TREBALL DE RECERCA 2016/2018

Resistència bacteriana als antibiòtics

Nom del treball: Resistència bacteriana als antibiòtics

Curs: 2 BAT B

Departament: Biologia

Data: 2 de novembre 2017

Índex

Marc teòric

1. Introducció 6
1.1 Notes prèvies 6
2. Metodologia 7
2. Bacteris 8
2.1 Què són? 8
2.2 Estructura de la cèl·lula bacteriana 11
2.2.1 Càpsula bacteriana 12
2.2.2 Paret cel·lular 12
2.2.3 Membrana plasmàtica 13
2.2.4 Citoplasma 14
2.2.5 Ribosomes 14
2.2.6 Flagels 15
2.2.7 Fímbries o pili 16
2.2.8 Inclusions 16
2.2.9 ADN bacterià 16
2.3 Reproducció 17
2.4 Genoma bacterià 18
2.4.1 Mutacions 18
2.4.2 Fenòmens de parasexualitat bacteriana 19
2.5 Creixement bacterià 20
3. Antibiòtics 22

3.1 . Què són? Perquè serveixen? 22
3.2 Història i descobriment dels antibiòtics 22
3.3. Classificacions 24
3.3.2. Segons l'espectre d'acció 24
3.3.3 Segons l'origen de l'antibiòtic 24
3.3.4. Segons l'efecte de l'antibiòtic 24
3.3.5. Segons el mecanismes d'acció 25
4. Resistència bacteriana 27
4.1 Mecanismes de resistència 27
4.2 Bacteris multirresistents 28

Marc pràctic

5. Introducció del marc pràctic 32
6. Visita a la Vall d'Hebron 32
6.1 Problema a escala mundial 33
6.2 Causes principals de l'auge de les resistències 34
6.3 Línies de recerca i nous projectes 35
6.3.1 Tècniques de diagnòstic ràpid 35
6.3.2 Estabilitat plasmídica 35
7. Taula de bacteris 37
8. Pràctica 1 43
9.Pràctica 2 50
10. Pràctica 3 58
11. Conclusions 63
12.Fonts d'informació 65
13.Agraïments 67

14.Valoració personal 67

15. Annexos 68

15.2 Seguiment en fotografies 68

15.2 Àudio de la visita a l'Hospital Vall d'Hebron 71

BLOC 1: Marc teòric

1. Introducció

1.1 Notes prèvies

Va ser molt difícil per mi decidir quin seria el tema del meu treball de recerca. L'únic del que estava segura és que volia que estigues relacionat amb l'àmbit biosanitari. Finalment em vaig decantar per les resistències bacterianes als antibiòtics ja que en els últims mesos han començat a publicar moltes notícies i s'han emès documentals amb relació a aquest tema.
També el vaig escollir perquè volia fer un part experimental, no simplement teòrica. Des d'un principi volia treballar en el laboratori i fer pràctiques, per tal d'aplicar els coneixements que anava adquirint mentre elaborava el treball teòric.
Un cop vaig començar el treball em vaig adonar que la resistència bacteriana és realment un problema a escala mundial. No simplement afecta la branca sanitària, tan d'humans com animals, sinó que també suposa un problema econòmic i social pels governs. Per tant, vaig veure que tenia la possibilitat d'aprendre molts aspectes que m'eren desconeguts.

1.2 Objectius

- Entendre quines són les característiques fisiològiques dels bacteris que els ajuden a desenvolupar resistència als antibiòtics.
- Comprendre l'avenç mèdic que va proporcionar el descobriment dels antibiòtics i les millores en l'àmbit sanitari que ens han proporcionat.
- Aprendre les diferents famílies d'antibiòtics i els seus mecanismes d'acció.
- Determinar l'origen de la resistència bacteriana i els seus mecanismes.
- Determinar els factors i les accions humanes que han ajudat a propagar les resistències bacterianes arreu del món.
- Investigar sobre les diferents solucions per erradicar aquest problema.
- Aprendre les tècniques de laboratori bàsiques per l'estudi de la microbiologia, la sembra, l'antibiograma i la tinció de gram.
- Demostrar que podem trobar colònies de bacteris resistents al nostre entorn més proper.

- Demostrar que les colònies bacterianes que creixen en presencia d'antibiòtics tendeixen a presentar més resistències.

2. Metodologia

Aquest treball consta de dos grans blocs, el primer és un bloc teòric i l'altre bloc és experimental.

El marc teòric l'he elaborat a partir de llibres de text teòrics sobre microbiologia, llibres de text de biologia de 2n de batxillerat i llibres sobre resistència bacteriana. També, he buscat molta informació en les webs d'institucions i organitzacions, com la OMS i la Generalitat, per poder investigar sobre les campanyes i els informes que publiquen sobre aquest tema. A més a més, també he llegit molts articles de revistes científiques.

D'altra banda, el marc pràctic està compost per una visita al Servei de Microbiologia de l'Hospital Vall d'Hebron i un conjunt de tres pràctiques de laboratori de l'institut. Primerament, em vaig posar en contacte amb el doctor Pomerola per correu i vam decidir una data per poder anar a les seves instal·lacions. Les pràctiques les vaig fer durant el setembre als laboratoris de química i biologia juntament amb la meva tutora.

Els materials, mètodes i protocols utilitzats pel desenvolupament de la part pràctica es concretaran i explicaran a l'inici del marc pràctic.

2. Bacteris

2.1 Què són?

Els bacteris són un tipus de microorganismes caracteritzats per estar formats per una única cèl·lula procariota. Són la forma de vida més simple i antiga que es coneix. Existeixen evidències fòssils de fa uns 3.500 milions d'anys. A més a més, són els organismes més diversos i nombrosos al nostre planeta. Actualment, s'estima que existeixen unes 2000 espècies de bacteris. També es sap que els bacteris habiten a gairebé la major part de la Terra, encara que siguin ambients extrems.

La cèl·lula procariota (de *pro*, "abans de", i *carion*, "nucli") té una estructura molt més senzilla que la cèl·lula eucariota (de *eu*, "vertader", i *carion*, de "nucli"). Això es deu a que la cèl·lula eucariota té un origen procariota. Avui en dia, es creu que un grup d'organismes procariotes es van unir per endosimbiosi[1] i després de complexos processos i molt de temps es va crear la primera cèl·lula eucariota. Les principals diferències són que la cèl·lula procariota té una mida molt més reduïda i no té un nucli diferenciat. El seu material genètic està format per un dúplex d'ADN circular que es troba escampat pel citoplasma. Podem veure les altres diferències entre els dos tipus de cèl·lules a la taula 1.

	Cèl·lula procariota	Cèl·lula eucariota
Mida	Entre 0,5 i 2µm	Entre 2 i 100 µm
Material genètic	1 cromosoma estructurat en un dúplex d'ADN circular que no està limitat per cap membrana ni associat a cap proteïna bàsica	2 o més cromosomes cadascun d'ells formats per un dúplex d'ADN lineal, ubicats dins del nucli i units a histones[2]

[1] Endosimbiosi: associació entre espècies en la qual els individus d'una espècie resideixen dins de les cèl·lules d'una altra.
[2] Histona: proteïna bàsica molt present en les cèl·lules eucariotes que ajuden a donar forma els cromosomes i controlen l'activitat dels gens.

Embolcall nuclear	No té nucli diferenciat	Té un nucli format per una doble membrana amb porus
Ribosomes	Ribosomes 70S (petits)	Ribosomes 80S (grans)
Orgànuls limitats per doble membrana	No en té	Sí en té (mitocondris i plasts, en la cèl·lula vegetal)
Citoesquelet i orgànuls microtubulars	No en té	Sí en té
Sistemes membranosos interns	Generalment no en té, i si ni han, no són equivalents als dels eucariotes	Sí que en té, per exemple, el reticle endoplasmàtic rugós i llis i l'aparell de Golgi
Flagels	N'hi pot haver, però són estructuralment diferents als eucariotes	N'hi pot haver, però tenen una estructura interna característica. També podem trobar cilis.
Paret cel·lular	Es present gairebé sempre i està formada per proteoglicans	Només en les cèl·lules vegetals (feta de cel·lulosa) i ens els fongs (feta de quitina)
Reproducció	Bipartició	Es produeix la mitosi i la meiosi
Fisiologia	Gamma molt àmplia de models metabòlics	Gairebé tots presenten el metabolisme aeròbic oxidatiu per la respiració i per la nutrició són heteròtrofs o fotoautòtrofs.

Taula 1: Diferencies entre la cèl·lula procariota i l'eucariota. Basada en ARIAS, M; et al. Biologia 2. Barcelona: Castellnou Edicions, 2009.

Tradicionalment, el terme bacteri incloïa a tots els organismes procariotes sense distinció, però, actualment la taxonomia i nomenclatura científica els divideix en dos grups extremadament diferents. Aquests dominis evolutius s'anomenen Archaea i Bacteria. Tot i que aquests dos grups són semblants en aspecte i mida, tenen diferents components en la seva estructura a causa de la distància evolutiva.

