

Treball de recerca

Estudi de la resistència de l'*Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

2n B Batxillerat

Curs 2012-2013

ÍNDEX

Introducció

BLOC I: PART TEÒRICA

1. Els bacteris

- 1.1. Estructura general
- 1.2. Classificació.

2. Cultius

- 2.1. Medis de cultiu
- 2.2. Sembra

3. Antibiòtics

- 3.1. A nivell de paret cel·lular
- 3.2. A nivell d'acció sobre l'ADN
- 3.3. A nivell de ribosomes

4. *Staphylococcus epidermis*

- 4.1. Descripció general
- 4.2. Classificació científica

BLOC II PART PRÀCTICA

1. Descripció de l'experiment

- 1.1. Objectiu
- 1.2. Material
- 1.3. Metodologia i procediment

Conclusió i Agraïments

Introducció:

A l'hora d'escollir el tema del treball de recerca no tenia cap idea que m'acabés de convèncer.

Primer se'm va acudir recercar sobre les diferències que tenim els homes i les dones en l'estructura de l'esquelet, més endavant vaig voler estudiar el creixement humà analitzant els nois i noies en edat de creixement. Finalment però, em vaig acabar decantant cap al món de la microbiologia, més concretament cap a la bacteriologia, ja que al ser una ciència que estudia organismes que no són visibles a ull nu, sempre m'ha cridat l'atenció. A més, crec que amb l'excusa de fer un treball d'aquest tema he pogut comprovar si realment m'interessa prou aquesta ciència per realitzar més estudis relacionats amb ella en un futur.

En aquesta recerca, i concretament en l'elaboració dels experiments realitzats, he posat en pràctica alguns dels coneixements assolits al llarg dels cursos, però sobre tot també n'he après molts de nous; aquesta penso que és exactament l'essència de la recerca.

En els experiments duts a terme, he comprovat la capacitat que té un bacteri, concretament *Staphylococcus epidermis*, per créixer en un medi que no li és favorable, i com a conseqüència, la seva capacitat de mutar. També m'ha agradat veure l'efecte que té la Novobiocina, un dels seus antibiòtics, en les soques originals respecte a les dels altres medis. A més, creant els meus propis medis de cultiu, a partir de brou i realitzant el mateix experiment, he pogut comparar els resultats de les dues experiències i extreure'n conclusions.

Els experiments però, estan adaptats a les meves limitacions d'estudiant de batxillerat i a les dels costos de material, ja que les proves que es realitzen als laboratoris es fan a gran escala, i els repeteixen varies vegades. Per això en alguns moments he hagut de trobar solucions a problemes que en un altre context o situació no se m'haurien plantejat.

La majoria d'informació que he utilitzat per realitzar la part pràctica ha estat extreta d'Internet; de webs de ciència, però també de llibres i enciclopèdies.

La idea de fer aquests experiments comença en proves ja realitzades per altres persones. Però per altra banda està composta per aportacions pròpies, que sota la supervisió del meu tutor de treball, Salvador Torné, han ajudat a arrodonir tot aquest treball.

1. Els bacteris

Els bacteris són éssers vius unicel·lulars, que formen part del regne dels moneres (o protist inferiors). Són cèl·lules procariotes que, traduït-ho del grec, significa “abans del nucli”. Això no vol dir que aquest tipus de cèl·lules no tingui ADN, sinó que es refereix a que no tenen un nucli diferenciat, que el seu ADN no està contingut per cap embolcall ni per cap membrana nuclear.

Aquests microorganismes foren observats per primer cop a través d'un microscopi per Antoni van Leeuwenhoek¹ l'any 1683, però fins el 1828 no van ser anomenats bacteris.

Al cap de mig segle, Robert Koch² descobrí que aquests microorganismes eren la causa de la majoria de les malalties mortals de l'època i creà uns postulats per determinar si un bacteri és o no la causa d'una determinada malaltia.

1.1. Estructura general

En general el tamany que acostumen a tenir les bacteris no supera 1µm de diàmetre i pot oscil·lar des d'1µm fins a 100µm pel que fa a la llargada.

Les parts³ principals que comparteixen tots ells són:

¹ Veure annex (biografia Antoni van Leeuwenhoek)

² Veure annex (biografia Robert Koch).

³ Veure annex (imatge parts dels bacteris).

1.1.1. Membrana plasmàtica ⁴

La membrana plasmàtica és un embolcall molt fi que delimita la cèl·lula i té una gran similitud amb les membranes que envolten la resta d'òrgans. La seva amplada és d'uns 75 Å i per aquesta raó només és visible amb un microscopi electrònic.

Segons el model de "mosaic fluid" que van proposar Nicholson i Singer el 1972, sobre la membrana cel·lular, aquesta està constituïda per fosfolípids, principalment, glicolípid i colesterol. Aquestes molècules són amfipàtiques⁵, i per tant la seva part hidròfila s'orienta cap al medi polar, en aquest cas l'aigua de dins i fora la cèl·lula, i la seva part hidròfoba ho fa cap a la part de l'altra capa que té les mateixes característiques. D'aquesta manera es crea la bicapa lipídica.

El colesterol, en les cèl·lules eucariotes, impedeix l'excessiva viscositat entre les dues capes i dona consistència i estabilitat a la membrana. Es troba situat a l'interior de la membrana plasmàtica.

En les cèl·lules procariotes, concretament en els bacteris, aquesta substància és molt escassa, degut a que la paret bacteriana ja duu a terme la seva funció.

Aquests dos científics, esmentats anteriorment, també van afirmar que gairebé un 50% de la capa està composta per proteïnes, que realitzen funcions de transport o enzimàtiques. Depenent de la seva situació en la bicapa es classifiquen en:

⁴ Veure annex (imatge membrana plasmàtica).

⁵ Molècula que presenta polaritat i apolaritat.

→ Proteïnes integrals (intrínseques): estan integrades en la bicapa lipídica. Aquestes proteïnes poden travessar una part de la membrana o la poden travessar completament (proteïnes transmembranoses).

→ Proteïnes perifèriques (extrínseques): no estan integrades a la bicapa lipídica i només se situen a la cara de la membrana, que està en contacte amb el citoplasma.

Per altra banda, a la part exterior de la bicapa lipídica, hi podem trobar glicolípidis i glicoproteïnes que actuen com a receptors de membrana.

Les funcions que duu a terme la membrana plasmàtica són diverses, però les principals són regular l'entrada i la sortida de substàncies i delimitar la cèl·lula per tal de separar el medi aquós interior del medi exterior.

Els replecs interiors que acostuma a presentar aquesta membrana s'anomenen mesosomes. Estan presents en la majoria dels bacteris, però no se sap exactament la funció que duen a terme. Es creu que tenen un paper en la reproducció dels bacteris, ja que podrien ajudar en el moment de la partició.

1.1.2. Ribosomes

Els ribosomes són petits orgànuls cel·lulars presents a totes les cèl·lules, ja sigui lliures pel citoplasma o enganxats a les parets del reticle endoplasmàtic rugós. En els bacteris però, només en trobem de lliures.

Van ser descoberts per George Emil Palade, Albert Claude i Christian de Duve l'any 1956 i al 1974 se'ls va atorgar el Premi Nobel.

Aquests orgànuls cel·lulars tenen un diàmetre total que pot oscil·lar entre 150 i 250Å, encara que els podem trobar subdividir en dues subunitats, una de gran i una de més petita. Estan compostos per proteïnes i ARNr.

Normalment, quan observem ribosomes dins una cèl·lula procariota, els trobem lliures pel citoplasma o bé organitzats en grups lineals de 5 a 40 unitats anomenats polisomes. Aquesta observació l'hauríem de realitzar a través d'un microscopi electrònic, ja que a causa del seu reduït tamany, aquests orgànuls no són visibles en un microscopi òptic.

Els ribosomes dels bacteris són de classe 70s⁶ i per tant són un 35% més petits que els de les cèl·lules eucariotes que són de classe 80s. La seva funció però, és la mateixa: duen a terme la síntesi de proteïnes (procés de traducció)⁷ juntament amb l'ARNt, els aminoàcids i l'ARNm. Per aquesta raó són considerats una de les bases del creixement cel·lular.

1.1.3. Nucleoide (cromosoma bacterià)⁸

En la molècula de DNA hi trobem emmagatzemada tota la informació de l'organisme, ja sigui eucariota, procariota, unicel·lular o pluricel·lular.

La principal diferència de les cèl·lules procariotes respecte les eucariotes, és el fet de no tenir una membrana nuclear que retengui el material genètic. Això no vol dir però, que el DNA de les cèl·lules procariotes estigui dispers pel citoplasma, sinó que es troba tot concentrat en una zona que s'anomena nucleoide o cromosoma bacterià.

⁶ Unitat de mesura Svedberg. Mesura el grau de sedimentació en una centrifugació.

⁷ Veure annex (imatge procés de traducció).

⁸ Veure annex (imatge nucleoide).

Aquest material genètic es troba constituït per una doble cadena circular tancada. No presenta histones⁹, sinó un altre tipus de proteïnes i ions de magnesi que realitzen la mateixa funció.

Però aquesta afirmació que diu que la totalitat del material genètic d'un bacteri es concentra en el nucleoide, no és del tot certa. En la majoria dels bacteris, una gran part del material genètic si que es concentra en el cromosoma bacterià, però una part d'aquest material està aïllat de la resta. Són els plasmidis.

Els plasmidis tenen la particularitat de autoreplicar-se, i de poder transmetre's a un altre bacteri a través d'un conducte anomenat pili. Aquesta última propietat en alguns casos els és molt útil, ja que si per exemple un antibiòtic els està "atacant" i un bacteri té un plasmidi que li proporciona resistència, el pot passar a altres bacteris i d'aquesta manera procurar que l'antibiòtic no els afecti.

1.1.4. Paret bacteriana¹⁰

La paret bacteriana és un embolcall que presenten la majoria dels bacteris i és una de les seves parts més rígides.

Les funcions bàsiques d'aquest embolcall són: mantenir la forma característica dels bacteris, deixar passar les sals i les molècules orgàniques de baix pes molecular i protegir el bacteri d'atacs externs.

⁹ Histones: proteïnes específiques de les cèl·lules eucariotes que juntament amb el DNA formen la cromatina, que és un primer nivell de replegament del material genètic.

¹⁰ Veure annex (imatge paret cel·lula bacteriana).

