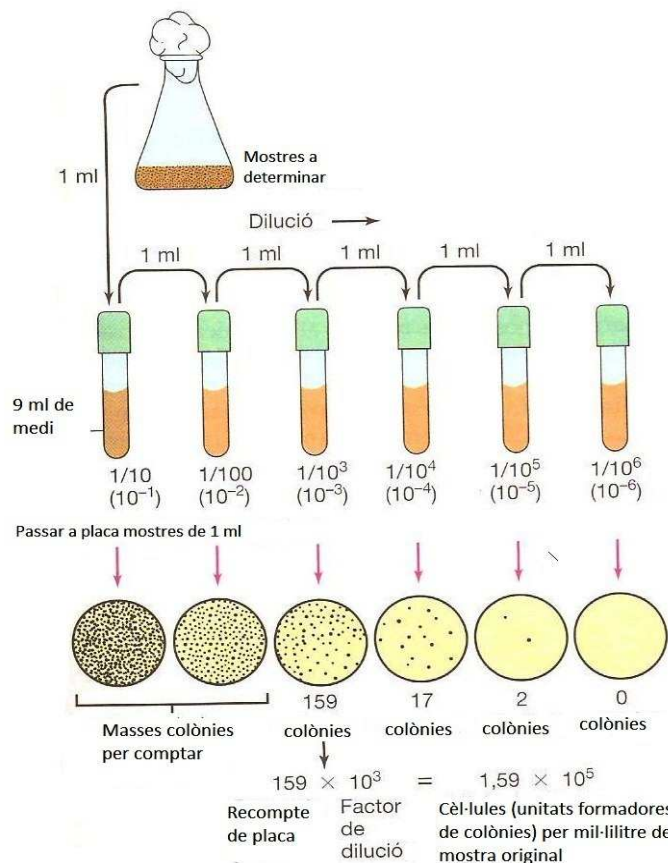


FIGURA 28: Esquema d'una dilució amb les colònies comptades.

4.2.2 Tinció de Gram

Quan s'observa un microorganisme al microscopi es veu sense color i és difícil apreciar la seva morfologia, tamany i a vegades agrupació. Per això cal utilitzar tincions que posin de manifest les característiques dels microorganismes i, en casos adients, facin visibles determinades estructures.

La **tinció simple** més corrent és la tinció amb blau de metilè, amb la qual es pot determinar ràpidament la forma, el tamany i l'agrupació dels bacteris més comuns.

La **tinció diferencial** més utilitzada és la tinció de Gram. És una tinció diferencial perquè els bacteris poden representar dues coloracions (blava o vermella) depenent de la diferent composició i estructura de la seva paret. A més a més, existeixen diferències fisiològiques entre els bacteris segons la tinció de Gram que presentin. Els bacteris Grampositius són més resistent a l'acció d'enzims que els Gramnegatius.

Les tècniques de tinció més habituals s'apliquen a frotis de mostres prèviament fixades a la flama. El frotis es prepara estenent la suspensió de bacteris per la superfície del portaobjectes de forma que al fixar-la per escalfament a la flama acabi formant una pel·lícula fina i homogènia.

Per a preparar la tinció de Gram cal seguir els següents passos:

- Fem un frotis i el fixem amb la flama. Un frotis és l'extensió que es realitza sobre un portaobjectes d'una mostra o cultiu amb l'objectiu de separar al màxim possible els microorganisme, ja que si apareixen agrupats en la preparació és molt difícil obtenir una imatge clara i nítida. Aquest frotis ha de ser fixat posteriorment al vidre del portaobjectes per poder aplicar els mètodes de tinció que permeten l'observació al microscopi dels bacteris sense que la mostra sigui arrossegada en els successius rentats. La fixació d'una extensió bacteriana fa que els bacteris quedin inactivats i adherits al vidre alterant el mínim possible la morfologia bacteriana i les possibles agrupacions de cèl·lules que hi pogués haver. Per a preparar el frotis cal seguir els següents passos

1. Es col·loca una petita gota d'aigua al centre del portaobjectes nou, ja que quan es treballa amb microorganismes la majoria del material que s'utilitza es fica a l'autoclau per matar els microorganismes i es llença. És necessària molt poca quantitat d'aigua, per la qual cosa es pot usar un comptagotes per tal de facilitar la tasca i que no caigui més aigua de la desitjada. Aquesta aigua serà sempre aigua destil·lada.

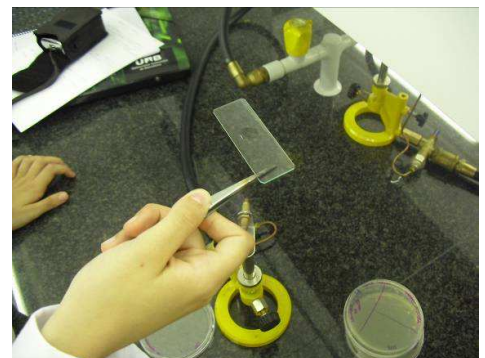


FIGURA 29: Frotis a la flama.

2. Flamejar la nansa de Kolle al Bec Bunsen, prendre, en condicions asèptiques, una petita quantitat de cultiu bacterià en medi sòlid i transferir a la gota d'aigua. Remoure

la barreja amb la nansa de Kolle fins a formar una suspensió homogènia que quedi bastant estesa per facilitar el seu assecatge.

3. Per accelerar l'evaporació del líquid acostàvem al portaobjectes agafat amb unes pinces a la flama del Bec Bunsen. S'ha de tenir molt de compte per evitar que si s'escalfa molt les cèl·lules es deformin o es trenquin.

Un cop hem escalfat el portaobjectes i els microorganismes ja estan ben fixats podem procedir a fer la tinció:

Tinció de Gram: Es tenyeix el frotis introduint el portaobjectes al recipient a dins de la solució de cristall violeta durant 1 minut. Es renta bé el portaobjectes amb aigua destil·lada i es deixa escórrer. Es torna a ficar en colorant, ara en el lugol, durant un minut més. Es treu i es torna a rentar amb aigua destil·lada i es descoloreix amb etanol. Un cop net, es submergeix en la solució de safranina alcohòlica durant 2 minuts. Es treu la preparació, es renta i es deixa assecar.

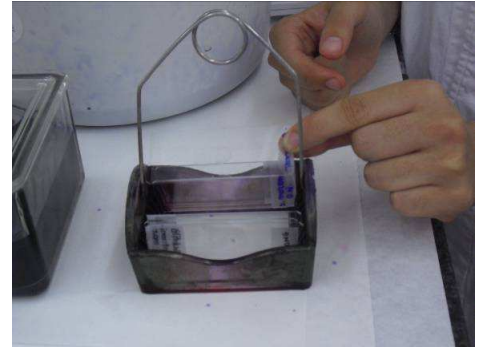


FIGURA 30: Mostres al portaobjectes

Una vegada tenyida la mostra ja podem observar-la al microscopi.



FIGURA 31: Tints.



FIGURA 32: Tinció del frotis, en el moment de banyar la mostra amb etanol.

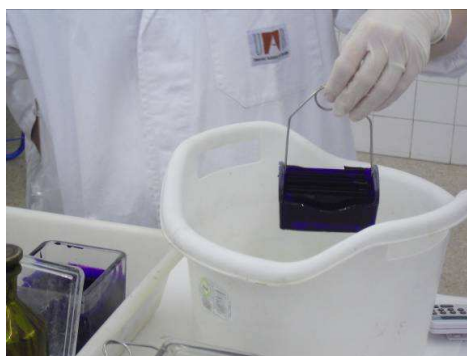


FIGURA 33: Tinció del frotis.