Archaea o arqueobacteris

El seu nom significa "bacteris arcaics o ancestrals". Van aparèixer fa uns 2.700 milions d'anys i van evolucionar en condicions molt diferents de les actuals. Per això, avui en dia, algunes espècies d'aquest grup tan primitiu poden sobreviure en hàbitats on les condicions són extremes: a les fonts d'aigua calenta i àcida a més de 55 °C (bacteris termòfils), a aigües amb una salinitat molt més alta que la dels oceans (bacteris halòfils) i als intestins d'alguns mamífers, produint metà (bacteris metanogènics).

La paret cel·lular dels arqueobacteris té una composició diferent a la dels eubacteris. No està formada per peptidoglicans ni glucoproteïnes especials. Fins i tot, existeix un grup d'arqueobacteris que no posseeix paret cel·lular. Les membranes d'aquest grup tampoc tenen àcids grassos, sinó cadenes d'hidrocarburs units al glicerol. Els seus components són tan diferents que alguns científics els consideren un regne a part. També es creu que els primers organismes vius que van aparèixer a la Terra eren molt semblants als arqueobacteris actuals.

Bacteria o eubacteris

El seu nom significa "bacteris verdaders". És el grup més nombrós de bacteris actuals. Se'n coneixen milers d'espècies, encara que en resten moltes més per identificar i descriure. Viuen en ambients molt diversos i tenen una gran varietat de formes, mides i maneres d'obtenir i transformar l'energia.

Una altra forma de dividir els bacteris és segons la seva forma, com podem veure a la figura 1:

- Els bacils, en forma de bastó.
- Els cocs, de forma esfèrica.
- Els espirils, en forma d'espiral.

- Els vibrions, en forma de coma ortogràfica.

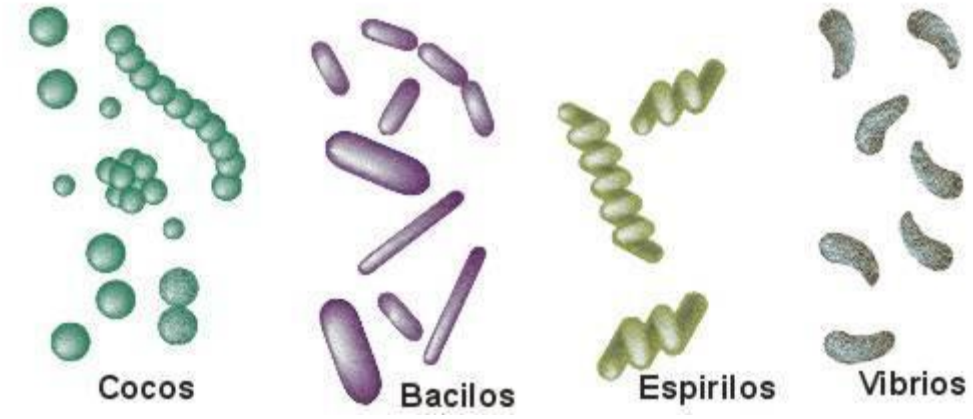


Figura 1: divisió dels bacteris segons la seva forma. © Rubén Alejandro Ovelar Centurión

2.2 Estructura de la cèl·lula bacteriana

Com podem veure a la figura 2, la cèl·lula procariota està formada per diferents estructures. Aquestes estructures són les següents:

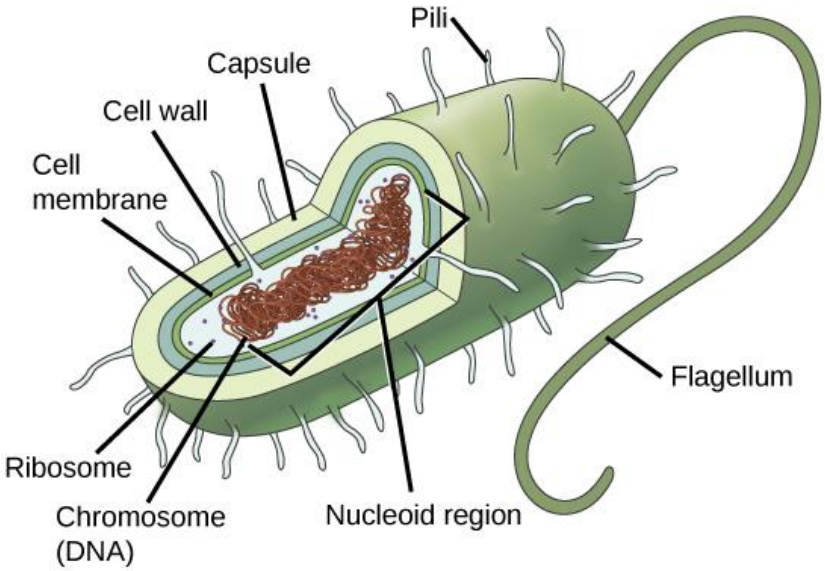


Figura 2: Estructura bacteriana. © Open Stax College.

2.2.1 Càpsula bacteriana

La càpsula bacteriana és una capa mucosa de polisacàrids que envolta la paret bacteriana i que només presenten alguns bacteris.
Aquesta estructura té un grossor d'entre uns 100 a 400 Å[3]. Els seus principals components són polímers de glucosa i polímers d'àcid glucurònic. Gairebé tots els bacteris gramnegatius que són patògens tenen càpsula. Per mitjà de la mutació, però, es pot perdre la característica de tenir càpsula. Això explica que hi hagi espècies que tenen soques amb càpsula que són patògens i soques sense càpsula que no ho són.
Les principals funcions de la càpsula són:

- Dificultar que els anticossos i les cèl·lules fagocítiques les reconeguin i les destrueixin.
- Permetre l'adhesió dels bacteris a les cèl·lules de l'hoste i l'adhesió de les cèl·lules filles entre si, de manera que afavoreixen la formació de colònies.
- Intervenir en els processos d'intercanvi d'aigua, ions i substàncies nutritives.
- Actuar com mecanisme de defensa davant la dessecació del medi.

2.2.2 Paret cel·lular

La paret cel·lular bacteriana és una capa rígida pràcticament present en la majoria de bacteris, menys en els micoplasmes, d'una amplada d'entre 50 i 100 Å. Les funcions bàsiques d'aquesta estructura són mantenir la forma del bacteri i evitar la lisi quan es troba en un medi no isotònic[4], és a dir, protegir la cèl·lula de l'exterior. La majoria de micoplasmes són paràsits intracel·lulars i habiten en medis isotònics, per tant, no necessiten la paret per sobreviure. Si eliminem la paret bacteriana ens queda una cèl·lula nua, que s'anomena protoplast.

El component principal de la paret bacteriana és un tipus de peptidoglicà, la mureïna, una molècula gegant en forma de xarxa que envolta el bacteri i en què

[3] Àngstrom/ ångström (Å): és una unitat de longitud, reconeguda internacionalment, equivalent a 0,1 nanòmetres o 1 × 10−10 metres.
4 Medi isotònic: la concentració de solut és igual a fora i dintre de la cèl·lula.

sovint es localitzen els antígens[5]. La mureïna està composta per llargues cadenes de polisacàrids units entre sí per pèptids.

Existeixen dos tipus diferents de partes cel·lulars que divideixen els bacteris en Grampositius i Gramnegatius. Com podem veure en la figura 3, els bacteris Grampositius tenen una paret relativament gruixuda formada per diverses capes de mureïna i una altre component addicional, els àcids teïcoics. Aquests àcids estan formats per molècules de glicerol o ribitol units entre sí mitjançant grups fosfat. Encara que existeixen moltes teories sobre la funció d'aquest compostos, cap ha sigut demostrada. Mentrestant, no es creu que siguin vitals per a l'estabilitat de la paret. D'altra banda, la paret dels bacteris Gramnegatius és més prima però més complexa. Està constituïda per una capa de mureïna, en la zona que està amb contacte amb la membrana plasmàtica, i per una altra capa més externa feta de lipoproteïnes i lipopolisacàrids que es projecten cap a l'exterior. La diferent composició i constitució de la paret fa que els bacteris tinguin una sensibilitat diferent als antibiòtics. Es sap que els bacteris Gramnegatius són més resistents que els Grampositius com a conseqüència de la complexitat de la seva paret cel·lular.