Aquesta paret cel·lular té la propietat de tenyir-se de color violeta en la tinció de Gram. A partir d'aquest procés podem determinar si un bacteri és grampositiu o gramnegatiu.

1.1.5. Flagels¹¹

Els flagels són prolongacions que tenen la majoria dels bacteris. La seva longitud pot arribar a ser més gran i tot que el propi bacteri i la quantitat per organisme pot variar. Aquestes prolongacions, en els bacteris, són molt més senzilles que les de les cèl·lules eucariotes i estan compostes principalment per una proteïna anomenada flagel·lina.

La seva funció principal és la d'impulsar la cèl·lula bacteriana. Aquests impulsos poden arribar a 60 vegades el seu cos per segon, que és molt més dels 25 cossos/segon que pot arribar a fer un guepard.

→Segons el nombre de flagels trobem bacteris monòtrics, àtrics, monòtrics, lofòtrics, amfítrics i perítrics.

¹¹ Veure annex (imatge flagels).

1.2. Classificació:

Avui en dia per diferenciar l'àmplia diversitat de bacteris s'han agrupat en base a diferents criteris. Tot i així, una de les classificacions que es fa servir més en aquests moments, és la de determinar el contingut d'àcids nucleics, o bé la d'hibridar¹² el seu material genètic.

1.2.1. Segons la forma.

→Bacils: Són bacteris en forma de bastó.

Ex: *Bacil de Koch*

→Cocs: Tenen forma esfèrica i segons les seves agrupacions es classifiquen en: diplococs (en parella), estreptococs (en cadena), estafilococs (en raïm), en nombre de 4 i en paquets.

Ex: *Staphylococcus aureus*.

→Espirils: Bacteris en forma d'espiral.

Ex: *Treponema pallidum*.

→Vibrions: En forma de coma.

Ex: *Vibrio cholerae*.

¹² La hibridació és un procés pel qual podem determinar si l'ADN és de cadena simple o doble.

1.2.2. Segons el seu metabolisme.

→Fotoheteròtrofs o fotoorganòtrofs: la seva font d'energia és la llum i l'origen del carboni que obtenen és orgànic.

Ex: *Rhodospirillum*

→Quimioautòtrofs o quimiolitòtrofs: obtenen energia de les reaccions químiques del seu metabolisme i l'origen del seu carboni és inorgànic (oxidació de matèria inorgànica).

Ex: *Acidithiobacillus thiooxidans*

→Quimioheteròtrofs o quimioorganòtrofs: obtenen energia de les reaccions químiques del seu metabolisme i l'origen del seu carboni és orgànic (oxidació de matèria orgànica).

Ex: *Aurantimonadaceae*

1.2.3. Segons la temperatura òptima per viure.

→Termòfils: són un tipus de bacteris que poden viure a temperatures de 55°C a 75°C. Són emprats en biologia molecular en el procés de PCR.

Ex: *Thermus thermophilus*

→Mesòfils: poden viure a temperatures de 30°C a 45°C. Es desenvolupen de manera exponencial dins el cos dels animals.

Ex: *Staphylococcus aureus*

→Psicròfils: la seva temperatura òptima és de 12°C a 15°C, tot i que poden viure fins a -5°C. Dins d'aquest grup també trobem els psicròfils facultatius o psicròtrofs que la seva temperatura òptima és dels 25°C als 30°C.

Ex: *Flavobacterium psychrophilum*

1.2.4. Segons el pH òptim per viure.

→Acidòfiles: es desenvolupen en un pH entre 1 i 5.

Ex: *Helicobacter pylori*

→Neutròfiles: es desenvolupen en un pH entre 5,5 i 8,5.

Ex: *Salmonella tiphimurium*

→Basòfiles: es desenvolupen en un pH entre 9 i 10.

Ex: *Vibrio cholerae*.

1.2.5. Segons la tinció de Gram

A partir de la tinció de Gram, podem classificar els bacteris en dos grups:

→Els grampositius (gram⁺): presenten una capa monoestratificada formada per peptidoglicans. En la tinció de Gram queden de color blau.

Ex: *Staphylococcus epidermis*

→Els gram negatius (gram⁻): presenten una capa biestratificada, formada per una capa semblant a la dels grampositius –constituïda per

peptidoglicans- i una altra capa anomenada membrana externa. En la tinció de Gram queden de color vermell.

Ex: *Escherichia coli*

1.2.6. Segons el nombre de flagels

Segons el nombre de flagels que trobem per cèl·lula, podem classificar els bacteris en:

→Àtrics: que no presenten flagels.

Ex: *Mycobacterium tuberculosis*

→Monòtrics: que presenten un sol flagel.

Ex: *Vibrio cholerae*

→Lofòtrics: que presenten diversos flagels en un sol pol del bacteri.

Ex: *Spirillum volutans*

→Amfítrics: que presenten grups de flagels als dos pols del bacteri.

Ex: *Aquaspirillum aquaticum*

→Perítrics: que estan envoltats per flagels.

Ex: *Proteus mirabilis*

2. Cultius

2.1. Medis de cultiu

Per tal d'estudiar els bacteris de manera més detallada en el camp de la bacteriologia o la medicina s'usen els anomenats brous o medis de cultiu.

Aquests medis proporcionen unes condicions que permeten la vida dels bacteris i la seva proliferació, i han de reunir unes característiques òptimes de temperatura (mitjançant una estufa de cultius en cas necessari), grau d'humitat, pressió, llum ambiental, nutrients i acidesa o alcalinitat, així com l'esterilitat del medi. La base de la majoria d'aquests cultius són les infusions d'extractes de carn i peptona¹³.

Podem trobar medis líquids, que permeten la barreja de microorganismes i un millor intercanvi de gasos; o medis sòlids, que són la gelificació dels medis líquids mitjançant agar¹⁴ i que permeten l'aïllament dels bacteris en colònies. Es faran servir uns medis o altres segons les necessitats d'experimentació.

Els brous de cultiu poden ser de diferents classes per tal de poder cultivar espècies diferents. Avui en dia podem trobar més de 10.000 medis diferents. Alguns dels més comuns són: agar nutritiu, agar sang, agar C.L.E.D., agar S.S., agar Chapman, agar Kigler, McConkey, etc.

Tots aquests medis també es divideixen en varis grups:

¹³ La peptona és un polipèptid que sorgeix de la degradació enzimàtica de les proteïnes i és la principal font de nitrogen en els medis de cultiu.

¹⁴ L'agar és un element solidificant que s'utilitza en la preparació de medis de cultiu sòlids. La seva temperatura d'ebullició és de 95°C, però es solidifica als 40°C.

2.1.1. Medi mínim

En aquest medi trobem els elements químics i els compostos estrictament necessaris per al creixement de qualsevol bacteri: $C_6H_{12}O_6$ (glucosa: font de carboni i energia), K_2HPO_4 (dihidrogenfosfat de potassi), $(NH_4)_2SO_4$ (sulfat d'amoni), $MgCl_2$ (clorur de magnesi), $CaCl_2$ (clorur de calci), Cu (coure), Zn (zenc), Co (cobalt), Ni (níquel), B (bor), Ti (titani) i H_2O (aigua).

Ex: Agar nutritiu.

2.1.2. Medi selectiu

Aquest tipus de medis estan preparats perquè únicament hi creixi un microorganisme determinat. Per fer-ho, s'afegeixen al medi productes determinats que inhibeixen el creixement dels bacteris no desitjats i per tant afavoreixen el creixement d'aquells que seran objecte d'estudi.

Ex: Mc Conkey, PALCAM

2.1.3. Medi diferencial

Un medi diferencial permet distingir entre dos gèneres o espècies de bacteris que creixen en característiques molt semblants, tenint de diferent color un dels dos grups de microorganismes sense inhibir el creixement de cap dels organismes que hi ha en el medi.

Ex: CLED

2.1.4. Medi d'enriquiment

Aquests medis, a part de comptar amb les substàncies corrents, presenten uns additius biològics o artificials favorables per al creixement concret d'una espècie. En general solen ser medis líquids.

Ex: Agar Xocolata, Agar Sang,

2.1.5. Medi de multiplicació

S'utilitzen per obtenir una gran quantitat de cèl·lules a partir d'un microorganisme ja aïllat. Aquests medis solen ser líquids.

2.1.6. Medi de conservació o de transport

Aquests medis son utilitzats per conservar soques bacterianes que en un moment determinat no es vulguin fer servir i també per conservar espècies d'algun tipus específic que estiguin en perill d'extinció o bé amenaçades. Per tant, aquests medis seran de llarga durada.

També són utilitzats per transportar mostres clíniques que no poden ser sembrades immediatament.

Ex: Venkat-Ramakrishnan (*V. Cholerae*)

2.2. Sembra

La sembra és un procés a nivell microbacterià que consisteix a inocular microorganismes provinents de medis diversos a un medi nutritiu adient (brou o medi de cultiu) per tal d'afavorir el seu creixement, augmentar les seves colònies i així poder fer-ne un estudi.

La majoria de sembres en cultiu sòlid es fan mitjançant una nansa de Kolle, que consta d'un filferro acabat en forma d'anell i un mànec, amb la qual podem agafar part de la mostra bacteriana i la "sembrem" en un nou medi de cultiu.

Però també hi ha un altres tipus de nanses, com la de Digrafsky, que s'utilitzen per cultivar medis líquids. Aquesta nansa en concret, aconseguix una gran homogeneïtat del cultiu.

Per dur a terme un procés de sembra podem utilitzar diverses metodologies. Les dues més comuns són:

2.2.1. Sembra escocesa¹⁵

L'objectiu d'aquest tipus de sembra és aconseguir cultivar colònies aïllades de bacteris. Per realitzar-la farem servir la nansa de Kolle, esterilitzant-la prèviament a la flama del fogonet, i agafarem una petita mostra dels bacteris a sembrar.

En un medi de cultiu sòlid, preparat en una placa, procedirem a dibuixar quatre estries paral·leles amb la nansa. Aquest procés el realitzarem tres

¹⁵ Veure annex (imatge sembra escocesa).

vegades més, girant la placa uns 45° cada vegada, esterilitzant prèviament la nansa entre sembra i sembra, de manera que les estries quedïn sobreposades les unes amb les altres formant quadrícula.

La primera tongada d'estries i l' última, però, no han de mantenir contacte. D'aquesta manera aconseguirem aïllar les diferents colònies de microorganismes del cultiu mixt.