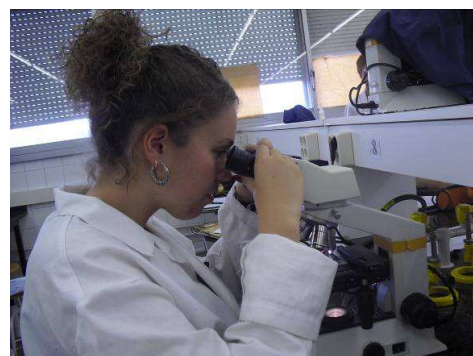


FIGURA 34: Observació dels microorganismes tenyits al microscopi.

4.2.3 Preparació de medis de cultiu

Els medis de cultius han de satisfer tots els requeriments nutritius dels microorganismes que es volen estudiar. El medi ha de tenir fonts de carboni (C), nitrogen (N), sofre (S) i fòsfor (P) i, en menor mesura, altres elements com el ferro (Fe), magnesi (Mg), cobalt (Co), manganès (Mn), etc. Així com una font d'energia i una font de poder reductor. En medis químicament definits, la composició es coneix exactament i el medi es prepara utilitzant quantitats conegudes de cada un dels constituents. En medis indefinits o complexos, s'utilitzen components com extret de llevat, triptona o peptona que, tot i que tenen una composició heterogènia i indeterminada, contenen tots els elements que el bacteri necessita per desenvolupar-se. El medi de cultiu pot ser líquid (en aquest cas es parla de brou) o bé solidificat amb agar (aleshores es parla de medi sòlid o d'agar nutritiu, agar citrat, agar sang, etc.)

Tipus de medis de cultiu

Els medis de cultiu emprats per a cultivar microorganismes es poden dividir en quatre grups:

- Medis de desenvolupament

Normalment contenen totes les substàncies nutritives necessàries per a la correcta multiplicació de microorganismes. Són emprats per a recomptes i pel manteniment dels microorganismes. En són exemples l'agar i el brou nutritius, l'aigua peptonada, l'agar i el brou Sabouraud, etc.

- Medis selectius

Normalment s'utilitzen per a aïllar alguns tipus especials de bacteris. Contenen substàncies que afavoreixen el desenvolupament del microorganisme que es vol aïllar i d'altres que inhibeixen el creixement d'altres tipus de microorganismes.

- Medis diferencials

S'utilitzen per a determinar les propietats fisiològiques i bioquímiques dels bacteris.

- Medis d'enriquiment

Són medis que afavoreixen el creixement d'una espècie o grup bacterià, però no la d'altre espècies. A diferència dels medis selectius no contenen cap component inhibidor del creixement dels microorganismes no desitjats.

Mètodes de preparació dels medis de cultiu

Consideracions generals

Actualment, la preparació de medis de cultiu és molt ràpida i senzilla. La majoria de fórmules que defineixen un medi de cultiu són subministrades comercialment per diferents empreses en forma deshidratada. La preparació només consisteix en dissoldre la quantitat adequada en el volum d'aigua

destil·lada que s'indica. En el cas del medi sòlids, l'agar pot ja estar inclòs en el medi deshidratat, o bé cal afegir-lo. Una vegada preparat, si el medi conté agar cal portar-lo a ebullició fins aconseguir una bona dissolució.

En els casos en què els medis no se subministren comercialment, cal pesar-ne cada un dels components i procedir com en el cas anterior. Si el medi porta algun sucre, normalment aquest s'hi afegeix estèrilment després d'haver preparat i esterilitzat tots els components del medi a excepció del sucre en qüestió que, es prepara dissolent el pes adequat en el volum necessari d'aigua destil·lada i s'esterilitza per filtració.

Preparació de medis sòlids

El primer agent solidificant emprat en la preparació de medis sòlids va ser la gelatina, però aquest compost presenta molts desavantatges ja que pot ser utilitzat o bé líquid pels microorganismes. A més a més, la temperatura de fusió és d'uns 28° C.

Posteriorment s'emprà l'agar. Per a líquid l'agar cal una temperatura superior a 95° C, la qual cosa permet cultivar els microorganismes des de temperatures baixes fins a 95° C. A més a més, una vegada líquid es pot mantenir en aquest estat fins a 40° C, cosa que fa possible la preparació de medis de cultiu a temperatura ambient així com l'afegiment de microorganismes en l'agar fos i procedir posteriorment a la sembra en placa. L'agar forma un gel consistent i transparent, i en quan a concentració es d'entre 10 i 20 g/l. D'altra banda, és utilitzat per molts pocs microorganismes, ja que està constituït per mesclures complexes de polisacàrids lineals i ramificats. Actualment, és el medi solidificant més emprat en la preparació de medis de cultiu per a microorganismes. La quantitat d'agar que s'afegeix a un medi per a solidificar-lo depèn de:

- El tipus d'agar.
- La duresa que es vulgui aconseguir.
- La temperatura d'incubació i/o d'ambient en què s'hagin de manipular els tubs o les plaques.

La quantitat habitual per a preparar medis sòlids oscil·la entre 12 i 18 g/l. L'agar s'incorpora al medi, es bull 1 o 2 minuts i posteriorment s'esterilitza i s'aboca en plaques o en tubs la quantitat desitjada. L'anomenat "agar tou" (utilitzat en la sembra en profunditat, també anomenada "doble capa") conté entre 5 i 7 g/l d'agar. L'agar s'incorpora al medi, es prepara igual que abans i després d'esterilitzar-lo es distribueix en tubs petits. A l'hora de fer la sembra, es líquid prèviament el medi i es manté a una temperatura constant de 45° C. A continuació es procedeix a sembrar els microorganismes. De vegades, en la preparació d'alguns medis de cultiu es prepara el que s'anomena "agar base", que consisteix en una dissolució d'agar en aigua sense cap altre component. La concentració d'agar pot ser la final o bé més alta.

pH dels medis de cultiu

Per a un creixement òptim dels microorganismes, els medis de cultiu han de tenir el pH adient al tipus de microorganisme que es vol fer créixer. La majoria de microorganismes es desenvolupen bé amb pH neutre (entre 7 i 7.2). Si els components del medi donen lloc a un valor diferent del pH, cal ajustar-lo amb HCl 0.1 M o NaOH 0.1 M. El pH òptim per a altres microorganismes, com ara els llevats, és àcid al voltant de 5.5.

Durant la preparació de qualsevol medi de cultiu, cal tenir en compte que en procés d'esterilització amb l'autoclau el pH pot disminuir 0.2 unitats, la qual cosa fa que en la preparació de la majoria de medis de cultiu s'ajusti el pH a 7.4 abans de procedir a l'esterilització.

Preparació dels medis de cultiu

Realitzarem tres medis; El primer, el medi d'aïllament, el segon el medi de creixement i finalment el medi d'assaig. Els preparem al laboratori de pràctiques, a la sala de preparació de medis de cultiu, perquè és allà on hi ha tots els ingredients, l'autoclau, la cabina de flux laminar, etc.