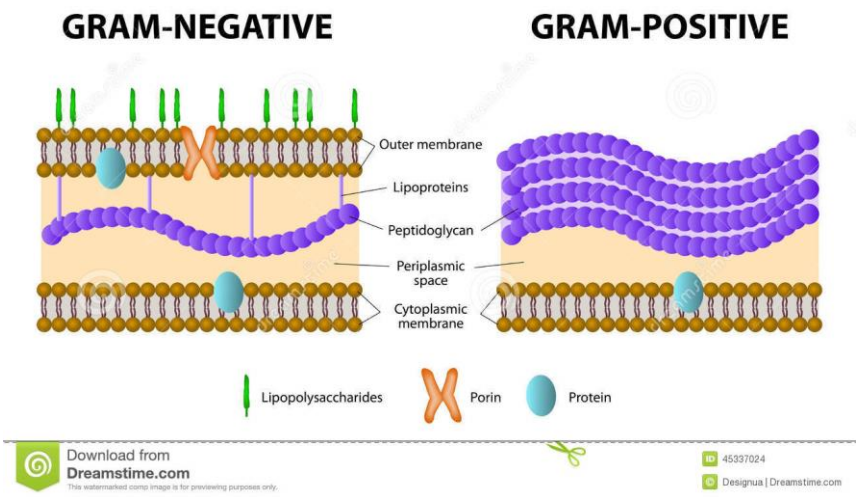


Figura 3: Diferencies entre la paret Gramnegativa i la paret Grampositiva. © Designua.

2.2.3 Membrana plasmàtica

[5] Antigen: qualsevol substància que provoca que el sistema immunitari produeixi anticossos contra ell mateix. Això significa que el sistema immunitari no reconeix la substància i està intentant combatre-la.

La membrana plasmàtica bacteriana és molt similar a la de les plantes i els animals, encara que generalment no contingui colesterol ni altres esteroides. Té una amplada d'uns 50 a 80 Å. Està formada per una bicapa lipídica composta fonamentalment de fosfolípids en la qual s'hi troben també introduïdes proteïnes.

Les principals funcions de la membrana són les mateixes que les de la cèl·lula eucariota, és a dir, contenir el citoplasma i controlar el transport de substàncies, regular que entra i que surt de dintre la cèl·lula.

Una particularitat que presenta la membrana plasmàtica bacteriana és l'existència d'uns replecs interns que reben el nom de mesosomes. Els mesosomes incrementen la superfície de la membrana plasmàtica, subjecten el cromosoma bacterià i, a més, emmagatzemen una gran quantitat d'enzims per produir processos metabòlics necessaris per la vida, com la respiració i la fotosíntesi. A més, el mesosomes porten a terme un paper molt important en la reproducció.

2.2.4 Citoplasma

El citoplasma és una matriu envoltada per la membrana plasmàtica composta principalment d'aigua i proteïnes. És molt semblant al citoplasma de les cèl·lules eucariotes. A causa del gran nombre de ribosomes que conté, el citoplasma té un aspecte granulós. També, és el lloc on es produeixen la gran part de reaccions químiques vitals per a la cèl·lula. Dintre el citoplasma es troben els ribosomes, les inclusions i el nucleoide.

2.2.5 Ribosomes

Els ribosomes són petites estructures que s'encarreguen de sintetitzar les proteïnes. Una sola cèl·lula procariota pot tenir fins a 20.000 ribosomes. Com a les cèl·lules eucariotes, els ribosomes estan formats per dos subunitats diferents, una més petita que l'altre. Però, els ribosomes procariotes són més petits. Aquests se'ls anomena 70S (la S refereix a les unitats Svedberg, amb les quals estan mesurats) i els

ribosomes eucariotes 80S. Els ribosomes estan compostos principalment de proteïnes i ARN.

2.2.6 Flagels

Els flagels són unes prolongacions fines microtubulars que poden arribar a ser varies vegades més llargues que el bacteri i que tenen com a objectiu proporcionar mobilitat a la cèl·lula. Aquests es mouen com una hèlix impulsant un vaixell i amb aquest moviment propulsen a la cèl·lula. Això, succeeix gràcies a què el flagel està compost per tres parts diferents:

- Filament: estructura que s'estén des de la superfície de la cèl·lula a la punta del flagel. Està formada per una proteïna especial anomenada flagel·lina.
- Ganxo: regió cilíndrica que uneix el filament al seu cos basal i actua com a acoblament flexible.
- Corpuscle basal: estructura complexa que està inserida dins la cèl·lula i és la responsable del moviment rotatori del flagel.

Com podem veure en la figura 4, els flagels es poden dividir en cinc grups diferents depenent del seu número i la seva posició. Aquests grups són:

- Monòtrica: un sol flagel en un extrem.
- Amfítrica: un o més flagels a cada extrem.
- Lofòtrica: dos o més flagels en els dos pols.
- Perítrica: hi ha flagels per tota la superfície cel·lular.
- Atrica: la cèl·lula no té flagels.

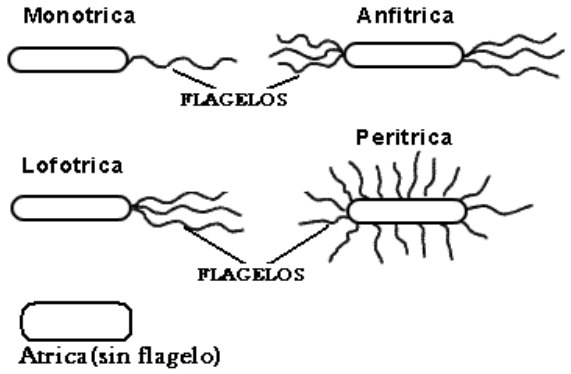


Figura 4: Tipus de flagels segons el número i la posició. © Bartomeu Vilanova Suau.

2.2.7 Fímbries o pili

Les fímbries o pili són apèndixs rectes, buits i fins formats per una proteïna anomenada pilina. La principal funció de les fímbries és l'adhesió. Cada tipus de fímbria està especialitzada a l'adhesió en una superfície concreta. Des de fixar el bacteri a una font d'aliment, a una pel·lícula superficial de l'aigua, etc (Figura 5).

Hi ha un tipus de fímbria especial molt important anomenada pèl sexual que intervé durant la conjugació. La majoria de bacteris Gramnegatius posseeixen fímbries, però, molt pocs Grampositius en tenen. En els bacteris patògens, el pili s'utilitza per al reconeixement i la fixació del bacteri als receptors de la membrana de la cèl·lula hoste. Per tant, si el bacteri perd aquesta característica per una mutació, queda inhabilitat per poder produir la infecció.

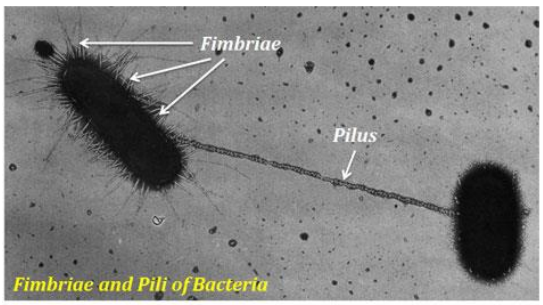


Figura 5: Fímbries i pili. © Easy Biology Class.

2.2.8 Inclusions

Les inclusions són grànuls de reserva de diversos tipus de substàncies que el bacteri ha sintetitzat en moments d'abundància d'aliments o bé són residus del seu metabolisme. Aquestes inclusions estan disperses pel citoplasma, sense membrana que les aïlli del medi intern.

2.2.9 ADN bacterià

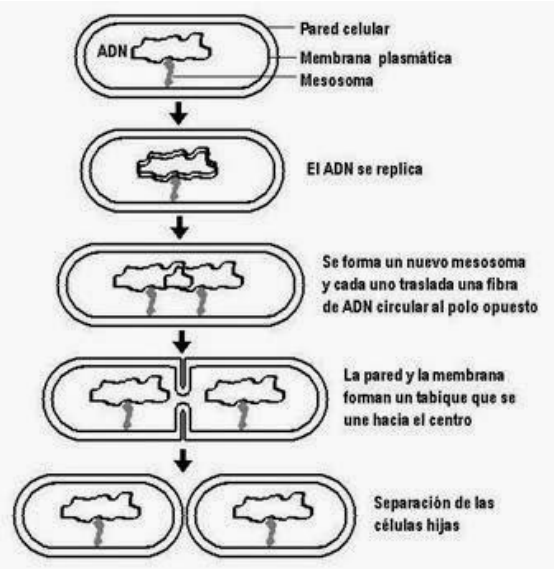
El material genètic dels bacteris està format per una doble hèlix d'ADN circular que es troba plegada a l'interior del citoplasma, però sense estar embolcallada per cap mena de membrana. Doncs, a diferència de la cèl·lula eucariota, no trobem un nucli diferenciat. L'ADN es troba associat a proteïnes bàsiques no històniques que faciliten el plegament perquè càpiga dins el bacteri.

El conjunt d'ADN circular més proteïnes s'anomena cromosoma (o genòfor), per analogia amb els cromosomes eucariòtics. En el microscopi electrònic de transmissió, podem observar que la zona on està situat el cromosoma té un aspecte fibrós i més clar que la resta del citoplasma. Aquesta regió s'anomena nucleoide.