2.2.2. Sembra per estria simple¹⁶

La sembra per estria simple és un mètode de cultiu bacterià que s'usa més en cultius purs que en els mixtos, ja que el seu objectiu és determinar algunes característiques concretes d'un tipus de bacteris, i no aïllar-los en colònies.

Aquesta sembra es basa en arrossegar la nansa de Kolle carregada amb la mostra bacteriana sobre el medi de cultiu, en aquest cas també sòlid, fent una estria en "ziga-zaga" i ocupant tota la superfície de la placa.

D'aquesta manera el creixement serà confluent i uniforme i no es distingiran colònies separades.

¹⁶ Veure annex (imatge sembra per estria simple)

3. Antibiòtics

Els antibiòtics són substàncies químiques capaces d'aturar el creixement o, en dosis més altes, d'eliminar els organismes.

La seva estructura química és normalment cíclica, de caràcter glucídica o proteic.

El primer antibiòtic d'ús terapèutic va ser descobert per Alexander Fleming¹⁷, i va ser anomenat Penicil·lina, ja que provenia d'un fong de la classe dels penicillium.

Actualment però, la majoria dels antibiòtics que s'utilitzen en medicina i en veterinària, estan sintetitzats al laboratori en comptes de ser extrets d'altres organismes, i a més gràcies a les tècniques emprades en biotecnologia i enginyeria genètica, se'n pot modificar l'estructura química per tal de fer-los més eficaços contra els bacteris que han mutat i per tant que han creat resistència¹⁸.

Per determinar l'acció que té un antibiòtic sobre un bacteri, es duen a terme els antibiogrames: unes proves en les quals posant uns discs d'antibiòtic sobre un cultiu de bacteris podem determinar quin d'ells és el més efectiu contra el microorganisme.

Cada antibiòtic té una certa toxicitat, i per tant només s'empren els que es consideren de toxicitat baixa o mitjana.

¹⁷ Veure annex (biografia)

¹⁸ La resistència antibiòtica és un fenomen pel qual un bacteri, a causa d'una mutació, es torna resistent a un antibiòtic. Aquestes resistències es produeixen per selecció natural.

Avui en dia existeixen diverses classes d'antibiòtics i d'antieubacterians que són usats de manera comú. Podem classificar els antibiòtics segons el seu efecte sobre els microorganismes; acció bacteriostàtica si inhibeixen el creixement o acció bactericida si eliminen els microorganismes.

Generalment actuen sobre bacteris, virus de gran tamany o cèl·lules d'individus pluricel·lulars (animals o vegetals), alterant-ne diverses parts:

3.1. A nivell de paret cel·lular

La paret cel·lular és la part del bacteri, com ja hem dit anteriorment, que el protegeix de les agressions externes. Per tan, hi ha antibiòtics, que estan destinats a interferir en el procés de creació o síntesi d'aquest embolcall bacterià i d'aquesta manera deixar el bacteri desprotegit. Quan el bacteri està desprotegit, la pressió osmòtica intracel·lular fa pressió sobre la membrana plasmàtica; al final aquesta acaba rebentant i el bacteri mor. També hi ha la possibilitat però, que el bacteri sigui atacat pels agents antimicrobians que abans no podien travessar la paret cel·lular.

3.2. A nivell d'acció sobre l'ADN

L'ADN conté la informació per formar totes les proteïnes, que són essencials per l'organisme. Per tan, hi ha antibiòtics que estan destinats a inhibir la formació de certs nucleòtids o a interferir d'una manera o altra en el procés de síntesi de proteïnes. D'aquesta manera la cèl·lula no pot fabricar proteïnes i acaba morint.

3.3. A nivell de ribosomes

Els ribosomes són els orgànuls cel·lulars encarregats de sintetitzar les proteïnes a partir de l'ARNm i amb l'ajuda de l'ARNt. Per tant, hi ha antibiòtics, en aquest cas més de la meitat, que estan destinats a atacar els ribosomes. A més com que els ribosomes dels bacteris són diferents als de les cèl·lules eucariotes dels animals i dels vegetals l'antibiòtic només afectarà als del microorganisme.

4. *Staphilococcus epidermis*

4.1. Descripció general

Els *Staphilococcus* van ser descoberts per R. Koch el 1878 en el pus humà. Ogston va introduir la nomenclatura del gènere provinent de Staphille que vol dir gotim de raïm, degut a la forma que adquireixen les colònies. Al 1884, F. J. Rosenbach va diferenciar *S. Epidermis* de *S. Aureus* tenint en compte que uns formaven colònies d'un pigment més blanquinós i els altres més groguenc.

Staphillococcus epidermis és una de les 37 espècies conegudes pertanyents al bacteri del gènere *Staphillococcus*. Té forma de coc, és gram positiu i quan està en colònia es disposa en grups creant petits punts bancs en el medi. És present en la pell d'humans i animals i en membranes mucoses.

Encara que no es consideri patogen, ja que forma part de la flora bacteriana de la pell, en pacients amb problemes al sistema immunològic pot desenvolupar infeccions greus.

Quan apareixen aquestes infeccions, l'antibiòtic que s'acostuma a subministrar és la Novobiocina, que a part de ser el millor antibiòtic contra l'*Staphylococcus epidermis* es fa servir per diferenciar aquest bacteri d'altres del mateix gènere com l'*Staphylococcus saprophyticus*

4.2. Classificació científica

Regne	Eubacteris / Moneres
Fílum	Firmicutes
Classe	Cocci
Ordre	Bacillales
Família	Staphylococcaceae
Gènere	<i>Staphylococcus</i>
Espècie	<i>S. epidermis</i>

BLOC II: PART PRÀCTICA

1. Descripció de l'experiment

1.1. Objectiu:

El meu objectiu en aquesta pràctica ha estat observar la capacitat de resistència i, com a conseqüència, la capacitat de mutació d'un bacteri, mitjançant antibiogrames i agents mutàgens.

Per fer-ho he realitzat diversos experiments com: crear cultius mixtos de bacteris, crear medis de cultiu, comprovar el nivell d'esterilitat d'un medi, etc.

Tots els experiments els he realitzat de dues maneres diferents, per una banda amb cultius casolans creats per mi al mateix laboratori i, paral·lelament, amb cultius d'agar nutritiu comprats.

1.2. Material¹⁹

1. Bata laboratori
2. Goma cabell
3. Reixeta
4. Agar
5. Medis de cultiu
6. Tres peus
7. Fogonet
8. Proveta
9. Vas precipitats
10. Manyoples
11. Pinces de fusta

12. Calculadora C.
13. Cullera espátula
14. Bàscula
15. Plaques de vidre
16. Filtres
17. Brou
18. Nansa de sembra
19. Cremes tòpiques
20. Estufa de cultius
21. Vareta de vidre
22. Antibiótic

¹⁹ Veure annex (imatges material).

1.3. Metodologia i procediment.²⁰

Per aconseguir els objectius marcats en aquesta part practica, he dut a terme varis experiments tots ells relacionats amb el cultiu de bacteris, la selecció natural i la resistència antibiòtica.

A més a més, totes les proves les he realitzat dues vegades, ja que paral·lelament a l'experiment que vaig definir en un principi, n'he dut a terme un altre amb cultius casolans, fets per mi, per tal de fer comparacions entre els dos processos i comprovar la viabilitat dels meus medis.

Primer de tot abans de començar amb l'experimentació, amb l'ajuda del meu tutor, definírem l'experiència. També vam concretar el material necessari per tal d'encarregar el que necessitíssim.

Havent arribat el material vaig començar la realització dels experiments:

1.3.1. Dia 1 : 07/09/2012

→Obtenció del bacteri *Staphilococcus epidermis* en plaques prefabricades:

En dues plaques d'agar nutritiu sòlid vaig realitzar un cultiu mixt de flora bacteriana epitelial fregant un dit per sobre dels medis de cultiu, ja que el bacteri que m'interessava es troba a la pell. (veure annex ref. 20 - 1 i 2)

Després d'haver tapat les plaques, vaig donar-los la volta, deixant així el medi d'agar a la part superior²¹. Seguidament les vaig introduir a l'estufa

²⁰ Veure annex (imatges procediment)

de cultius a una temperatura de 40°C afavorint així el creixement dels bacteris.

→ Creació dels medis casolans:

Per crear els medis, vaig utilitzar brou d'escudella com a medi nutritiu i agar en pols com a agent solidificant. (veure annex ref. 20 – 3, 4 i 5)

Primer de tot vaig mesurar els punts de fusió i de solidificació de l'agar diluït amb brou, amb un fogonet, una reixeta, un trespeus, un vas de precipitats i un termòmetre, per veure si les plaques casolanes podien estar a l'estufa a 40°C amb la resta. Vaig concloure que la dissolució preparada, de 3g d'agar per 200ml de brou, s'homogeneïtza (l'agar es fon) a 90°C i comença a solidificar a partir dels 37°C. Per tant el medi casolà es manté sòlid dins l'estufa. (veure annex ref. 20 -6 i 7)

→ Comprovació de l'esterilitat de les plaques casolanes:

Després, per comprovar si les plaques eren viables a nivell de temperatura per poder-hi treballar més endavant, vaig dissenyar un experiment per comprovar-ne l'esterilitat. Aquest experiment consisteix en fer quatre medis de cultiu en plaques de vidre: (veure annex ref. 20 – 8)

1a. La primera placa la vaig deixar oberta al medi per tal de veure si els microorganismes presents a l'aire podien créixer amb facilitat en aquest medi.

²¹ Aquest procés es fa servir per tal d'evitar que els gasos despresos pels bacteris es condensin en tocar la tapa de la placa, aquests els caiguin a sobre i el cultiu es faci malbé.

2a. La segona placa la vaig introduir tapada dins l'estufa per comprovar si podia quedar una placa totalment esterilitzada i sense cap microorganisme.

3a. Una tercera placa la vaig tapar sense rentar-la prèviament per observar si els microorganismes inherents en les plaques s'eliminaven o hi quedaven, i així comparar-la amb les plaques que havia rentat.

4a. La quarta i última placa la vaig contaminar amb flora bacteriana de la pell dels dits per tal de comprovar, si en els medis que jo mateixa havia creat, podia desenvolupar-s'hi l'*Staphilococcus epidermis*.