- **MEDI D'AÏLLAMENT**

COMPONENT	QUANTITAT
Caseïna	0.4 g
Midó (C₆H₁₀O₅)	1.0 g
Nitrat de potassi (KNO₃)	0.5 g
Monohidrogenfosfat de potassi (K₂HPO₄)	0.2 g
Fosfat de magnesi (Mg₃(PO₄)₂)	9.1 g
Carbonat de calci (CaCO₃)	0.1 g
Agar	15 g

També necessitem aigua destil·lada per omplir tota la resta fins a arribar a obtenir 1 litre. L'aigua l'obtenim de l'aixeta especial que hi ha a la universitat, on tot el circuit és destil·lat. Omplim una proveta d'1L d'aquesta aigua que després abocarem a l'Erlenmeyer.

A continuació posem tota la resta d'ingredients i ho mesquem. Un cop mesclat tapem amb paper d'alumini totes les sortides de l'Erlenmeyer i l'introduïm a l'autoclau per tal d'esterilitzar el medi durant una hora i mitja.



FIGURA 35: Preparació dels medis.



FIGURA 36: Medis preparats per introduir a l'autoclau.

- **MEDI DE TRANSFERÈNCIA (CREIXEMENT)**

Per a prepara aquest medi, seguim els mateixos passos que per fer el medi anterior. Amb la balança pesem cada un dels components.

COMPONENT	QUANTITAT
Glucosa ($C_6H_{12}O_6$)	10 g
Extracte de llevat	1 g
Nitrat de potassi (KNO_3)	1 g
Monohidrogenfosfat de potassi (K_2HPO_4)	0.1 g
Agar	15 g

Igual que en el medi d'abans omplim la proveta amb un litre d'aigua destil·lada i després l'aboquem a l'Erlenmeyer amb la resta d'ingredients. Barregem tota la mescla i ho introduïm a l'autoclau durant una hora i trenta minuts.



FIGURA 37: Vas de precipitats i agitador.



FIGURA 38: Solucions emprades.

- MEDI D'ASSAIG

COMPONENTS	QUANTITAT
Peptona	10 g
Glucosa ($C_6H_{12}O_6$)	1 g
Agar	15 g

Un cop hem esterilitzat els medis a l'autoclau, els treiem, i sense deixar que es refredi comencem a plaquejar, que vol dir col·locar els medis a les plaques de Petri esterilitzades.

Per començar, introduïm l'Erlenmeyer a dins de la cabina de fluxe laminar encesa per tal d'esterilitzar



FIGURA 39: Cabina de fluxe laminar.

el material que utilitzarem (plaques i guants). Hem de treballar en tot moment amb el material estèril, i en el cas de treure les mans fora de la cabina, haurem de col·locar-



FIGURA 40: Introduint el medi a la placa de Petri.

nos uns de nous, sempre a l'interior de la cabina. A continuació destaparem l'Erlenmeyer i comencem a plaquejar. Finalment deixem refredar les plaques a dins de la cabina fins que tinguin una textura gelatinosa.



FIGURA 41: Plaquejant a dins la cabina de fluxe laminar.



FIGURA 42: Plaques de Petri amb medi.

4.2.4 Aïllament d'*Streptomyces*

Per tal d'aïllar els *Streptomyces* del sòl haurem de seguir dos passos:

- Protocol d'aïllament

Necessitarem 5 tubs estèrils amb 9 ml de Ringer per fer el banc de dilucions i 1 gram de sòl.

Les mostres de sòl les deixem uns dies en el forn Pasteur per a afavorir el creixement d'espores del gènere *Streptomyces* al sòl. Per a fer el banc de dilucions posem un gram de sòl en 9ml de Ringer i ho sonifiquem, per tal de separar les partícules de la mostra durant tres minuts. A partir d'aquí ja es pot fer el banc de dilucions en mostres 1/10.



FIGURA 43: Mostres de sòl.



FIGURA 44: Dilució amb micropipeta



FIGURA 45: Sonificant.



FIGURA 46: Banc de dilucions.



FIGURA 47: Utilitzant el vòrtex.

- Identificació de colònies d'*Streptomyces*

Per a iniciar amb la identificació de les colònies farem un recompte de les plaques d'aïllament i les colònies que més ens cridin l'atenció procedirem a tenyir-les per tal d'identificar si són *Streptomyces*.



FIGURA 48: Sembrant *Streptomyces*

Els microorganismes d'aquest gènere tenen una forma molt característica i al ser Grampositiu apareixen de color blau. Les colònies que siguin del gènere desitjat les sembrarem a les plaques del medi de transferència i les incubarem entre tres i cinc dies.

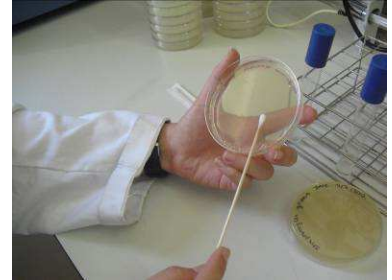


FIGURA 49: Detall de la sembra

Un cop fet aquest procés i per tal de comprovar si els *Streptomyces* han produït antibiòtic realitzarem un antibiograma.

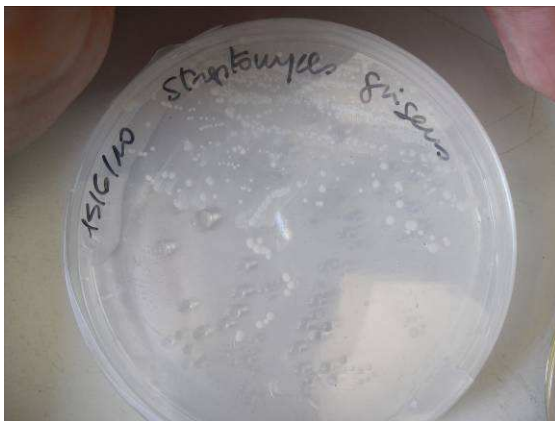


FIGURA 50: *Streptomyces* cultivats en placa.

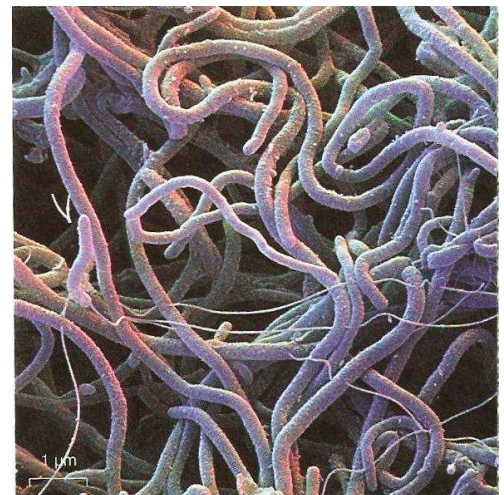


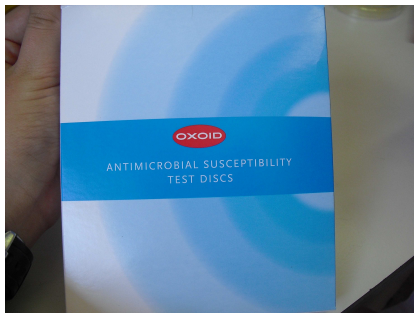
FIGURA 51: Detall al microscopi d' *Streptomyces*.

4.2.5 Antibiograma

Gràcies a l'antibiograma podem escollir l'antibiòtic més adequat per al tractament d'una malaltia. L'antibiòtic dependrà de la CMI (quantitat mínima inhibidora), que es defineix com la menor concentració d'una gamma de dilucions d'antibiòtic que provoca una inhibició de qualsevol creixement bacterià visible.