En la majoria dels bacteris es troben, a més del cromosoma, una o més molècules petites d'ADN circular anomenades plasmidis, que es repliquen independentment del cromosoma. Si s'integren al genòfor reben el nom d'episomes. Els plasmidis són molt importants per l'adaptació als nous medis i la supervivència dels bacteris. Per exemple, solen ser portadors de gens que confereixen resistència a alguns antibiòtics.

2.3 Reproducció

El creixement bacterià i la reproducció per divisió cel·lular estan relacionats, com a la majoria de casos de cèl·lules unicel·lulars. Els bacteris creixen fins arribar a una mida concreta, desprès es reprodueixen asexualment a partir d'un procés molt ràpid anomenat fissió binària o bipartició.



Aquest procés es produeix un cop la cèl·lula ha crescut completament i ha duplicat el seu material genètic, un cop l'ADN ja estava enganxat a un mesosoma. A continuació, apareix un segon mesosoma que s'unirà a la replica del material hereditari. Cada mesosoma arrastra la seva còpia cap a un pol de la cèl·lula mentre que la paret i la membrana formen un envà transversal que separa el citoplasma en dos i finalment crea les dues noves cèl·lules. (Figura 6)

Figura 6: Esquema de la bipartició. © Claudia Bergonzi

Amb molt poc temps, uns 20 minuts, s'han creat dos nous bacteris idèntics entre ells i, a la vegada, al seu antic progenitor. Amb aquesta informació, podríem arribar a pensar que hi ha molt poca variabilitat entre els bacteris, però, és tot el contrari. L'elevada freqüència de mutacions i els fenòmens de parasexualitat bacteriana ajuden a generar una certa diversitat que resulta essencial per aconseguir la seva increïble adaptabilitat als canvis ambientals.

2.4 Genoma bacterià

El genoma bacterià és el conjunt d'ADN que conté la cèl·lula procariota. La majoria de l'ADN de la cèl·lula bacteriana està contingut en el seu únic cromosoma circular, tot i que hi ha alguns gens independents que es troben als plasmidis. Com s'ha explicat, els bacteris es reprodueixen asexualment i els seus fills són clons idèntics del seu progenitor. Per tant, es necessiten altres sistemes per garantir la variabilitat genètica.

2.4.1 Mutacions

Una mutació és una alteració o variació de la seqüència d'un nucleòtid o en la organització de l'ADN. Hi ha moltes formes d'organitzar els diferents tipus de mutacions. Les més comunes són les següents.

Segons el seu origen:

- Mutacions espontànies: es produeixen durant el curs natural del creixement bacterià.
- Mutacions induïdes: són causades per tractaments externs (químics, físics o biològics)

Segons l'efecte sobre l'individu:

- Mutacions perjudicials: representen un inconvenient per a la supervivència. Solen produir malalties, deformitats o la no viabilitat del zigot.
- Mutacions beneficioses: permeten a l'organisme adaptar-se millor al medi i sobreviure.

- Mutacions neutres: no proporcionen a l'individu cap avantatge ni inconvenient.

2.4.2 Fenòmens de parasexualitat bacteriana

A part de les mutacions, els bacteris també disposen dels processos parasexuals (Figura 8), que accentuen encara més la variabilitat i permeten la recombinació genètica. Aquests processos són:

- Transformació: procés de transferència en el qual un bacteri introdueix en el seu interior fragments de material genètic que es trobaven lliures en el medi i procedien d'altres bacteris que havien experimentat una lisi.
- Transducció: procés de transferència en el qual es transfereix ADN bacterià mitjançant un virus bacteriòfag que havia parasitat anteriorment un altre bacteri.
- Conjugació: procés de transferència en el qual hi ha un intercanvi de material genètic entre dues cèl·lules actives. L'intercanvi que es produeix és unidireccional i va des d'una cèl·lula donadora fins a una altra cèl·lula receptora. Els bacteris donadors es caracteritzen per ser portadors d'un "plasmidi conjugatiu" anomenat factor F, que determina l'aparició d'una estructura anomenada pèl sexual o pili que actua com a pont citoplasmàtic per on passa una copia del plasmidi a la cèl·lula receptora. Aquesta estructura permet transmetre el plasmidi F a bacteris que no el tenen. Els bacteris que posseeixen els plasmidis F es coneixen com a F+ i els que no en tenen com a F-.

  A més, hi ha bacteris anomenats HRF (High Recombination Frequency) que presenten el factor F integrat dintre el genoma bacterià, és a dir, els plasmidis s'han convertit en episomes. Aquests bacteris també són capaços de donar una petita copia d'ADN als bacteris F. Un bacteri HFR transmet part del plasmidi F i alguns gens adjacents del cromosoma, que es recombinen amb el DNA del bacteri receptor i hi queden integrats.

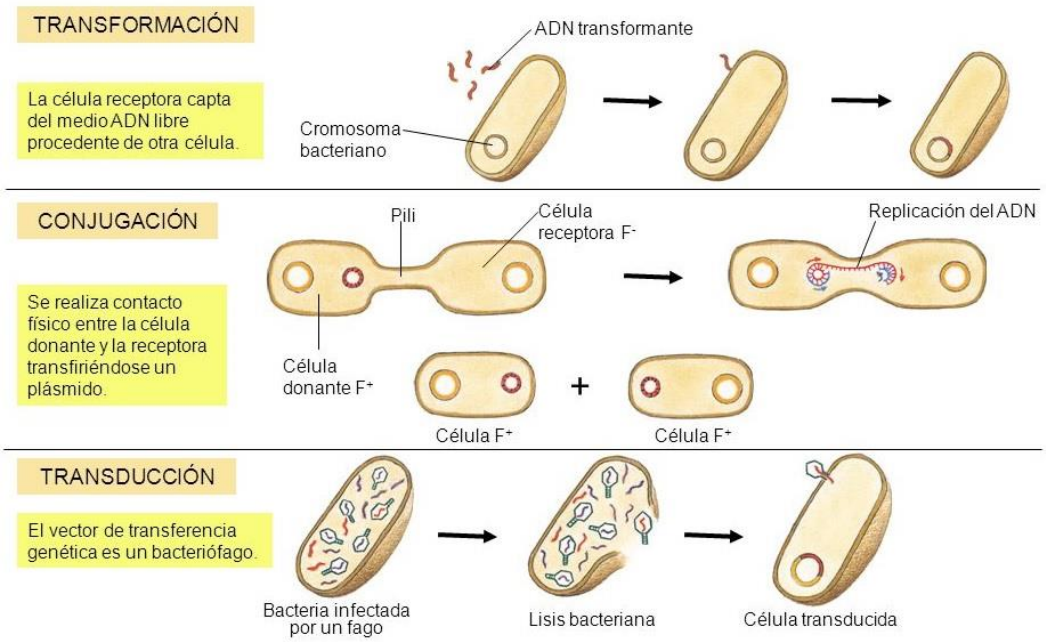


Figura 7: Fenòmens de parasexualitat. © David Sánchez.

2.5 Creixement bacterià

El creixement d'una població microbiana s'estudia analitzant la corba de creixement d'un cultiu microbià. Els microorganismes cultivats solen créixer normalment en un sistema tancat, és a dir, s'incuben en un recipient tancat on no s'afegeix més quantitat de medi que la original, per tant, les quantitats de nutrients disminuiran i les de residus augmentaran. En aquestes condicions, es poden distingir quatre fases (Figura 8):

- Fase de latència: en aquesta fase els bacteris sintetitzen els enzims necessaris per l'activitat metabòlica que hauran de portar a terme. El nombre de microorganismes no varia gaire, però, durant aquesta etapa els bacteris creixen i s'adapten al nou medi.
- Fase exponencial: els microorganismes creixen i es divideixen fins al màxim possible, en funció del seu potencial genètic, el tipus de medi i les condicions en les que creixen.
- Fase estacionaria: la taxa de creixement s'estabilitza com a conseqüència de la manca de nutrients i l'acumulació de productes tòxics. El nombre de cèl·lules noves s'equilibra amb el nombre de cèl·lules que moren.

- Fase de mort: cada vegada augmenta més el nombre de bacteris morts fins que la població desapareix.

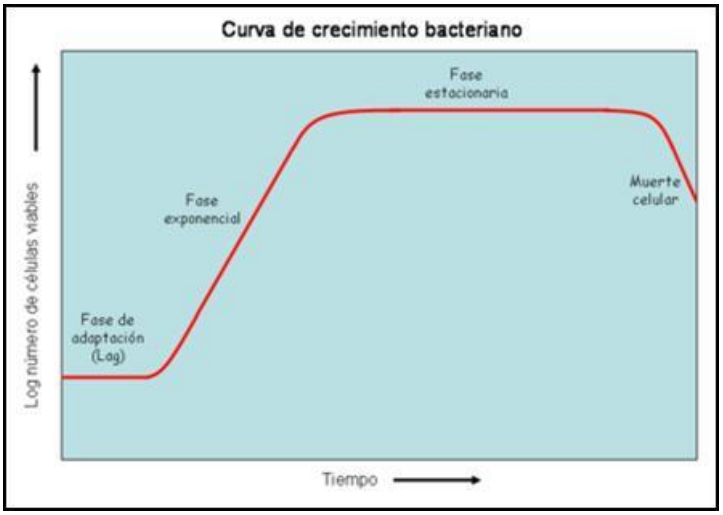


Figura 8: Corba de creixement bacterià. © David Deitmor Torres Zavala.