1.3.2. Dia 2 : 12/09/2012

→Obtenció del bacteri *Staphilococcus epidermis* en plaques prefabricades:

El segon dia d'experimentació, en treure les plaques d'agar nutritiu de l'estufa, vaig observar que no havia crescut *Staphilococcus epidermis* en el cultiu, sinó que s'hi havia desenvolupat *Staphilococcus aureus*. Vaig arribar a aquesta conclusió donat que, encara que les colònies d'aquests bacteris creixen en la mateixa disposició, les podem diferenciar gràcies al color groc de *S. aureus* i el color més blanquinós de *S. epidermis*. (veure annex ref.20 – 13 i 14)

Després de veure els resultats vaig decidir tornar a fer de nou els cultius mixtes de flora bacteriana en dues plaques més.

→Comprovació de l'esterilitat de les plaques casolanes:

En treure les plaques de l'estufa vaig verificar que els medis que havia creat dies abans, eren vàlids: les plaques esterilitzades manualment no presentaven contaminació bacteriana i a més les que havia contaminat amb el dit, permetien el creixement del bacteri *S.epidermis*. (veure annex ref. 20 – 10, 11 i 12)

La placa que vaig deixar exposada al medi tampoc presentava contaminació bacteriana, però aquest fenomen es donava perquè la temperatura exterior no era la òptima per a la proliferació dels bacteris. (veure annex ref.20 – 9)

Al veure que hi havia la possibilitat que les plaques casolanes fossin viables, vaig realitzar l'experiment a gran escala, per tal d'assegurar que l'esterilització de les plaques funcionava correctament i que l'anterior experiment no havia donat els resultats esperats d'una manera fortuïta. Vaig fer-ho amb nou plaques. (veure annex ref. 20 – 15 i 16)

1.3.3. Dia 3 : 17/09/2012

→Obtenció del bacteri *Staphilococcus epidermis* en plaques prefabricades:

En treure les plaques prefabricades contaminades amb flora bacteriana de l'estufa em vaig adonar que havia comès un error per que no em vaig recordar de girar les plaques. Aquest error però, va afavorir el creixement d'*S. epidermis* en comptes d'*S. aureus*.

A més aquest segon cultiu, que de bon principi pressuposava mixt, va resultar ser pur.

→ Resultat de l'experiment amb les nou plaques casolanes:

Les nou plaques van donar un resultat positiu; l'esterilització casolana havia funcionat.

→ Creació de diferents medis de cultiu:

Des d'un principi havia formulat la hipòtesi que hi ha cremes tòpiques capaces de fer mutar la flora bacteriana epitelial. Per tant per poder-ho verificar vaig dur a terme un altre experiment. Calia introduir el possible agent mutagen en el medi de cultiu per veure si actuava com a tal. Així doncs, vaig crear tres medis de cultius diferents. Aplicant aquest experiment als dos tipus de plaques: dotze de casolanes i quinze de prefabricades. (veure annex ref. 20 – 17)

En les plaques casolanes:

1. La primera dissolució constava d'una preparació de brou i agar en la mateixa concentració que havia fet en les plaques anteriors i a la que hi vaig afegir una crema tòpica: Furacín®. Aquesta dissolució la vaig aplicar a quatre plaques casolanes. (veure annex ref. 28 – 18)

2. La segona dissolució constava també d'una preparació de brou, agar i una altra crema tòpica: Reflex®. Aquesta dissolució la vaig aplicar a quatre plaques més. (veure annex ref. 20 – 19)

3. La tercera dissolució aplicada a les quatre últimes plaques, constava únicament d'una preparació de brou i agar. Aquesta la vaig fer per poder

comparar els resultats amb les altres dues dissolucions. (veure annex ref. 20 – 20 i 21)

Després de deixar solidificar les dissolucions a temperatura ambient, vaig inocular la mostra de *S. epidermis* obtinguda dies abans, a tots els cultius de les plaques casolanes. El procés de sembra el vaig realitzar amb sembra escocesa i amb sembra per estria simple²². (veure annex ref. 20 – 25 i 26)

Les plaques prefabricades ja porten incorporada una base gelatinosa d'agar nutritiu, per tant vaig limitar-me a afegir-hi el possible agent mutagen. En cinc d'elles vaig aplicar-hi, mitjançant un comptagotes, una dissolució de Furacín®; en les cinc següents la dissolució era de Reflex®; a les cinc últimes no hi vaig aplicar agent mutagen. El procés de sembra en aquest tipus de plaques va produir-se abans de l'aplicació de les dissolucions de cremes tòpiques. (veure annex ref. 20 – 22, 23 i 27)

→ Aplicació de l'antibiòtic en els medis:

A més a més en dissenyar aquest experiment, vaig pensar que si els bacteris patien una mutació amb l'aplicació de les cremes tòpiques, potser la reacció del seu antibiòtic variava.

Per tal de verificar-ho vaig introduir un disc d'antibiòtic (Novobiocina) a totes les plaques. D'aquesta manera podria contraposar els efectes de l'antibiòtic en els dos tipus de plaques i alhora en els tres medis diferents. (veure annex ref. 20- 28, 29, 30, 31 i 32)

²² Veure l'explicació del procés de sembra a l'apartat 2.2. de la part teòrica.

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

Seguidament vaig identificar totes les plaques marcant-les amb un retolador i les vaig posar dins l'estufa de cultius a una temperatura òptima per la proliferació dels bacteris, 40°C. (veure annex ref. 20 – 33 i 34)

1.3.4. Dia 4: 20/09/2012

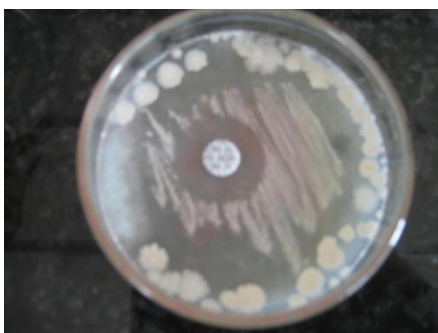
→Resultats finals: (veure annex ref.20 – 35 i 36)

Plaques casolanes:



Medi amb Furacín^{®23}. Com que aquesta crema tòpica és antibiòtica, el bacteri *S.epiderms*, en aquest medi, va créixer en molt poques zones. En algunes d'aquestes zones hi havia presència d'antibiòtic, però, sorprenentment, aquest no va fer efecte; el

bacteri va continuar creixent.



Medi amb Reflex^{®24}. En aquest medi, a diferència de l'anterior, els resultats obtinguts eren els esperats: la crema tòpica no va afectar el creixement d' *S. epidermis* i l'antibiòtic va tenir un efecte inhibidor d'aquest bacteri.

²³ Veure annex (imatges plaques casolanes Furacín[®])

²⁴ Veure annex (imatges plaques casolanes Reflex[®])

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Medi original²⁵. En aquest medi, de la mateixa manera que en les plaques casolanes amb Reflex®, els bacteris van créixer bé i l'antibiòtic va tenir el mateix efecte inhibidor.

Plaques prefabricades:



Medi amb Furacín®²⁶. En aquest medi es veu clarament que, de la mateixa manera que en les plaques casolanes, els bacteris que van poder créixer no reaccionaven a l'antibiòtic amb la mateixa eficàcia que en els altres dos medis.



Medi amb Reflex®²⁷: En aquest medi, es pot observar que la crema tòpica no va alterar el creixement d'*S. epidermis* i que l'antibiòtic actuava amb normalitat.

²⁵ Veure annex (imatges plaques casolanes originals)

²⁶ Veure annex (imatges plaques prefabricades Furacín®)

²⁷ Veure annex (imatges plaques prefabricades Reflex®)

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Medi original²⁸: En els medis originals, com era d'esperar, el bacteri també va créixer amb normalitat i l'antibiòtic va fer l'efecte corresponent.

Després d'haver realitzat tots aquests experiments al laboratori la conclusió final a la que he arribat, tot i que no pot ser definitiva o generalitzable sense fer més experimentació, és que els bacteris en contacte amb el Furacín® queden alterats i no reaccionen de la mateixa manera que les soques originals davant l'antibiòtic. En canvi, els bacteris en contacte amb el Reflex® reaccionen amb normalitat a l'antibiòtic.

²⁸ Veure annex (imatges plaques prefabricades originals)

Conclusions i Agraïments

La finalitat d'aquesta recerca ha estat observar la resistència de *S. epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents i fer una comparació dels resultats.

El que m'ha sorprès, ha estat que els bacteris que han crescut amb contacte amb la crema tòpica Furacín®, han tingut una resistència major a l'antibiòtic, respecte els altres dos medis. Amb els mitjans dels quals dispenso però, no puc afirmar que la soca del medi de Furacín® hagi presentat més resistència a causa d'una mutació de *S. epidermis*.

En general, en el procés d'elaboració d'aquest treball, a part d'aprendre molts conceptes teòrics, que crec que em seran molt útils al llarg dels meus anys d'estudi, també he après conceptes pràctics. I amb l'experimentació al laboratori he tingut l'oportunitat de familiaritzar-me molt més amb els materials i amb el procediment a seguir per dur a terme un experiment, així com de tenir la responsabilitat de fer una observació per a extreure'n conclusions.

Vull agrair al meu tutor l'ajuda que m'ha donat per desenvolupar la idea d'aquest experiment, els consells durant el procés i a l'hora d'estructurar el treball, així com a motivar-me en un tema tan apassionant com aquest.