El procediment a seguir és aquest:

- S'afegeix gota a gota, amb una pipeta estèril, sèrum fisiològic estèril o solució Ringer, nosaltres afegirem aquesta última, a un tub que contingui una suspensió del microorganisme problema fins que s'obtingui una turbidesa semblant a la del tub control.
- Amb la suspensió aconseguida, es mulla completament l'escovilló i s'elimina l'excés de líquid fregant a les parets del tub.
- Es frega amb l'escovilló la superfície d'una placa de medi nutritiu fins que quedi sembrada homogeniament.
- Es deixa assecar la placa durant deu minuts amb la tapa una mica oberta.



- Es col·loquen amb pinces els discs adequats d'antibiòtic, de forma que estiguin a la perifèria de la placa equidistants. Es pressiona suaument de forma que contactin amb la superfície del medi de cultiu.
- Es deixa la placa 20 minuts a

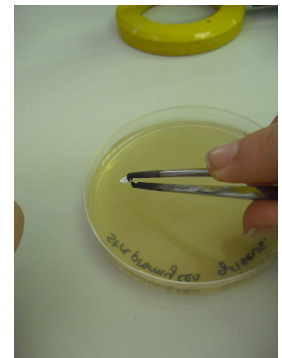


FIGURA 52: Antibiòtics.

FIGURA 53: Col·locant els antibiòtics.

temperatura ambient per permetre la difusió de l'antibiòtic.

- S'incuba a 37°C de 18 a 24 hores.
- Finalment es procedeix a la lectura que es realitza mesurant el diàmetre dels halos d'inhibició i es procedeix a la interpretació dels resultats segons la taula adjunta:

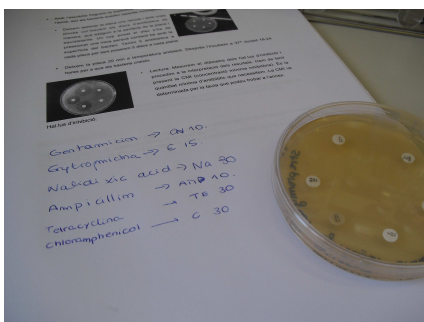


FIGURA 54: Presa de resultats de la prova.



FIGURA 55: Antibiograma amb els halus.

ESTÀNDARD INTERPRETATIU DE DIÀMETRE DE ZONES D'INHIBICIÓ I CORRELACIONS APROXIMADES AMB LA CMI

AGENT ANTIMICROBIÀ	CONTINGUT DEL DISC	RESISTENT	INTERMIG	SUSCEPTIBLE	RESISTENT CMI	SUSCEPTIBLE CMI
Ampicil·lina (enterococs)	10	< 11	12-13	> 14	> 32	< 8
Ampicil·lina (estafilococs)	10	< 20	21-28	> 29	> 32	< 0.2
Cloramfenicol	30	< 12	13-17	> 18	> 25	< 12.5
Eritromicina	15	< 13	14-17	> 18	> 8	< 2
Tetraciclina	30	< 14	15-18	> 19	> 12	< 4
Àcid nalidíxic	30	< 13	14-18	> 19	> 32	< 12



FIGURA 56: S'observa l'efecte sobre E.coli.

Per a demostrar si aquest antibiòtic té efectes sobre diferents bacteris es procedeix a sembrar una mostra d'*Streptomyces* al centre de la placa, i estenent els bacteris de forma perpendicularment travessant la franja d'antibiòtic. Ho deixarem incubar cinc dies per a obtenir els resultats.

4.2.6 Mètode per la identificació de microorganisme, API 10s

El mètode API és un sistema d'identificació ràpid per bacteris de la família Enterobacteriaceae i altres bacteris Gram. Bàsicament, consta d'uns pouets bioquímics estandarditzats i miniaturitzats i una base de dades. Aquest sistema presenta molts avantatges ja que és ràpid, eficaç i fàcil de realitzar. Cada pouet conté una prova bioquímica diferent.



FIGURA 57: Mètode API 10s.

Per a realitzar l'API cal seguir els següents passos:

- A partir d'una colònia ben aïllada del microorganisme fem una suspensió en 5ml Ringer.



FIGURA 58: Mètode API amb la solució.

- Omplim amb la suspensió de bacteris els tubs, no la cúpula (cada pouet té un tub i una cúpula, que és la part aeròbia) de tots els pouets
- Omplim la cúpula dels pouets CIT, VP i GEL amb la suspensió.



FIGURA 59: Parafina.

- Cobrim amb parafina les cúpules del pouets ADH, LDC, ODC, URE i H₂S per a obtenir anaerobiosi.
- Col·loquem la tira a la seva pròpia càmera humida d'incubació, on prèviament posem aigua per a proporcionar una atmosfera humida.
- Incubem a 37° C durant 18-24h
- Un cop feta la incubació s'anoten els resultats per a la interpretació de les dades, aquesta es porta a terme amb la comparació de colors de cada pouet amb els de la taula de lectura, i anotant el resultat com a positiu o negatiu
- Del conjunt de reaccions y resultats s'obté un perfil numèric, i si el resultat es negatiu, no sumarem res, i en el cas que surti positiu, sumarem el número corresponent al gràfic.



FIGURA 60: Mètode API incubat.

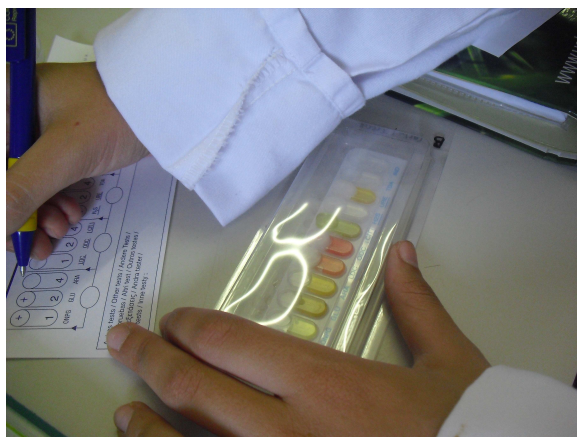


FIGURA 62: Codi de resultats.

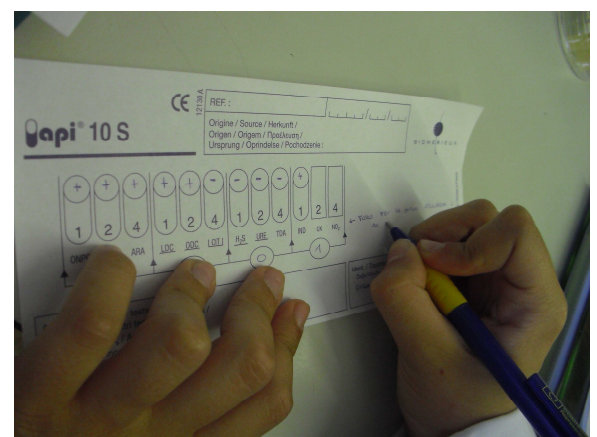


FIGURA 61: Presa de resultats.

- Amb aquest codi buscarem a la taula d'identificació l'espècie de la qual es tracta.

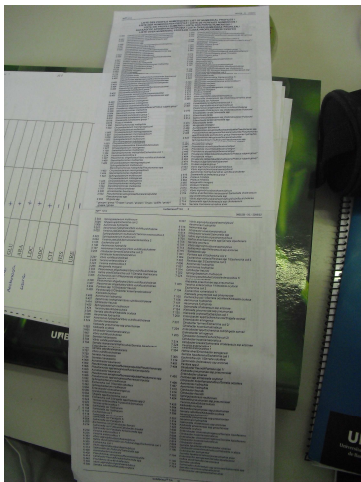


FIGURA 63: Identificació del microorganisme.