La fórmula per estudiar el creixement bacterià correspon a $b = 2^n$ (on b és el nombre de bacteris i n és el nombre de generacions). Però, s'ha de tenir en compte que el ritme de creixement bacterià està determinat per variables com la temperatura, l'abundància de bacteris en el medi o la disponibilitat d'aliments.

3. Antibiòtics

3.1 . Què són? Perquè serveixen?

Els antibiòtics són substàncies orgàniques capaces d'induir la mort o la parada del creixement dels bacteris. Per tant, el seu objectiu principal és combatre infeccions produïdes per bacteris patògens. També hi ha casos en els quals es pren antibiòtics per prevenir malalties.

3.2 Història i descobriment dels antibiòtics

Fa tan sols cent anys, la principal causa de mort en el món eren les malalties infeccioses. La taxa de mortalitat era elevadíssima, tant en infants, adults o ancians. Al voltant del 75-85% dels pacients que patien meningitis bacteriana morien i els nadons només tenien una probabilitat del 10% de sobreviure una sèpsia neonatal, una infecció greu, en el seu primer mes de vida.

TIPUS D'INFECCIÓ	Mortalitat principis del segle XX (%)	Mortalitat principis del segle XXI (%)
Meningitis bacteriana	75-85	5-25
Pneumònia bacteriana	35-45	1-10
Sèpsia neonatal	85-95	5-15
Pesta	30-60	<5

Taula 2: Comparació de la mortalitat al segle XX amb el segle XXI. OTEO, J. La resistència a los antibióticos: la amenaza de las superbacterias. Madrid: Los libros de la Catarata, 2016.

Tot va canviar quan al 1928, el biòleg i farmacòleg escocès Alexander Fleming va tornar al seu laboratori després d'uns dies de vacances. Es va trobar que una de les seves colònies aïllades de *Staphylococcus aureus* havia estat contaminada per un fong. Però el més sorprenent és que semblava que aquell fong produïa una substància antimicrobiana, ja que el cultiu no havia crescut en el seu voltant. Aquest fong va ser posteriorment identificat com *Penicillum notatum* i la nova substància

descoberta va ser anomenada penicil·lina. A Fleming se li va ocórrer que aquest descobriment podria tenir gran valor terapèutic per a la població, però no va ser mai capaç d'aïllar-la. Però, onze anys més tard, dos químics britànics, Howard Florey i Ernest Chain ho van aconseguir. El 1945, aquests tres homes van rebre el Premi Nobel, pel seu gran descobriment i per haver canviat el rumb de la microbiologia i la medicina.

Un cop es va aïllar la penicil·lina, el següent pas era la producció en massa. No obstant, encara que la penicil·lina és una molècula molt petita, la seva síntesi química és molt complexa. Per això, no era rentable sintetitzar-la químicament per a les farmacèutiques. Per tant, es van desenvolupar procediments per cultivar *P. notatum* de forma rigorosa i controlada. Però, l'impuls més gran que va rebre aquesta indústria va ser el començament de la Segona Guerra Mundial. En aquesta època, es van necessitar massivament i desesperadament aquests nous fàrmacs, tant per a la població com pels soldats. Aquest fet, va marcar l'inici de l'era industrial dels antibiòtics.

L'èxit de la penicil·lina va ser tan extraordinari que, juntament amb les seves limitacions terapèutiques (la penicil·lina només actua normalment en bacteris Grampositius) va estimular una intensa recerca de nous antibiòtics. Va ser en la dècada dels cinquanta, quan Albert Schatz i Selman A. Waksman van descobrir l'estreptomicina, un antibiòtic efectiu contra la tuberculosis i altres bacteris Gramnegatius.

Posteriorment, van der descoberts, per les industries farmacèutiques, els antibiòtics d'ampli espectre[6] i moltes altres famílies d'aquest tipus de fàrmac: β-lactams, macròlids, aminoglicòsids... La recerca de nous antibiòtics ha continuat fins a l'actualitat, desgraciadament, en els últims 20 anys no s'ha pogut aïllar noves famílies. Aquest problema, juntament amb l'aparició de noves soques de bacteris resistents a aquests fàrmacs, són els dilemes els quals la nostra societat s'enfronta i marcaran l'industria farmacèutica del futur.

[6] Antibiòtic d'ampli espectre: antibiòtics amb una activitat poc selectiva davant un gran nombre d'espècies bacterianes.

3.3. Classificacions

Els antibiòtics formen un grup molt heterogeni. Per això, hi ha diverses formes de classificació tenint en compte els criteris següents:

3.3.2. Segons l'espectre d'acció

- Antibiòtics d'espectre ampli: són actius en un ampli conjunt de bacteris. Ex: aminoglicòsids i carbapenems.
- Antibiòtics d'espectre reduït: afecten només a un grup reduït d'espècies bacterianes i no són actius contra la gran part de la microbiota que protegeix el cos humà. Ex: penicil·lines.

3.3.3 Segons l'origen de l'antibiòtic

- Natural: s'obté del cultiu de microorganismes com fongs o bacteris.
- Semi sintètic: s'obté a partir d'un nucli bàsic d'un agent obtingut de forma natural i es modifiquen algunes característiques per millorar les seves propietats.
- Quimioteràpic o sintètic: s'obté totalment per síntesi química.

3.3.4. Segons l'efecte de l'antibiòtic

- Antibiòtics bactericides: la seva acció és letal, provoquen la lisi i la mort bacteriana. Ex: β-lactàmics, quinolones i aminoglicòsids.
- Antibiòtics bacteriostàtics: impedeix la proliferació bacteriana, és a dir, frena l'avanç de la infecció. Ex: cloramfenicol i tetraciclines.

L'efecte antimicrobià està relacionat amb el seu mecanisme d'acció, però també s'ha de tenir en compte que pot dependre d'altres factors com la dosi, la fase de creixement del bacteri, el temps d'acció, el tipus de bacteri...Hi ha antibiòtics que es comporten de les dues formes, depenent simplement de la dosi subministrada.

3.3.5. Segons el mecanismes d'acció

Hi ha molts tipus diferents de mecanismes d'acció dels antibiòtics, els més importants són:

- Inhibició de la paret bacteriana

La paret cel·lular és una estructura específica dels bacteris i una diana perfecta pels antibiòtics. Els fàrmacs que actuen per aquest mecanisme bloquegen la síntesi del peptidoglicà, el component principal de la paret cel·lular, deixant la cèl·lula desprotegida de la pressió interna generada per les concentracions, molt més altes en l'interior, de proteïnes i altres molècules que es troben dins de la cèl·lula. Aquesta pressió produeix la lisi. Els bacteris que no posseeixen aquesta estructura són resistents de forma natural a aquests medicaments.
Ex: β-lactàmics (penicil·lines, cefalosporines, carbapenems...)

- Inhibició de la síntesi de proteïnes

Els antibiòtics que interfereixen en la síntesis de proteïnes actuen contra els ribosomes procariotes. La diferència entre els ribosomes procariotes 70S i els ribosomes eucariotes 80S és la base de la toxicitat selectiva d'aquests antibiòtics. A causa d'aquesta diferència, els antibiòtics són capaços de diferenciar entre els ribosomes procariotes i els eucariotes i no perjudiquen les cèl·lules de l'hoste.
Ex: aminoglicòsids i macròlids.

- Inhibició de la síntesi de l'àcid fòlic

Tots els éssers vius necessiten àcid fòlic per sobreviure. Aquest àcid s'encarrega de funcions molt importants, per exemple, la síntesis de les bases nitrogenades que formen part de l'ADN. Els antibiòtics que utilitzen aquest mecanisme tenen una toxicitat selectiva ja que les cèl·lules humanes no són capaces de produir l'àcid fòlic, sinó que l'ingerim en la nostra dieta, a diferència de les cèl·lules procariotes que el sintetitzen elles mateixes.
Ex: sulfamides i trimetoprim.

- Inhibició del metabolisme dels àcids nucleics

La síntesi d'àcids nucleics és necessària en tots els organismes, per tant, la toxicitat selectiva d'aquests antibiòtics és força limitada. No obstant, hi ha enzims essencials, les topoisomerases[7] i les polimerases[8], que són diferents entre organismes procariotes i eucariotes. Per tant, els antibiòtics d'aquest grup ataquen aquestes estructures especifiques.
Ex: quinolones, tetraciclines i rifampicina.