Webgrafia:

1. <http://www.slideshare.net/pau2688/agentes-mutagenicos>

(agents mutàgens)

2. <http://www.galileog.com/ciencia/biologia/bacterias/bacterias.htm>

(estructura)

3. <http://ca.wikipedia.org/wiki/Bacteri>

(bacteri)

4. <http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>

(bacteri)

5. http://es.wikipedia.org/wiki/Mut%C3%A1geno#Tipos_de_agentes_mut.C3.A1genos

(agents mutàgens)

6. <http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/16mutacion.htm>

(mutacions en procariotes – causants i tipus)

7. http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/23_micro.htm

(mutacions en procariotes)

8. <http://www.botanical-online.com/medicinalsantibioticosnaturales.htm>

(medicaments naturals)

9. <http://www.xtec.cat/~jbiayna/jjcc/arxiu/treballs01/23.pdf>

(els antibiòtics en procariotes)

10. <http://es.wikipedia.org/wiki/Antibi%C3%B3tico>

(els antibiòtics)

11. <http://es.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>

(material de laboratori)

12. <http://www.youtube.com/watch?v=7GeH7SkchmA>

(vídeo dels bacteris i la seva classificació)

13. http://es.wikipedia.org/wiki/Anton_van_Leeuwenhoek

(vida Antoni van Leeuwenhoek)

14. <http://www.buscabiografias.com/bios/biografia/verDetalle/4442/Anton%20van%20Leeuwenhoek>

(biografia Antoni van Leeuwenhoek)

15. http://translate.google.es/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.ucmp.berkeley.edu/history/leeuwenhoek.html&prev=/search%3Fq%3Dantoni%2Bvan%2Bleeuwenhoek%26hl%3Des%26biw%3D1280%26bih%3D705%26prmd%3Dimvnsb&sa=X&ei=g0yUN_ZC9KX0QWbnIDgDA&sqi=2&ved=0CHAQ7gEwA

(Antony van Leeuwenhoek)

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

16.<http://www.losmicrobios.com.ar/microbios/personajeshistoricos.cfm?PER S=1>

(Antony van Leeuwenhoek)

17.<http://www.monografias.com/trabajos10/antrax/antrax.shtml>

(àntrax)

18.<http://www.losmicrobios.com.ar/microbios/personajeshistoricos.cfm?PER S=4>

(Robert Koch)

19.<http://www.biografiasyvidas.com/biografia/k/koch.htm>

(Robert Koch)

20.http://es.wikipedia.org/wiki/Robert_Koch

(Robert Koch)

21.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Bacteri>

(bacteri)

22.<http://www.xtec.cat/~dnavarr7/bacteries.htm>

(bacteri)

23.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Eubacteria>

(bacteri)

24.http://es.wikipedia.org/wiki/Membrana_plasm%C3%A1tica

(membrana plasmàtica)

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

25.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Ribosoma>

(ribosomes)

26.<http://es.wikipedia.org/wiki/Nucleoide>

(nucleoide)

27.<http://www.biologia.edu.ar/bacterias/micro2.htm>

(parts dels bacteris)

28.www.losmicrobios.com.ar/microbios/estructura_bacteriana.html

(parts dels bacteris)

29.http://es.wikipedia.org/wiki/Envoltura_celular_bacteriana

(embolcall bacterià)

30.http://ca.wikipedia.org/wiki/Medi_de_cultiu

(medis de cultiu)

31.<http://nuevastactaticasbacterias.blogspot.com/2010/06/tipos-de-clasificaciones-de-bacterias.html>

(classificació dels bacteris)

32.[http://es.wikipedia.org/wiki/Hibridaci3n_\(biolog%C3%ADa_molecular\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Hibridaci3n_(biolog%C3%ADa_molecular))

(hibridació)

33.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Bacil>

(bacils)

34.http://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

(s. Aureus)

35.<http://es.wikipedia.org/wiki/Espirilo>

(espiril)

36.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Espiril>

(espiril)

37.[http://es.wikipedia.org/wiki/Coco_\(bacteria\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Coco_(bacteria))

(coc)

38.<http://es.wikipedia.org/wiki/Vibrio>

(vibrions)

39.<http://ca.wikipedia.org/wiki/Termof%C3%ADlia>

(termòfils)

40.<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=886&io=3795>

(classificació segons temperatura)

41.<http://es.wikipedia.org/wiki/Fotoheterótrofo>

(fotoheteròtrofs)

42.<http://es.wikipedia.org/wiki/Quimioheterótrofo>

(quimioheteròtrofs)

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

43.<http://es.wikipedia.org/wiki/Quimioautótrofo>

(quimioautòtrofs)

44.[http://es.wikipedia.org/wiki/Mesófilo_\(botánica\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Mesófilo_(botánica))

(mesòfils)

45.http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas-1/practica-1-significado-y-caracteristicas-de-los/skinless_view

(medis de cultiu)

46.<http://es.wikipedia.org/wiki/Psicrofílo>

(psicròfils)

47.<http://microbiologiabacterianaarquea.blogspot.com.es/>

(psicròtrofs)

48.http://www.unad.edu.co/fac_ingenieria/pages/Microbiologia_multimedia/bact_clasif.htm

(classificació dels bacteris)

49.<http://es.wikipedia.org/wiki/Acidófilo>

(acidòfils)

50.<http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/BacteriasDesarrollo.htm>

(neutròfils)

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

51. <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

(medis de cultiu)

52. <http://quizlet.com/3091442/classification-of-bacteria-flash-cards/>

(classificació dels bacteris)

53. http://www.pc.maricopa.edu/Biology/rcotter/BIO%20205/LessonBuilders/Chapter%204%20LB/Ch4Lessonbuilder_print.html

(classificació bacteris)

54. <http://es.scribd.com/doc/74897025/4-Siembra-y-to-de-Microorganismos-Recuento>

(sembra)

55. http://books.google.es/books?id=049XD9bhZOwC&pg=PA7&lpg=PA7&dq=medi+minim++cultiu&source=bl&ots=RfhY8SL-0l&sig=DCi_3-e5L2oj_rOhrR_-QE6Bmcg&hl=ca&sa=X&ei=XBdzUIXqOs7GtAb8hIHYAQ&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q=medi%20minim%20%20cultiu&f=false

(sembra)

56. <http://www.slideshare.net/pau2688/agentes-mutagenicos>

(agents mutàgens)

Bibliografia:

1. **CORBELLA, Jacint.** *El medi natural.* **Barcelona: Proa, 1997.**
(enciclopèdia catalana temàtica, vol.2)
2. *La Gran Enciclopèdia Catalana.* **Barcelona:Enciclopèdia Catalana, 1975.** (gran enciclopèdia catalana)
3. **GISPERT, Carlos.** *Gran enciclopedia de la ciencia i de la técnica.* **Barcelona: Oceano, 1996.** (la gran enciclopedia de la ciencia i de la técnica)
4. **JIMENO,A. i BALLESTEROS, M.** *Biologia 2.* **Barcelona: Santillana, 2009.** (la casa del saber)
5. **JIMENO, A. i UGEDO, L.** *Biologia 1.* **Barcelona: Santillana, 2008.** (la casa del saber)

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

Treball de recerca

ANNEX

2n B Batxillerat

Curs 2012-2013

Índex de referències:

1. Antoni van Leeuwenhoek
2. Robert Koch
3. Parts dels bacteris
4. Membrana plasmàtica
7. Procés traducció
8. Nucleoide
10. Paret cèl·lula bacteriana
11. Flagels
15. Sembra escocesa
16. Sembra estria simple
- 17 . Alexander Fleming
19. Imatges del material
20. Imatges del procediment
23. Plaques casolanes Furacín
24. Plaques casolanes Reflex
25. Plaques casolanes originals
26. Plaques prefabricades Furacín
27. Plaques prefabricades Reflex
28. Plaques prefabricades originals

Referències



1: Antoni van Leeuwenhoek

Antoni van Leeuwenhoek nasqué a Delft, Països Baixos, el 24 d'octubre de 1632 en una família de comerciants cistellers.

Com a conseqüència de les seves desgràcies familiars, no va cursar cap carrera universitària i per aquesta raó la comunitat científica de la Royal Society l'excloué.

Treballà en diversos oficis des de jove: tractant de teles, comptable, caixer, inspector i controlador de vins, comerciant de teles i merceria... però el que de veritat l'apassionava era la microscòpia.

El 1653 va construir el seu primer microscopi, que constava d'una petita lent biconvexa ajustable, muntada sobre una petita platina de llautó i que s'utilitzava aguantant-lo molt a prop de l'ull. Aquest tipus de microscopi esdevingué molt popular entre els comerciants tèxtils, ja que els permetia mirar amb facilitat la qualitat de les teles que compraven i venien i així determinar-ne el valor econòmic amb més precisió. A més a més, també va construir un altre tipus de microscopi, més semblant als d'avui en dia, en el qual es podia fixar tant la lent, com l'objecte a observar, i que excedia amb diferència la quantitat d'augment dels microscopis de l'època.

Alguns científics de l'època afirmaven que Leeuwenhoek passava moltes hores fent observacions en els seus microscopis de qualsevol cosa que li crides l'atenció, i també admiraven les ganes que posava en aprendre i en engrandir els seus coneixements. Però molts d'altres estudiosos el

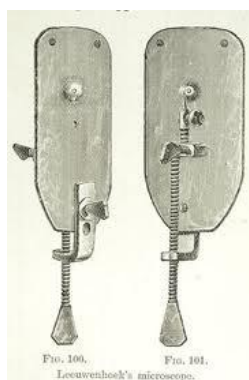
Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

criticaven per no haver cursat cap carrera i també per tenir un gran desconeixement en llengües estrangeres.

La majoria dels seus descobriments es coneixen gràcies a una immensa obra que va escriure únicament constituïda per cartes, més de tres-centes, enviades a la Royal Society i totalment redactades en neerlandès, on descrivia amb gran exactitud els microorganismes que observava i que ell anomenava "animàlcus". Gràcies a aquests descobriments, la comunitat científica l'acabà acceptant l'any 1680.

En una d'aquestes cartes, que data en el 17 de setembre de 1683, Leeuwenhoek explica amb detall el resultat de les seves observacions sobre la placa bacteriana de dues noies (esposa i filla) i de dos avis que no s'havien rentat mai les dents. Els "animàlcus" que ell afirmava veure eren molt més nombrosos en la placa dels avis que en la de les noies. Aquesta va ser la primera vegada que algú observava bacteris a través d'un microscopi.

Antoni van Leeuwenhoek va fer grans descobriments al llarg de la seva vida i quan va morir el 30 d'agost de 1723, llegà uns cinc-cents microscopis, dels quals avui en dia només se'n conserven deu.



Microscopi de van Leeuwenhoek



2: Robert Koch

Heinrich Herman Robert Koch nasqué a Clausthal, Regne de Hannover, l'11 de desembre de 1843. Era fill d'un oficial miner. Des de petit va ser un gran amant i col·leccionista de plantes, minerals i insectes i a més se sap que s'aplicava molt en els estudis. Estudià medicina a la Universitat de Göttingen, i en graduar-se amb èxit l'any 1866 i realitzar uns anys de pràctiques a Hannover, esdevingué un metge al servei de la Guerra Franco-Prusiana al districte de Wollstein.