4.2.7 TDS

El TDS és un prova que es realitza per a comprovar si les aigües tenen contaminació fecal i per tant si té presència de coliforms i E.coli.

El nom complet d'aquest procés s'anomena tecnologia del substrat definit collilert i consisteix en un substrat anomenat ONPG (orto-nitroferol galactopitanòsid) amb un enzim, la β -galactopirahòsid que allibera ortonitrofenol, que es veuen de color groc si detecta coliforms i si a més detecta E. Colli els pous grocs es veuen fluorescents.



FIGURA 64: TDS, un net i un contaminat.

- S'introdueix l'aigua de la mostra en una càpsula de pous i tot seguit hi aboquem un producte químic en forma de pols, per a produir la reacció.
- Un cop ben tancada la preparació, amb una màquina especial per a fer-ho correctament, es deixa incubar en fred, no més de 18 hores, ja que es podria fer malbé.
- Transcorregut aquest temps s'observa la preparació i n'extraïem conclusions. Es conten els pous que apareixen de color groc i mitjançant una taula de valors es fa un recompte de coliforms.

- S'introdueix la mostra dins d'una capsa amb rajos ultraviolats per a comprovar si algun dels pous es fluorescent i si es així, es procedeix a fer el recompte d'E. coli utilitzant, també, la taula de valors.

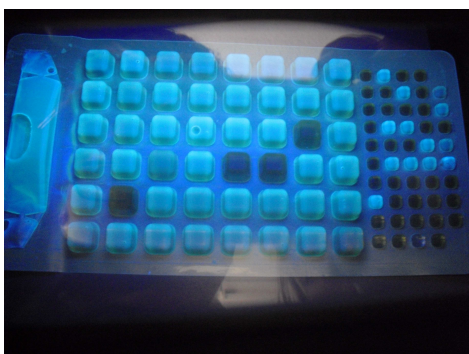


FIGURA 65: TDS contaminat amb E.coli.

FIGURA 66: Taula de resultats del TDS.

5. ENQUESTA

En aquest treball es volia posar de manifest de quina manera influeixen els comportaments humans en l'ús pertinent dels medicaments per a pal·liar malalties infeccioses.

Aquesta enquesta ha estat realitzada amb la finalitat de respondre una de les hipòtesis plantejades per la pregunta principal, ja que intentavem resoldre si prendre bé els antibiòtics seria una prevenció per evitar que es provoquin resistències.

Per realitzar-la vam intentar abastir la màxima varietat, d'edat, ambient, classe social, i sexe, per a obtenir unes dades fiables en la major mesura. Un total de 100 persones van respondre l'enquesta.

Extreure'n les conclusions ha estat relativament senzill ja que les preguntes eren molt pautades i específicament creades per a respondre les nostres preguntes.

L'enquesta que es va realitzar va ser aquesta:

- Aquesta enquesta ha estat realitzada per a extreure conclusions en un treball de recerca sobre nous antibiòtics.

Moltes gràcies per col·laborar. Irene Galán Orellana

- Sexe
 - ☒ Home
 - ☒ Dona
- Franja d'edat:
 - ☒ 14 – 20
 - ☒ 21 – 45

☐ 46 - + de 46

- **Nivell d'estudis**
 - ☐ Bàsics (ESO/EGB)
 - ☐ Mitjos (Batx., CFGM)
 - ☐ Superiors (CFGS, Universitat)
- **Pren medicaments de forma habitual?**
 - ☐ NO
 - ☐ SI
- **En cas afirmatiu que sol prendre?**
- **Té per costum automedicar-se?**
 - ☐ Mai
 - ☐ Alguna vegada
 - ☐ Sempre
- **Ha pres mai antibiòtics?**
 - ☐ NO
 - ☐ SI
 - ☐
- **En cas afirmatiu, triï la opció:**
 - ☐ Només si me'ls recepta el metge
 - ☐ Sempre que ho crec oportú
 - ☐ Altres (especifiqui)
- **Si ha respost que no, triï la opció:**
 - ☐ No m'han fet mai falta
 - ☐ Hi estic en contra
 - ☐ Al·lèrgia
 - ☐ Altres.....
- **Per quina malaltia o molèstia pren els antibiòtics?**
.....
- **Dels següents medicaments quin creu que és antibiòtic:**
 - ☐ Ibuprofè (Espidifen, Dalsy)
 - ☐ Paracetamol (Gelocatil, Termalgin, Apiretal)
 - ☐ Aspirina (Couldina, Desenfriol)
 - ☐ Amoxicil·lina (Clamoxil, Amoxil, Novamox)
 - ☐ Mucolític (Flumil, Fluimicil)
 - ☐ Almax
 - ☐ Frenadol

☐ La píndola del dia després.

- Creu que prendre antibiòtics de forma incorrecte pot suposar algun problema?

☐ No

☐ Si

- En cas afirmatiu, perquè?

.....

5.1 Resultats

Sexe

- Home: 49 %
- Dona: 51 %

Edat

- 14-20: 37 %
- 21-45: 31 %
- 46- + 46 32 %

Nivell d'estudis:

- Bàsics: 9 %
- Mitjos: 52 %
- Superiors: 39 %

Pren medicaments de forma habitual:

- No: 67 %
- Si: 33 %

En cas afirmatiu, que sol prendre?:

- Antiinflamatori: 16,70 %
- Paracetamol: 16,70 %
- Epilèpsia: 4,76 %
- Colesterol: 11,90 %
- Al·lèrgia: 7,14 %
- Estómac: 4,76 %
- Diabetis: 2,38 %

- Antibiòtic: 7,14 %
- Tensió: 4,76 %
- Dolor: 2,38 %
- Ansietat: 2,38 %
- Antigripal: 2,38 %
- Angina de pit: 2,38 %
- Xarop per a la tos: 2,38 %
- Anticonceptius: 2,38 %
- Sucre: 2,38 %
- Antipirètics: 2,38 %

Té per costum automedicar-se?:

- Mai: 24 %
- Alguna vegada: 69 %
- Sempre: 7 %

Ha pres mai antibiòtics?:

- No: 6 %
- Si: 94 %

Si ha respost que no triï la opció:

- No m'han fet mai falta: 85,7 %
- Hi estic en contra: 14,3 %

En cas afirmatiu triï la opció:

- Si me'ls recepta el metge: 76 %
- Sempre que ho crec oportú: 13 %
- Altres: 11%

Per quina malaltia o molèstia pren els antibiòtics?

- Infecció: 23,85 %
- Grip: 11,93 %
- Angines: 10,09 %
- Queixal: 5,50 %
- Bronquitis: 4,59 %
- Febre: 3,67 %
- Mal de cap: 3,67 %
- Mal de gola: 3,67 %
- Refredat: 3,67 %

- Dentista: 3,67 %
- Operacions: 3,67 %
- Sinusitis: 3,67 %
- Altres: 18,35 %

Dels següents medicaments quin creu que és antibiòtic?

- Ibuprofè: 6,25 %
- Paracetamol: 7,81 %
- Aspirina: 1,56 %
- Amoxicil·lina: 67,98 %
- Mucolític: 5,47 %
- Almax: 3,13 %
- Frenadol: 3,90 %
- Píndola del dia després: 3,90 %

Creu que prendre antibiòtics de forma incorrecte pot suposar algun problema?

- No: 7 %
- Si: 93 %

En cas afirmatiu, quin problema suposa?