- Alteració de la membrana plasmàtica

Hi ha alguns fàrmacs que inhibeixen el creixement bacterià perquè danyen els components de la membrana plasmàtica, destruint la seva permeabilitat selectiva i permitent l'entrada i sortida de molècules vitals sense cap control. Hi ha moltes maneres diferents d'alterar l'estabilitat de la membrana plasmàtica, per exemple, destruint els fosfolípids.
Ex: polimixina B i amfotericina B.

[7] Topoisomerasa: enzim capaç d'enredar l'ADN per permetre que s'emmagatzemi de forma més compacte o enredar-lo per que controli la síntesi de proteïnes i facilitar la seva pròpia replicació.
[8] Polimerasa: enzim capaç de transcriure o replicar àcids nucleics.

4. Resistència bacteriana

Quan diem que un microorganisme és resistent a un fàrmac significa que aquest ésser viu pot créixer i reproduir-se en presencia de la droga. La resistència pot ser una característica natural, és a dir, el bacteri sempre ha sigut resistent al antibiòtic ja que és una propietat pròpia de la soca bacteriana.

Però, també pot ser una característica adquirida per mutacions genètiques que es poden transmetre de generació en generació o fenòmens de parasexualitat bacteriana. Aquests canvis genètics es produeixen espontàniament. Les soques de bacteris sensibles moren i només sobreviuen les resistents, que continuaran reproduint-se i multiplicant-se.

4.1 Mecanismes de resistència

Al llarg dels anys, els bacteris han desenvolupat diferents mecanismes per protegir-se de les substàncies antimicrobianes. Els tres principals i més coneguts són:

- Modificació de la diana sobre la qual actua l'antibiòtic:

Perquè els antibiòtics bloquegin la producció de proteïnes bacterianes primer necessiten unir-se a un lloc específic del ribosoma. Si el bacteri és capaç de modificar l'estructura d'aquest lloc sense que afecti la seva funció, l'antibiòtic no podrà actuar. Hi ha soques del bacteri *Streptoccocus pneumoniae* que han adquirit resistència a la penicil·lina mitjançant una sèrie de mutacions que afecten a les proteïnes les quals la penicil·lina s'hauria d'unir per ser afectiva. Per culpa d'aquesta mutació, la penicil·lina és incapaç d'atacar aquesta soca bacteriana.

- Destrucció o inactivació enzimàtica de l'antibiòtic:

Hi ha especies de bacteris que produeix substàncies que interfereixen o destrueixen l'antibiòtic abans que arribi al seu lloc d'acció. Les β-lactamases són uns enzims produïts per alguns bacteris que trenquen l'anell β-lactàmic característic dels antibiòtics β-lactams. Amb aquesta acció aconsegueixen inhibir el fàrmac. Avui en

dia, les BLEE (β-lactamases d'espectre estès) constitueixen un dels problemes sanitaris més importants del món.

- Disminució de l'antibiòtic en l'interior del microorganisme

El tercer mecanisme es basa en una sèrie de mutacions en les capes que envolten el bacteri. Es poden desenvolupar de dues formes diferents. Dificultant la penetració de l'antibiòtic dintre la cèl·lula o expulsant immediatament el compost a través de sistemes de bombejament. Aquest sistemes de bombejament poden ser de dos tipus diferents: les bombes d'expulsió activa[9] o les porines, per les quals entren substàncies dintre la cèl·lula de forma passiva[10]. Algunes soques del bacteri *Neisseria gonorrhoeae* són resistents a la penicil·lina gràcies a una mutació a les porines de la membrana plasmàtica.

Encara que aquests són els principals mecanismes, s'ha de tenir en compte que dintre de cada una d'aquestes grans estratègies existeixen diverses variants i no es estrany que en un bacteri es trobin més d'una.

4.2 Bacteris multirresistents

El febrer del 2017, l'OMS va presentar una llista (Figura 9) on figuraven els dotze bacteris més perillosos en l'actualitat. La llista ha sigut creada per animar i dirigir els governs per invertir en la investigació de nous antibiòtics. La gran majoria d'ells eren bacteris multirresistents o també anomenats superbacteris. Un bacteri és considerat multirresistent quan presenta resistència a tres o més famílies d'antibiòtics. Aquests bacteris són extremadament perillosos en els hospitals (sobretot en els pacients amb les defenses baixes i/o que necessiten ventiladors o catèters intravenosos) i residencies d'ancians.

[9] Transport actiu: transport de substàncies a través de les membranes de la cèl·lula en contra de gradient que requereix energia per portar-se a terme.
[10] Transport passiu: transport de substàncies a través de les membranes de la cèl·lula a favor de gradient i que no requereix energia per portar-se a terme.

Lista OMS de patógenos prioritarios para la I+D de nuevos antibióticos

Prioridad 1: CRÍTICA

1. *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos
2. *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos
3. Enterobacteriaceae, resistentes a los carbapenémicos, productoras de ESBL

Prioridad 2: ELEVADA

1. *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina
2. *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina
3. *Helicobacter pylori*, resistente a la claritromicina
4. *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas
5. *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas
6. *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas

Prioridad 3: MEDIA

1. *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina
2. *Haemophilus influenzae*, resistente a la ampicilina
3. *Shigella* spp., resistente a las fluoroquinolonas

Figura 9: Llista dels dotze bacteris més perillosos l'any 2017. © OMS

Els tres primers bacteris, han adquirit resistència a un elevat nombre d'antibiòtics, com els carbapenems i les cefalosporines de tercera generació (els millors antibiòtics per tractar infeccions causades per bacteris resistents). La segona i tercera llista, contenen els noms de bacteris els quals estan augmentant la seva farmacorresitència.

Un dels casos més coneguts de bacteris resistents és el MARSA o SARM (Staphylococcus aureus resistent a la meticil·lina). A la dècada dels 40, van aparèixer les primeres soques resistents a la penicil·lina i es va proliferar fins al punt que deu anys més tard, el percentatge de soques que produïen β-lactamases superava el 65%. Per això, es va haver de canviar el tractament. Malauradament, poc a poc, anaven apareixen noves soques resistents dels antibiòtics considerats com una alternativa pel tractament fins que el 1961 es va detectar per primera vegada una soca resistent a la meticil·lina al Regne Unit. La meticil·lina és un antibiòtic d'espectre reduït resistent a les β-lactamases, per això, va alarmar molt als serveis sanitaris l'aparició d'aquesta soca. Havien desenvolupat un nou tipus de β-lactamasa que inhibia l'actuació de la meticil·lina. Des d'aquell moment, aquest nou mecanisme de resistència s'ha dispersat per tot el món. Al principi, les infeccions per SARM solien ser nosocomials i solien afectar a pacients ingressats en unitats de

cures intensives, però, actualment està començant a afectar a la població en general (Figura 10). Avui en dia, l'antibiòtic més utilitzat per tractar aquestes infeccions és la vancomicina, encara que ja s'estan trobat soques resistents aquest fàrmac.

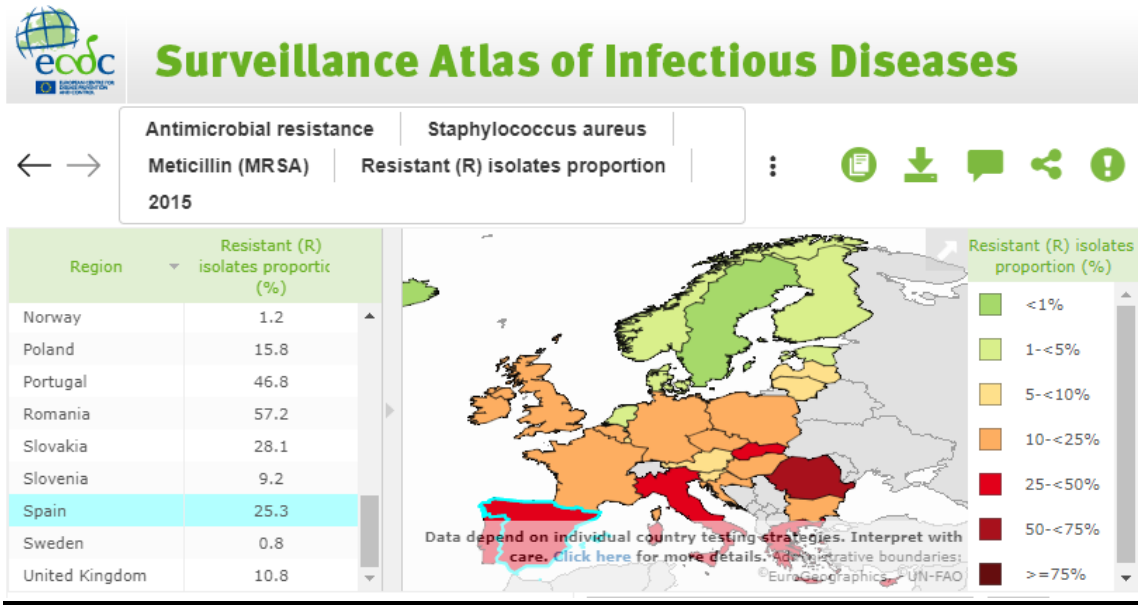


Figura 10: Gràfic sobre la propagació del MARSA el 2015. © Surveillance Atlas of Infectious Diseases

BLOC 2: Treball pràctic

5. Introducció del marc pràctic

Aquest marc pràctic constarà de tres pràctiques al laboratori de l'institut i una visita a l'Hospital Vall d'Hebron.