Durant els seus anys de professió mostrà un interès especial per les infeccions (septicèmies, infeccions de les ferides, la pesta bovina...) i va començar a investigar sobre el tema.

Amb el temps les seves investigacions varen esdevenir famoses, i no només pels grans descobriments que feia i les teories que plantejava Koch, sinó que també per les tècniques bacteriològiques (purificar i cultivar bacteris) que utilitzava. Per aquesta última raó se'l considera el pare fundador de la bacteriologia, juntament amb Louis Pasteur.

El 1876 va realitzar uns estudis sobre el carboncle, pels quals actualment encara se'l reconeix, en els que fent un seguit d'experiments amb ratolins demostrà que moltes malalties són causades per bacteris, i que cada una d'elles la causa un bacteri diferent.

L'any 1880 va començar a dirigir el laboratori bacteriològic del Departament Imperial d'Higiene de Berlin. Allà va crear les plaques d'agar i les plaques de Petri per tal de cultivar bacteris i que avui en dia encara s'utilitzen.

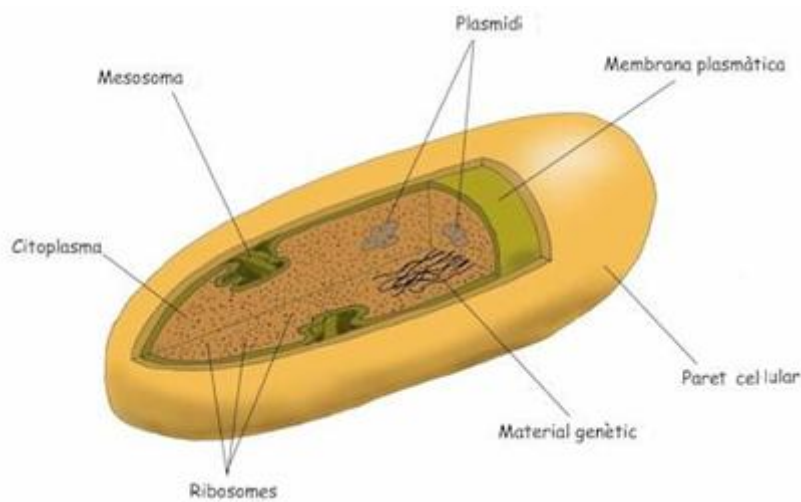
Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

Gràcies a aquestes tècniques el 1882 va descobrir el bacteri que causa la tuberculosi, el "bacil de Koch" i el 1885 en descobrí la cura: la tuberculina.

Una de les coses per la qual és molt reconegut Koch, és per haver establert uns postulats, que avui en dia encara es fan servir, per tal de determinar si un bacteri és el causant o no d'una malaltia determinada. Aquests postulats, juntament amb la teoria microbiana, el van fer guanyador del premi Nobel l'any 1905.

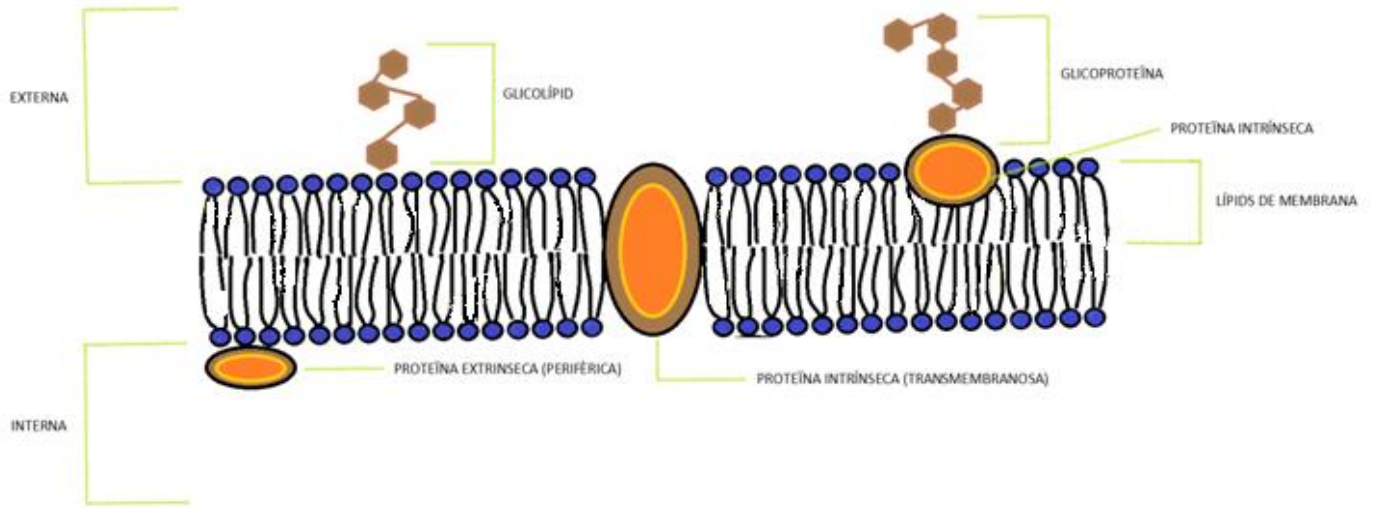
Morí el 27 de maig del 1910 a Baden-Baden.

3: Parts dels bacteris

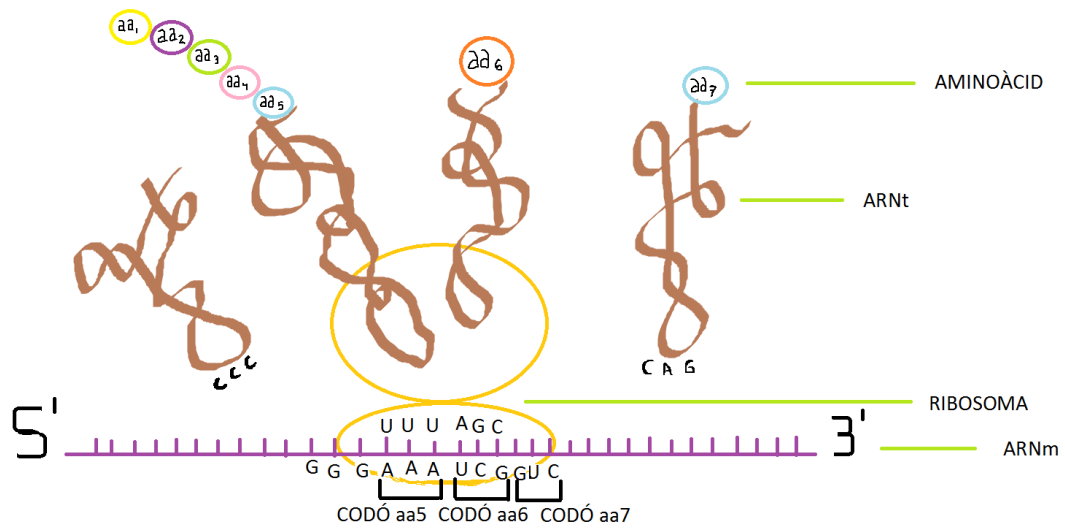


Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

4: Membrana plasmàtica

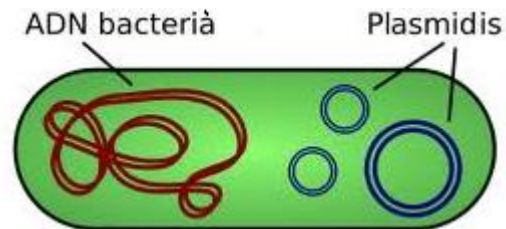


7: Traducció

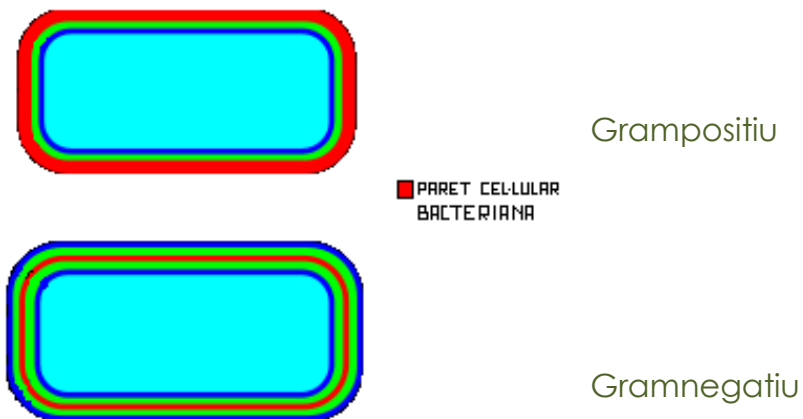


Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

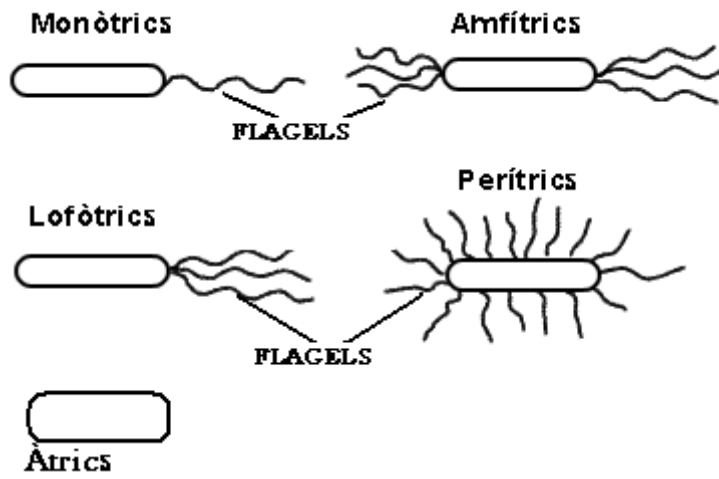
8: Nucleoide (cromosoma bacterià)



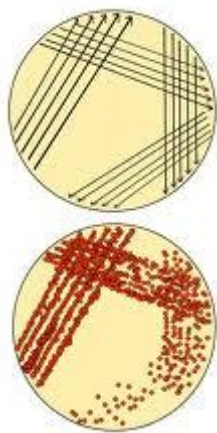
10: Paret cel·lular bacteriana (classificació: grampositiu i gramnegatiu)



11: Classificació segons flagels



15: Sembrada escocesa



16: Sembra per estria simple



17: Alexander Fleming:

Va néixer a Lochfield, Escòcia el 1881. Estudià medicina a la Saint Mary's Medical School de Londres i es graduà amb èxit. El fet d'estar treballant al departament d'inoculacions durant un llarg període al centre va comportar que el nomenessin professor universitari d'aquest.