- Responen correctament: 33 %
- S'acosten a la resposta correcta: 29 %
- Contesten malament: 25 %
- No contesten: 14 %

5.2 Justificació

Podem observar que hi ha més persones que no prenen medicaments (67 %) de les que ho fan de forma habitual (33 %), i aquests en gran mesura prenen antiinflamatoris i paracetamol.

A la pregunta, té per costum automedicar-se, la gran majoria dels enquestats responen que alguna vegada ho fan (69 %), mentre un percentatge inferior no ho fan mai (24 %), i molt poques persones ho fan sempre (7 %).

Pràcticament tothom ha pres antibiòtics alguna vegada a la seva vida (94 %), i els que no ho han fet es perquè no els ha fet mai falta (6 %).

A diferència dels medicaments convencionals, la gran majoria de respostes sostenen que només prenen antibiòtics si els recepta el metge.

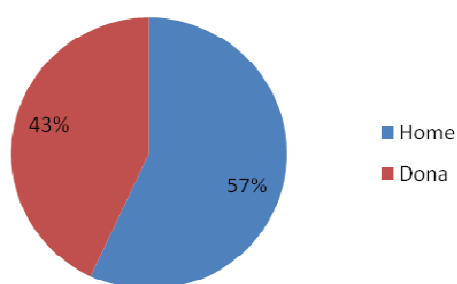
En gran mesura, la majoria de gent respon malalties infeccioses quan se'ls pregunta per a quina malaltia prenen antibiòtics (23,85 %), però en còmput total l'error és molt ampli.

S'aprecia que molts d'ells dubten a l'hora de marcar quin medicament és un antibiòtic, ja que tot i només haver de marcar una casella, varies persones n'han marcat més d'una. Tot i així el percentatge més elevat és encertat i posa de manifest que gran part dels enquestats saben que l'amoxicil·lina és un antibiòtic.

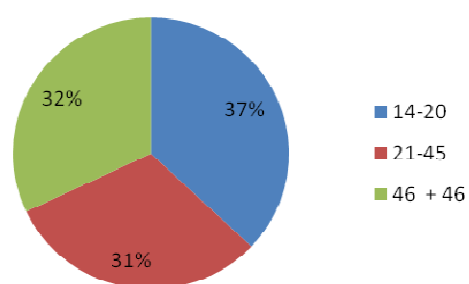
Gairebé el total dels enquestats opinen que prendre malament els antibiòtics suposa un problema (93 %) i malgrat bastants estan en l'encert o s'hi acosten bastant és elevat el percentatge d'error (39 %) a l'hora de saber quin és aquest problema.

5.3 Gràfics

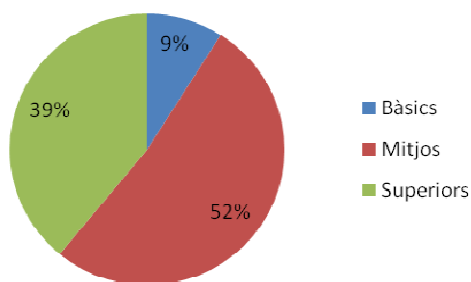
Sexe



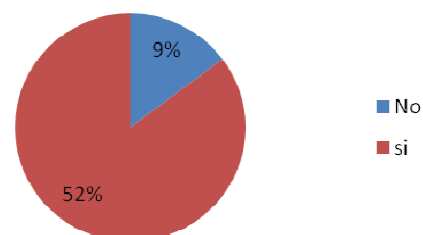
Edat



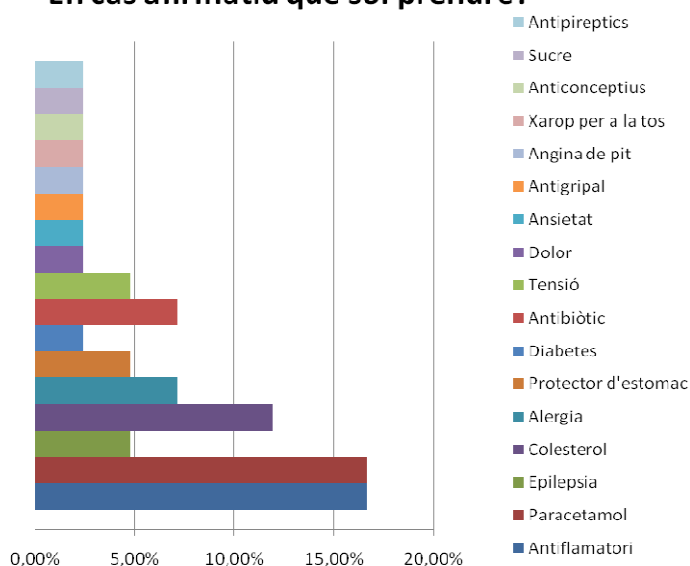
Nivell d'estudis



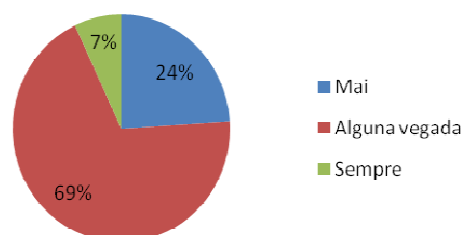
Pren medicaments de forma habitual?



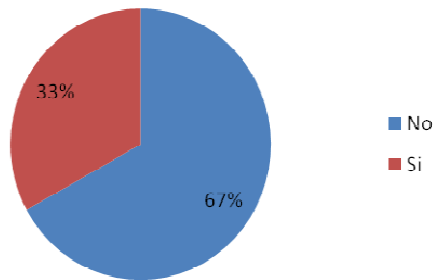
En cas afirmatiu que sol prendre?



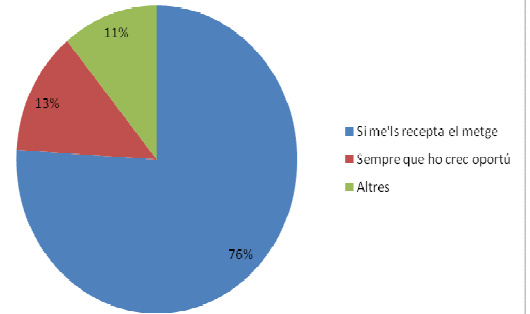
Té per costum automedicar-se?



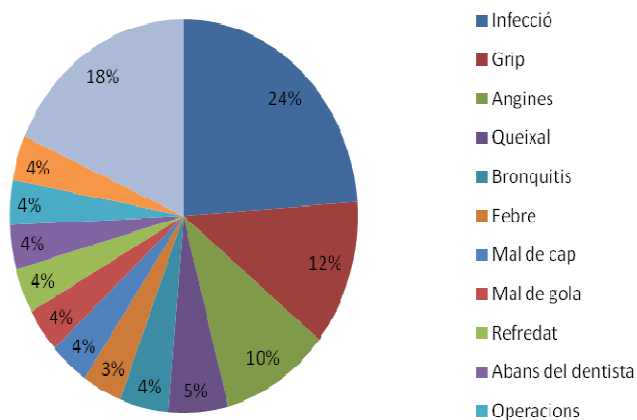
Has pres mai antibiòtics?