Per portar a terme les pràctiques vaig demanar al CESIRE[11] set soques de bacteris en plaques de petri, 20 plaques de petri i 50ml de medi líquid. Els discs pels antibiogrames els vaig comprar al Pidiscat, una empresa que ven material científic. Les pràctiques les vaig realitzar durant les primeres setmanes de setembre. La primera té com a objectiu practicar i aprendre la tècnica de la sembra i l'antibiograma. Els bacteris utilitzats en aquesta pràctica són els del CESIRE. A la segona pràctica vaig agafar mostres de diferents indrets per si trobava una soca bacteriana resistent. Finalment, en la tercera, vaig preparar diferents plaques de petri amb diferents concentracions d'amoxicil·lina per poder comprovar si és més probable que es facin presents mecanismes de resistència en les soques bacterianes en medis on hi hagi una alta concentració d'antibiòtic.

La visita a la Vall d'Hebron la vaig fer un matí de juny, quan ja havíem acabat les classes. Al principi, havia de ser una entrevista, però al final, a més de respondre les meves preguntes també vam parlar i discutir sobre altres temes relacionats amb les resistències bacterianes, com per exemple, les conseqüències econòmiques. Per tant, finalment vaig decidir no transcriure-ho com una entrevista.

6. Visita a la Vall d'Hebron

Al principi del desenvolupament del meu treball de recerca em vaig posar en contacte amb el doctor Tomàs Pumarola, investigador i cap de Servei de Microbiologia de l'Hospital Vall d'Hebron.

El doctor Pumarola es va llicenciar el 1981 de Medicina i Cirurgia i el 1986 es va especialitzar en Microbiologia i Parasitologia.

Figura 11: Tomàs Pumarola Sunyer. © Vall d'Hebron

[11] CESIRE: Centre de Recursos Pedagògics Específics de Suport a la Innovació i la Recerca Educativa

Actualment, també treballa com a docent a la Universitat de Barcelona. Ha participat en nombrosos congressos i conferències i aquest any ha sigut nomenat Acadèmic Numerari de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya. Conjuntament amb el seu servei, són un dels equips més punters d'Espanya.

El dia 21 de juny vaig anar a la Vall d'Hebron per poder aprendre més sobre les resistències i obtenir el punt de vista d'un metge especialitzat en aquest tema. A més, també vaig tenir l'oportunitat de conèixer el doctor Juan José González López, el principal investigador en mètodes per contrarestar els efectes de les resistències bacterianes. En conjunt, la experiència va ser molt enriquidora. En els paràgrafs següents transcriuré les idees i temes més importants de la conversa. A l'annex es pot trobar l'àudio de la conversa.

6.1 Problema a escala mundial

Avui en dia, la resistència bacteriana és considerada una de les pitjors amenaces per a la salut mundial. Cada any, apareixen nous mecanismes de resistència que es propaguen fàcilment a nivell global i posen en perill la nostra capacitat de tractar infeccions bacterianes. Malalties comuns com la pneumònia, la tuberculosis i la gonorrea són cada vegada més difícils de tractar degut a la pèrdua d'eficàcia dels antibiòtics. A més, sense antibiòtics, intervencions tant necessàries com el trasplantament d'òrgans, la quimioteràpia, cirurgies... es convertirien en processos d'alt risc ja que pujaria exponencialment la probabilitat de contraure una infecció. Però el més preocupant pels experts són els pacients greus o internats en l'UCI (Unitat de Cuidats Intensius). Aquests pacients tenen el seu cos en un estat immunodeprimit, és a dir, tenen moltes possibilitats de contraure una infecció. Si a més a més, aquesta infecció és causada per un bacteri resistent pot causar grans danys i problemes en el pacient. Com a conseqüència directa d'aquest fet, la resistència bacteriana també comporta l'augment de la durada de les hospitalitzacions, la necessitat d'atenció més personalitzada i aïllament i, en els casos més extrems, la mortalitat dels pacients.

Però, aquesta amenaça comporta una amplia gama de conseqüències molt més extensa, des de problemes socioeconòmics a polítics. Pels governs suposa un gran

sobrecost en el sistema sanitari. Les llargues hospitalitzacions, l'ús d'antibiòtics nous i d'última línia, la formació del personal sanitari, les subvencions per la recerca, les mesures d'aïllament... Tot això, fa que l'Estat hagi d'invertir grans quantitats de capital. Fins i tot, va molt més allà de la medicina. També afecta la ramaderia, l'agricultura, la indústria d'aliments i el medi ambient també es veuen greument afectats.

6.2 Causes principals de l'auge de les resistències

La resistència bacteriana és un procés natural gràcies el qual les espècies bacterianes s'han pogut adaptar al medi que els envolta i sobreviure. Però, l'abús indegut d'aquests medicaments ha accelerat aquest fenomen evolutiu. Vivim en una societat que abusa extremadament dels fàrmacs, no simplement dels antibiòtics. En les consultes d'atenció primària és prescriuen excessivament els antibiòtics. A més a més, tot i que sigui il·legal a Espanya, molta gent adquireix aquests medicaments sense prescripció mèdica o no segueixen les instruccions del tractament. Però també, aquest abús es produeix a les consultes primàries, quan els metges de família es veuen desbordats i no tenen mètodes per diferenciar entre una grip i una infecció bacteriana.

També, molt poca gent sap que la indústria agroalimentària és un dels principals consumidors d'antibiòtics. A les granges hi ha un consum exagerat d'antibiòtics en el bestiar i ,és en aquestes instal·lacions on es propaguen molts bacteris resistents. Després, nosaltres consumim aquesta carn o llet i els bacteris resistents s'integren a la nostra microbiota. Potser a nosaltres no ens afectaran, però quan entrem amb contacte amb una persona amb el sistema immunitari dèbil és molt possible que contragui una infecció resistent.

A més a més, aquest problema es veu greument perjudicat per la falta de nous antibiòtics. En els últims vint anys, no s'ha descobert cap nou grup d'aquests fàrmacs. Avui en dia, el pressupost mitjà necessari pel desenvolupament d'un nou medicament és d'uns 500 milions d'euros i els incentius industrials no semblen suficients per assegurar una disponibilitat continuada de medicaments

antimicrobians eficaços. Els antibiòtics no suposen una font segura d'ingressos per l'industria farmacèutica, prefereixen invertir en fàrmacs de malalties cròniques i la poca recerca pública depèn del finançament de l'Estat.

6.3 Línies de recerca i nous projectes

Actualment, als laboratoris de l'Hospital de la Vall d'Hebron s'està investigant en dues línies diferents de recerca per trobar mètodes i mecanismes per fer front a l'avanç de les resistències bacterianes.

6.3.1 Tècniques de diagnòstic ràpid

Les tècniques de diagnòstic ràpid són proves que es caracteritzen per ser senzilles, ràpides i precises. Estan pensades per ser utilitzades en les consultes d'atenció primària pel personal sanitari, encara que no tinguin coneixements en anàlisi de laboratori. Avui en dia, ja s'utilitza un d'aquestes proves pel diagnòstic de l'amigdalitis. En la majoria de casos d'aquesta infecció acaba amb un tractament amb antibiòtic, encara que molt pocs estiguin verdaderament causats pel bacteri *Streptococcus pyogenes*. A més a més, s'ha portat a terme una prova pilot d'una nova tècnica de diagnòstic ràpid de la grip. Aquesta malaltia vírica és sovint confosa amb una infecció bacteriana, per això molts metges recepten antibiòtics quan no és necessari. Amb aquestes proves, no només s'ha pogut observar una disminució del consum d'antibiòtics sinó que també s'ha descongestionat el sistema sanitari, tot gràcies a un diagnòstic més precís.

6.3.2 Estabilitat plasmídica

Aquesta nova línia de recerca està sent investigada pel doctor Juan José González López a l'Hospital Vall d'Hebron. Aquest projecte es basa en la idea de que no tots els bacteris tenen el gen que els proporciona la resistència dintre l'ADN cromosòmic, sinó que l'han obtingut a partir d'un plasmidi. Per això, s'està estudiant quines són les proteïnes clau perquè el plasmidi sigui estable i, un cop s'hagin identificat, buscar un compost que les inhibeixi. Quan el plasmidi és inestable, el bacteri el perd. Per tant, al mateix moment, recupera al seu fenotip de resistència original. I com a conseqüència, el bacteri torna a ser sensible a antibiòtics que abans no es podien

utilitzar. Gràcies a aquesta innovadora idea no és necessari produir nous antibiòtics i es possible reutilitzar antibiòtics que havien quedat obsolets.