Fleming, al llarg de la seva vida realitzà dos descobriments importants en el món de la ciència i ambdós van ser per error:

Es diu que per accident va esternudar sobre uns cultius de bacteris (*Staphylococcus aureus*) que tenia al seu laboratori i que, per casualitat, al cap d'uns dies observà que hi havia llocs de la placa de Petri en els quals els bacteris no creixien.

Finalment arribà a la conclusió que allà on hi havia fluid nasal no hi havia presència bacteriana, i per tant que aquest fluid inhibia el creixement del bacteri. D'aquesta manera descobrí el lisozim, un enzim que els humans

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

tenim a les mucoses i que serveix com a barrera de defensa contra els microorganismes de l'exterior.

Uns anys més endavant un altre error el conduí al seu segon descobriment. El més important. La penicil·lina.

A causa de deixar-se una placa cultivada amb *Staphylococcus* oberta, un fong la contaminà. En observar-ho, Fleming va veure que el fong, que era de la classe dels *Penicillium*, segregava una substància que eliminava el bacteri. Això el va portar a crear la Penicil·lina, el primer antibiòtic. No el va patentar mai per tal que pogués arribar a tothom.

Morí a Londres el 1955.

19: Material laboratori



Bata

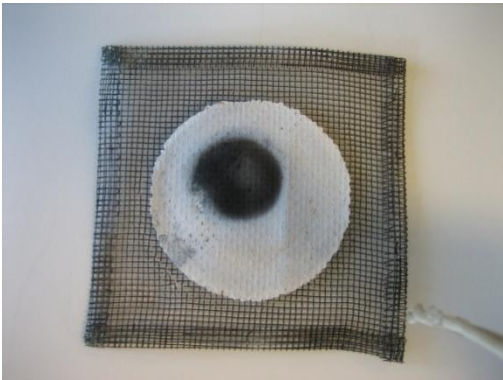


Goma cabell

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Pica



Reixeta



Agar

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Medis de cultiu



Tres peus



Fogonet

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Proveta



Vas de precipitats

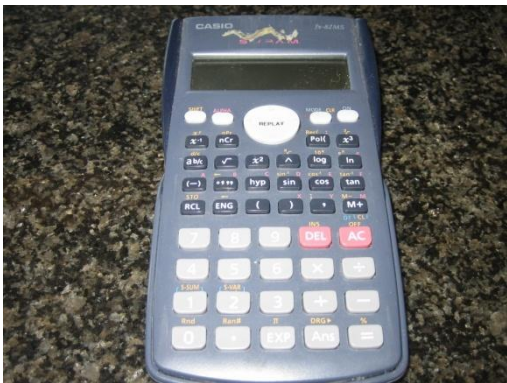


Manyoples

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Pinces de fusta



Calculadora científica



Cullereta espàtula

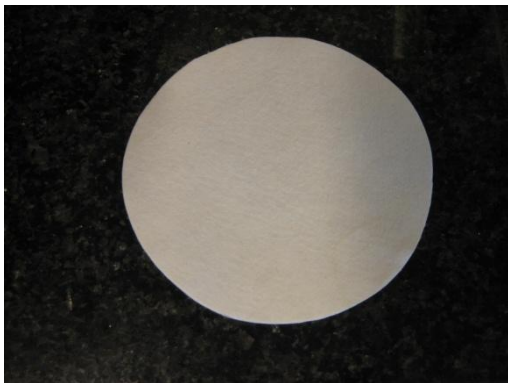
Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Bàscula



Plaques de vidre

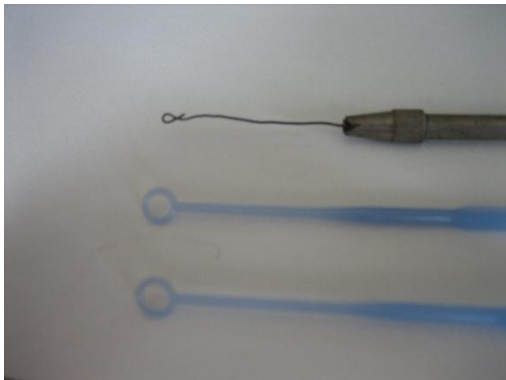


Filtre

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Brou



Nansa de sembra

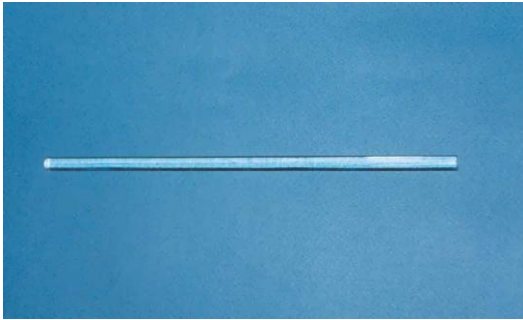


Cremes tòpiques

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermidis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



Estufa de cultius



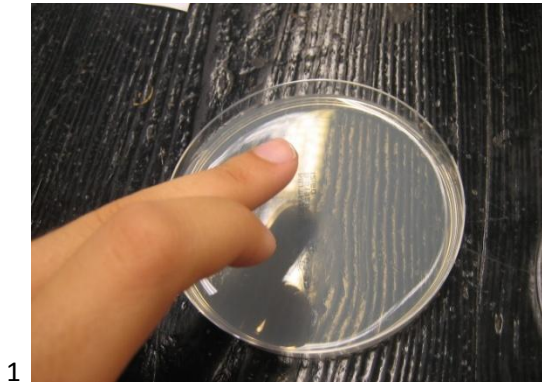
Vareta de vidre



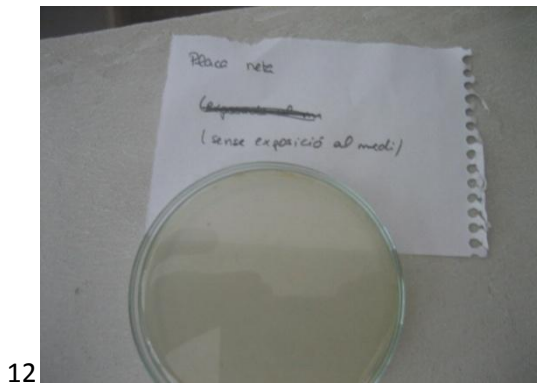
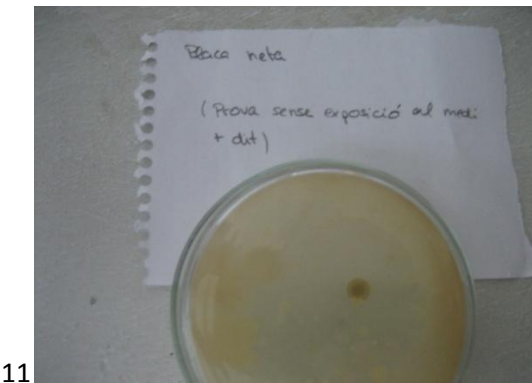
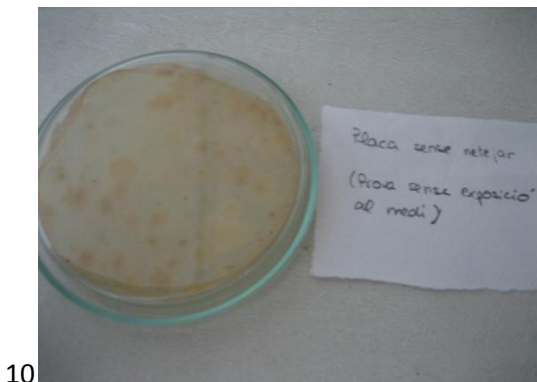
Antibiòtic (Novobiocina)

Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

20: Fotografies del procediment:



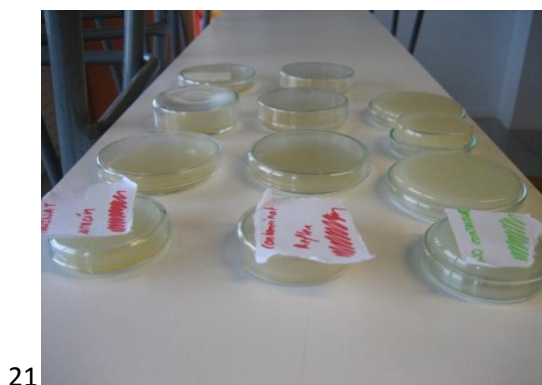
Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermidis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



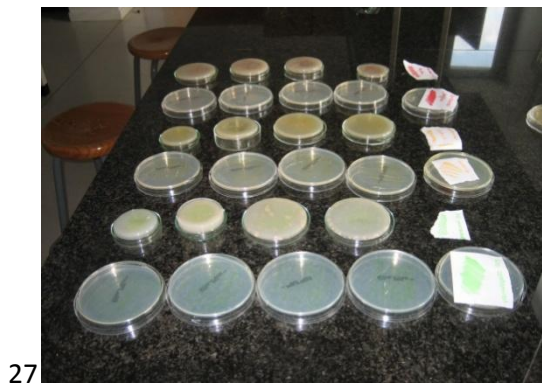
Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



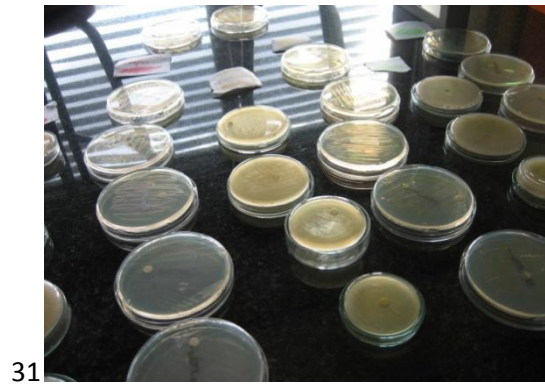
Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



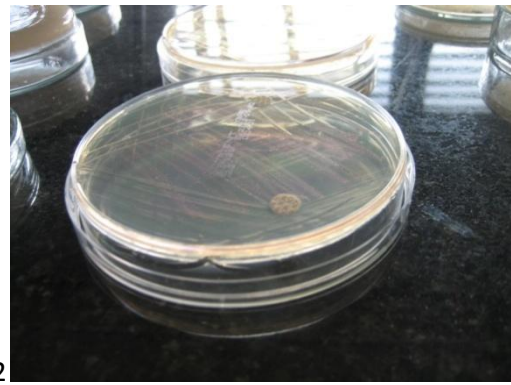
Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermidis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