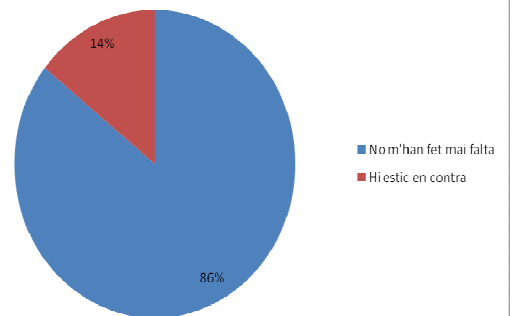
En cas afirmatiu d'haver pres antibiòtics



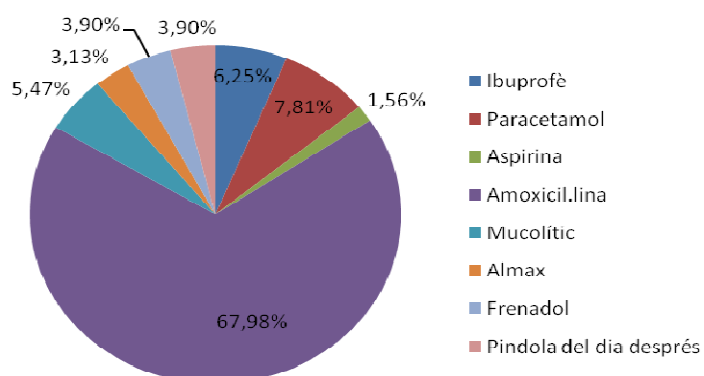
Per quina malaltia o molèstia pren els antibiòtics?



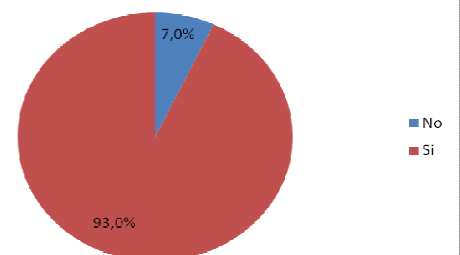
En cas de no haver pres mai antibiòtics

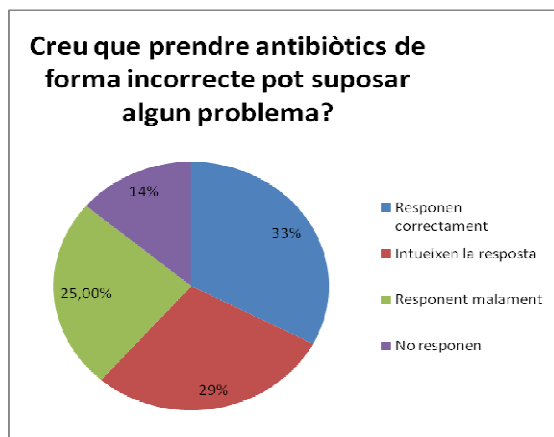


Dels següents medicaments quin creus que és antibiòtic?



Creu que prendre antibiòtics de forma incorrecte pot suposar algun problema?





Un cop buidades les enquestes podem extreure'n algunes dades que ens seran molt útils:

- **Com influeix el nivell d'estudis amb saber quin es el problema que provoquen els antibiòtics? I l'edat?**

S'observa que la gent amb estudis bàsics, que son el 9 % dels enquestats responen en la seva majoria correctament o s'hi acosten. Cal tenir en compte que s'aprecia un fet característic que fa que estiguin correctes i és degut a la franja d'edat a la que corresponen; la de 46 o més de 46.

Les persones amb estudis mitjos, corresponent al 52 %, 5 de cada 10 responen de manera incorrecta, i la proporció és simètrica en les respostes correctes. Pel que fa les errònies, es reflecteixen en gran part a la franja d'edat de 14 a 20 anys, dada que es repeteix a les respostes correctes.

La gran majoria d'enquestats amb estudis superiors responen de manera molt encertada en qualsevol franja d'edat. Cal tenir en compte que la franja que comprèn dels 14 als 20 anys pràcticament no es veu afectada. Dels que ho plantegen malament, la majoria són persones joves que tot just inicien els seus estudis universitaris o similars.

- **Prendre medicaments habitualment influeix en saber quina és la problemàtica?**

La gent que pren medicaments de forma habitual, en un 70 % responen correctament i el 30 % respon erròniament no ho sap o no contesten.

Dels enquestats que responen que no prenen medicaments, el 60 % d'aquests responen correctament, l'altre 40 % respon de manera incorrecta.

- **Influeix automedicar-se en saber quin problema suposa prendre malament antibiòtics?**

En les tres opcions; mai, alguna vegada o sempre, el percentatge d'encert és més elevat que el de l'error. Tot i això la gent que alguna vegada o sempre s'automedica contesten millor en major proporció.

- **La gent que no sap dir a quin grup pertanyen els antibiòtics, saben quin problema suposa prendre'ls malament?**

Els coneixements dels efectes és directament proporcional al coneixement dels medicaments oportuns. És a dir que la gent que respon correctament a la pregunta dels problemes que suposa prendre malament els antibiòtics, també és conscient de quin grup de medicaments ho són.

Com a conclusions generals, podríem dir que el nivell d'estudis no sol ser rellevant en el coneixement del que suposa un mal ús, però si que podem observar que el que afecta és l'edat i la informació que s'adquireix en el decurs del temps.

No s'aprecia una gran diferència de coneixement pel que fa les persones que prenen o no medicaments de manera habitual, però si que observem que els que ho fan esporàdicament de manera pròpia saben del cert el que implica fer un mal ús dels antibiòtic.

6. RESULTATS I CONCLUSIONS

Un cop arribat aquest moment del treball hem de tornar a plantejar les hipòtesis formulades i donar una solució refutant o afirmant-les.

- **Problema: Perquè ens fem tant resistents als antibiòtics? I és possible trobar-ne de nous?**

Ens fem resistents als antibiòtics perquè no els prenem de manera correcta, la gran majoria de la població comet errors en el subministrament del medicament fet que desenvolupa problemes per a tots els àmbits de la salut. Aquest problema es pot fer més gran i més greu en el decurs dels anys i això succeirà de manera més marcada si, tal com ara les empreses farmacèutiques no mostren aquest tema com a prioritari.

Hipòtesi 1: Potser fer un tractament incorrecte en l'ús d'antibiòtics incrementa les resistències que es poden fer.

Aquesta hipòtesi la podem considerar correcta ja que els bacteris es reproduïxen amb molta velocitat i d'entre tots, algun d'aquest pot sortir mutat. Si aquest bacteri, per selecció natural aconsegueix sobreviure, i això afecta a les dianes moleculars les cèl·lules poden tornar-se resistents i tots els bacteris que en resultin d'aquest també ho seran. El fet de prendre antibiòtics correctament

provoca la mort dels bacteris i per tant evita la seva reproducció fent que la probabilitat que surti un d'ells mutat sigui inferior.

Hipòtesi 2: Probablement es poden trobar en el sòl nous antibiòtics no sintètics.

La metodologia i la recerca experimental d'aquest treball ens ha permès demostrar amb proves evidents que això és cert. Es confirma la hipòtesis.

Hipòtesi 3: Potser aquests nous antibiòtics tindrien efectes curatius amb qualsevol microorganisme.

Per a poder refutar aquesta hipòtesi cal realitzar les proves pertinents, i s'ha demostrat que no actuen sobre tots els microorganismes però són capaços de inhibir el creixement d'alguns. Per començar, l'antibiòtic no té efecte sobre el mateix microorganisme que el produeix ni tampoc en cap que sigui de la mateixa espècie i el mateix gènere. A més, hi ha microorganismes resistents a segons quins antibiòtics de manera que és impossible que un mateix antibiòtic sigui eficaç contra qualsevol tipus de microorganisme. Per tant podem dir que no es compleix la nostra hipòtesi ja que no té efectes curatius en tot tipus de microorganisme.

Hipòtesi 4: Potser el fet de seguir de manera correcta el tractament d'antibiòtics faria que aquest problema inicial disminuís.

Hem pogut observar per mitjà de les enquestes realitzades que la gent no sempre sap quin problema suposa fer-ne un ús incorrecte, però sí que hem pogut constatar que la gent que en fa un bon ús és totalment conscient de la problemàtica social que comporta no prendre bé els antibiòtics. Per tant resollem que si se'n fes un bon ús no caldria fabricar-ne de nous, i el seu efecte a nivell global seria d'un percentatge més elevat ja que no es crearien tantes resistències. En conclusió la hipòtesi es correcta.

7. A TENIR EN COMPTE...

- L'Estat espanyol es troba entre els estats europeus amb una taxa d'automedicació més alta i més acumulació d'antibiòtics a casa, malgrat que aquests són prescrits, en teoria, amb recepta mèdica.
- També és un dels estats de la UE amb un consum d'antibiòtics més alt, especialment de penicil·lines (22,1 dosis diàries per cada 100 habitants i dia).
- Com a conseqüència, també és un dels que té un percentatge més alt de soques bacterianes resistents. Un terç de les soques de *Streptococcus pneumoniae*, causant de pneumònies són resistents a la penicil·lina; el 30 % dels *Staphylococcus* són resistents a l'amoxicil·lina, i el 60 % de les soques d'*Escherichia coli*, són resistents a l'ampicil·lina.

- L'elevat consum d'antibiòtics no és degut a l'elevat nombre d'infeccions bacterianes, sinó al fet que s'estan prenent per tractar infeccions causades per virus, quan aquests no responen al tractament d'antibiòtics.
- En definitiva, els antibiòtics són totalment ineficaços per tractar les infeccions més freqüents, com els refredats, catarrs o gripes, infeccions que són causades per virus. Tampoc no fan disminuir la febre ni eviten el risc de contagi.
- El bon ús dels antibiòtics inclou la selecció del medicament més adequat i prendre'n la dosi correcta durant el període de temps apropiat per tal d'eliminar els bacteris patògens de forma ràpida i efectiva.

8. VALORACIÓ PERSONAL

Després de 7 mesos d'investigació i recerca per tal de realitzar aquest treball, ho valoro com una experiència molt positiva i enriquidora.

Per una banda, he après a conviure en un àmbit fora de l'escolar amb gent realment oberta i cordial que m'ha donat l'oportunitat de treballar amb ells i m'han ensenyat coses que no sabia, així com tots els companys, i ara ja amics, que he conegut al projecte ARGÓ.

A més, després de realitzar aquest treball de recerca penso que he après molt del tema; els antibiòtics, els seus problemes i les seves solucions, cosa que m'il·lusiona ja que ho trobo un tema apassionant, al qual m'agradaria dedicar-me en un futur no massa llunyà.

Estic molt contenta de la feina realitzada, de tot el que he après i de la maduresa que el treball de recerca fa adquirir en l'àmbit de les relacions humanes i de la feina ben feta.

9. AGRAÏMENTS

Aquest treball no hauria estat possible sense l'ajuda de molta gent que m'ha acompanyat durant aquest temps. Tant els que els semblava un tema apassionant, com als que pensaven que era un avorriment que amb les seves aportacions personals m'han enriquit molt positivament la meua visió de global de l'experiència. M'agradaria agrair a la Carmina Seoane, la meua tutora per assessorar-me en tots els àmbits del treball, apostar per mi i demostrar-m'ho. Donar les gràcies també a tots els professors i tècnics de la UAB per fer que el meu estiu fos completament microbiològic d'una manera amena i entenedora per fer un treball complet i acurat. També agrair a tota la gent que ha respost les enquestes perquè de manera indirecta i sense saber-ho, conformen una part molt important de la recerca, i sobretot, m'agradaria agrair a la meua família i amics el suport moral i emocional que m'ha proporcionat en tot moment, que han mirat i remirat el treball per tal que estigués el millor possible, i han sabut criticar constructivament el que han cregut oportú. Moltes gràcies a tots.

10. GLOSSARI

Autoclau: Recipient en el qual el material a esterilitzar, de mesures tipificades, entra i surt contínuament salvant la diferència de pressió mitjançant comportes mecàniques.

Bacteri: Classe de microorganismes unicel·lulars d'estructura procariòtica generalment heterotròfics i amb multiplicació.

Biofilm: Comunitat de microorganismes adherits a una superfície viva i inerta.

Colònia: Massa de cèl·lules bacterianes originades per la reproducció d'un bacteri aïllat en un medi sòlid.

Cultiu: Tècnica de laboratori que té per finalitat obtenir i manipular quantitats elevades de microorganismes per poder-los estudiar o extreure'n substàncies.

Dilució: Operació, mitjançant la qual, s'augmenta la proporció de solvent respecte al solut d'una solució.

Enzim: Biomolècula que catalitza (augmenten la velocitat) de les reaccions químiques.

Espècie: Grup d'individus que tenen atributs comuns i descendència fèril.

Gènere: Grup natural d'éssers que s'assemblen per certs caràcters essencials.

Gens: Seqüència lineal de nucleòtids de DNA i RNA, que emmagatzema la informació de l'individu.

Hàbitat: Lloc físic on hi viu un organisme.

Medi: Conjunt de condicions ambientals que constitueixen el marc on s'esdevé l'existència d'un ésser viu o d'una comunitat.

Microorganisme: Organisme que no pot ser observat si no és amb l'ajut d'una lupa o d'un microscopi.

Mostra: Porció finita d'una població que és utilitzada per a extrapolar conclusions sobre diverses característiques de la població total.

pH: Concepte utilitzat per donar una mesura quantitativa de l'acidesa o basicitat d'una dissolució.

Placa de Petri: Recipient cilíndric, de vidre o de plàstic, de poca altura i base ampla, utilitzat en t

Població: Conjunt d'individus de la mateixa espècie que ocupen un àrea concreta en un moment determinat.

Resistència: Capacitat d'un microorganisme per resistir els efectes d'un antibiòtic.

Sonificador: Aparell que produeix unes vibracions moleculars dels sòlids i els dispersa.

11. BIBLIOGRAFIA

El libro de las pandemias . Dr. Peter Moore. Ed. Océano, 2009

Farmacologia. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore. Ed. Elsevier, 2004

Brock. Thomas D. Brock. Ed. Omega, 1973

Brock. Thomas D. Brock. Ed. Pearson, 2004

Cómo funcionan los fármacos. Trevor Stone, Gail Darlington. Ed. Ariel, 2001

¿Por qué enfermamos?. Randolph M.Nesse, George C. Williams. Ed. Grijalbo, 2000

Principios de Farmacología clínica. Josep-Eladi Baños Díez, Magí Farré Albaladejo. Ed. Masson,2002

Elaboración de preparados farmacéuticos i parafarmacéuticos. Carmen D. Luis, Ma. A. Camacho, Gloria Sánchez-Cascado, Gonzalo J.Mingo. Ed. Mc Graw Hill, 2001

Fleming, la prodigiosa penicilina. José Camacho Arias. Ed. Nivola, 2008

Biocontext 2. M. Costa, M.formiguera, M.Llobera, J.M. Llord, J. de Manuel, J. Molina, P.Montserrat, T. Padrosa. Ed. Teide ,2009

Dossiers de microbiologia. Proporcionats pel projecte ARGÓ.