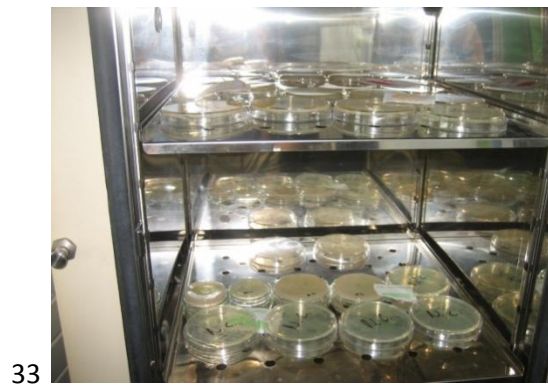
Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



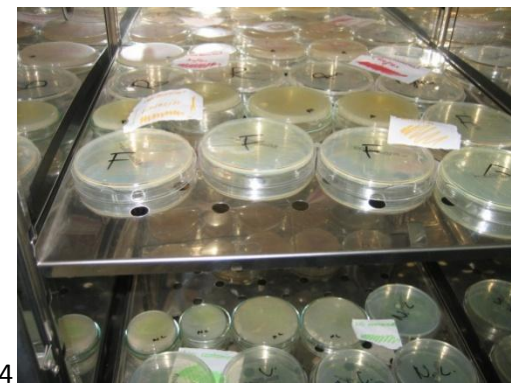
31



32



33



34



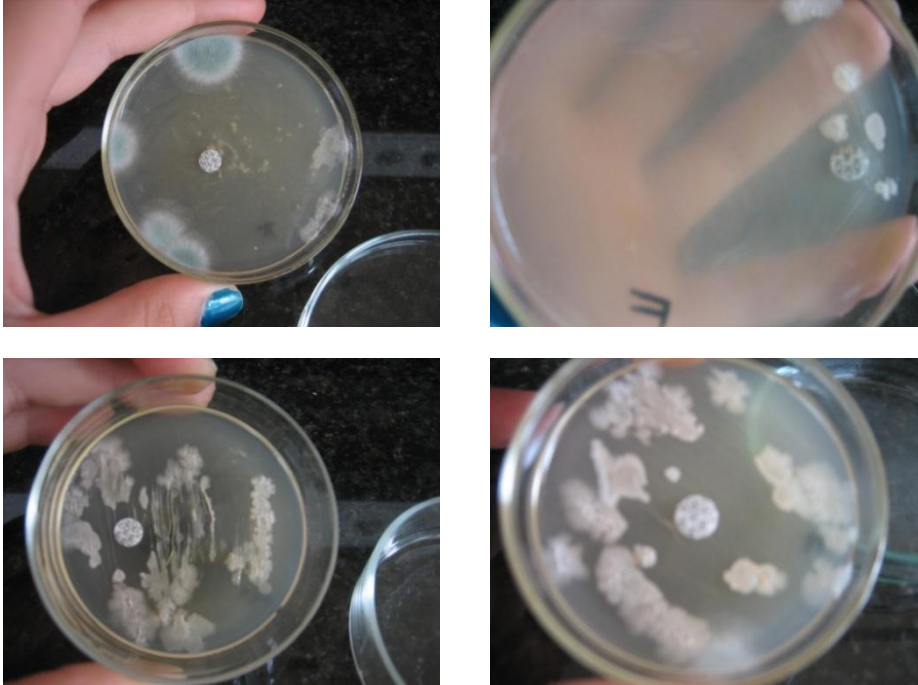
35



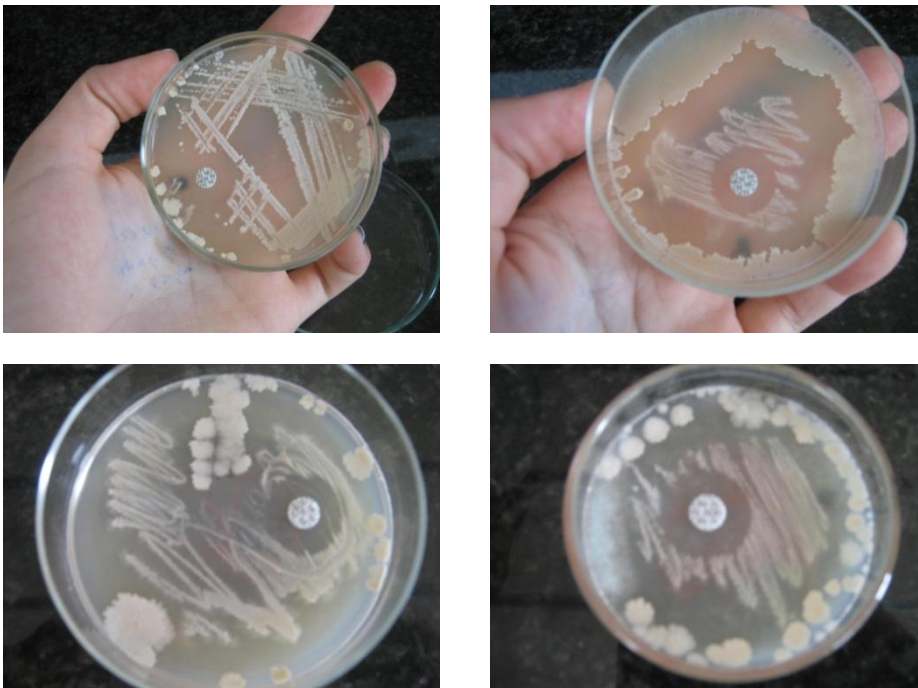
36

Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermidis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

23: Plaques casolanes Furacín®:

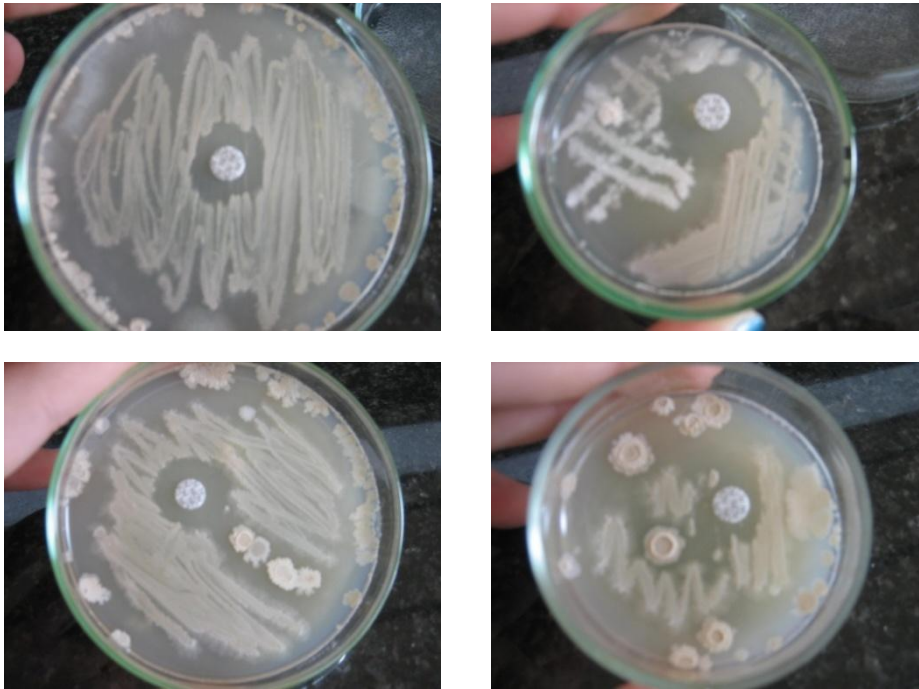


24: Plaques casolanes Reflex®:

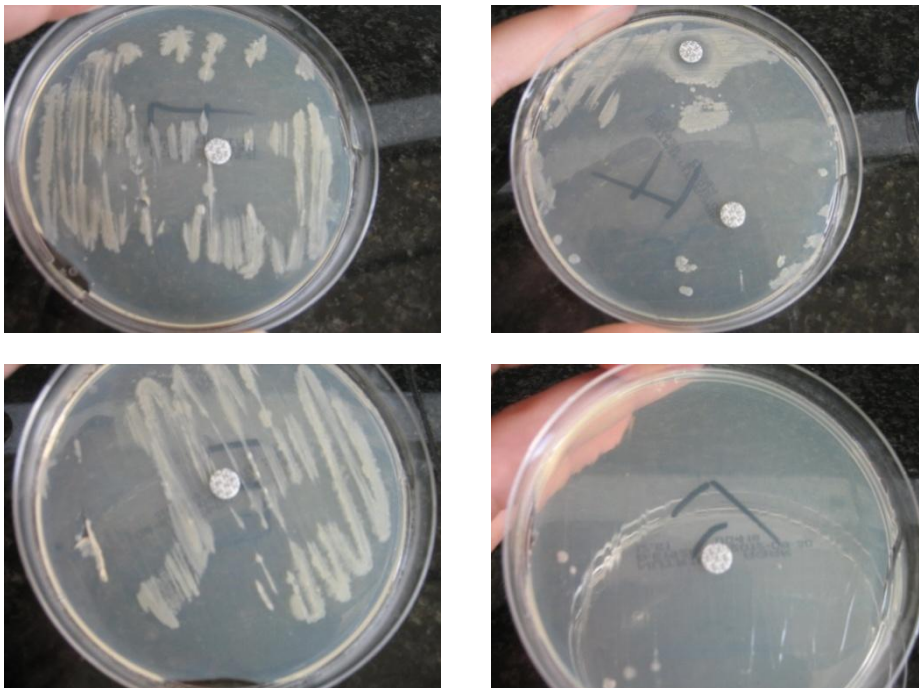


Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

25: Plaques casolanes originals:



26: Plaques prefabricades Furacín®:



Estudi de la resistència de l' *Staphylococcus epidermidis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents



27: Plaques prefabricades Reflex®:



Estudi de la resistència de l' *Staphilococcus epidermis* a la Novobiocina en tres medis de cultiu diferents

28: Plaques prefabricades originals