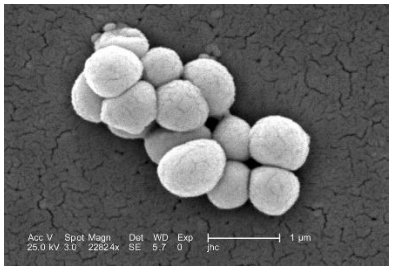
Tot i que aquestes són les línies de recerca que s'estan investigant a la Vall d'Hebron, altres hospitals i centres d'investigació estan recercant altres mètodes. Un de molt interessant és, per exemple, la utilització de virus bacteriòfags. Aquests tipus de virus infecten i maten únicament cèl·lules procariotes. En alguns hospitals de fora d'Espanya ja s'han fet proves i els resultats han estat bons. Tot i així, la comunitat científica creu que encara és necessiten més estudis. A més, la recerca no és limita en l'àmbit sanitari humà, sinó que també hi ha centres d'investigació animal, com el CRESA[12], al igual que centres d'investigació mediambiental, com l'ICRA[13]. Per això, els científics utilitzen el concepte One Health. El concepte One Health defineix la estratègia mundial per ampliar les col·laboracions interdisciplinàries en tots els aspectes de l'atenció sanitària per a humans, animals i el medi ambient. Aquesta idea és molt adequada per aplicar a la recerca de mètodes per fer front a les resistències ja que totes les disciplines de la ciències de la salut s'han d'ajudar entre elles.

A més, en els últims anys, la Unió Europea ha destinat grans quantitats de fons dels pressupostos en subvencions d'aquests projectes i organitzacions com la OMS i la Generalitat estan creant campanyes de conscienciació per educar a la població sobre com actuar davant infeccions bacterianes per no induir en la propagació de resistències. Fins i tot, es va establir el 18 de novembre com el Dia Europeu de l'Ús Prudent dels Antibiòtics.

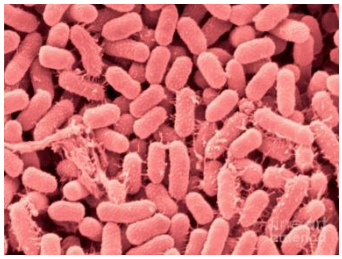
[12] CRESA: Centre de Recerca en Salut Animal.
[13] ICRA: Institut Català d'Investigació de l'Aigua.

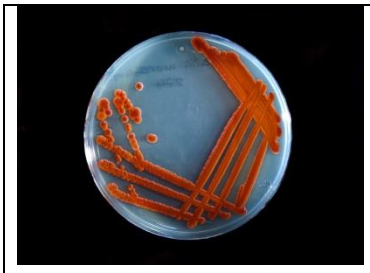
7. Taula de bacteris

En aquesta taula, basada en informació extreta d'articles i llibres de les fonts d'informació, s'exposen dades bàsiques dels bacteris proporcionats pel CESIRE.

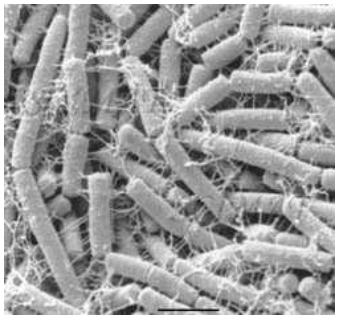
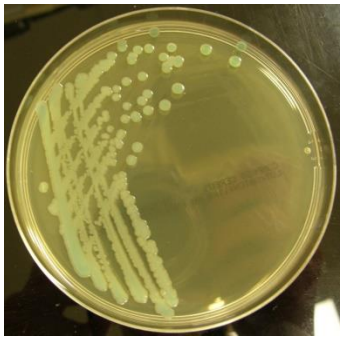
IMATGE	**INFORMACIÓ**
Micrococcus luteus  **Figura 12:** Micrografia de M*icrococcus luteus* obtinguda per SEM[14] © Janice Carr **Figura 13:** Placa de petri amb colònies de *Micrococcus luteus* © ASM MicrobeLibrary.org	**Família:** Miccroccaceae **Morfologia:** coc **Gram:** positiu **Temperatura òptima de creixement:** entre 25°C i 30°C. **Nutrició:** sapròfita[15] **Habitat:** sòl, pols, aigua, aire i pell d'animals mamífers. També viu en la boca, mucoses i tracte respiratori superior de l'home. **Pigmentació:** pigment de color groc **Respiració:** aeròbica **Patogenicitat:** és molt poc patogen però de vegades actua com un bacteri oportunista. Pot provocar infeccions nosocomials en pacients immunodeficients. **Altres dades:** va ser estudiat per Alexander Fleming, qui va descobrir que és molt sensible al lisozim[16]
Pseudomonas fluorescens	**Família:** Pseudomonadaceae

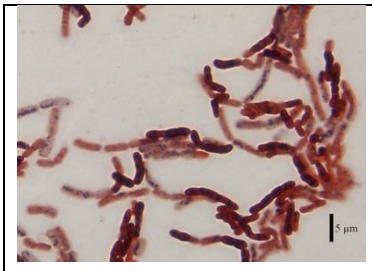
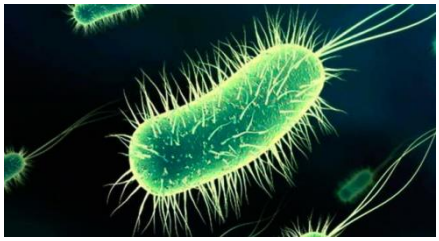
[14] SEM: microscopi electrònic de rastreig.
[15] Nutrició sapròfita: tipus de nutrició en la qual l'organisme obté els nutrients que necessita de matèria animal o vegetal que està morta o en descomposició.
[16] Lisozim: enzim bactericida que impedeix infeccions i que està present en nombroses substàncies segregades pels éssers vius com les llàgrimes, la saliva i la llet.

 Figura 14: Micrografia de *Pseudomonas fluorescents* obtinguda per SEM amb color afegit. © Organic Soil Technology **Figura 15:** Placa de petri amb colònies de *Pseudomonas fluorescents* © ArgoTekno Lab	**Morfologia:** bacil lofòtric **Gram:** negatiu **Temperatura òptima de creixement:** entre 25°C i 30°C **Nutrició:** sapròfita **Habitat:** sòl, plantes i superfície de l'aigua. **Pigmentació:** pigment fluorescent anomenat fluoresceïna que reacciona a la llum ultraviolenta. **Respiració:** aeròbica **Patogenicitat:** no patogen, molt poques vegades infecta éssers humans i actua com a bacteri oportunista **Altres dades:** aquest bacteri és conegut per ser un promotor del creixement vegetal ja que estimula la germinació de les llavors i accelera el creixement a partir de sintetitzar hormones. A més a més, produeix antibiòtics naturals que eviten que les plantes emmalalteixin de fongs i altres bacteris patògens.
Serratia marcesens  **Figura 16:** Micrografia obtinguda per SEM amb color de *Serratia marcesens* © Scimat	**Família:** Enterobacteriaceae **Morfologia:** bacil **Gram:** negatiu **Temperatura òptima de creixement:** 37°C **Nutrició:** sapròfita **Habitat:** prefereix viure en condicions humides però es pot trobar en habitats molt variats: sòl, plantes... **Pigmentació:** color vermell a causa del pigment prodigiosina

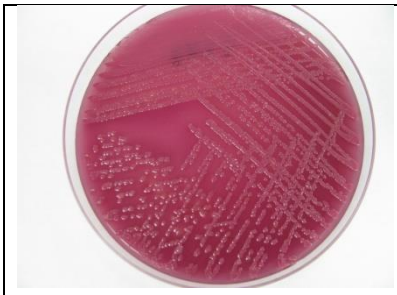
 **Figura 17:** Placa de petri amb colònies de *Serratia marcesens* © Microbitos blog	**Respiració:** anaeròbica facultativa[17] **Patogenicitat:** bacteri oportunista. Sol causar infeccions, sobretot urinàries i nosocomials en pacients amb defenses baixes. **Altres dades:** • Els bacteris del gènere *Serratia* són sovint freqüents resistents a les penicil·lines i les cefalosporines de tercera generació. • Solen provocar brots en els hospitals i unitats de cures intensives.
Staphylococcus epidermis **Figura 18**: Micrografia obtinguda per SEM amb color de *Staphylococcus epidermis* © Daum blog **Figura 19:** Placa de petri amb colònies de *Staphylococcus epidermis* © Microbitos blog	**Família:** Staphylococcaceae **Morfologia:** coc **Gram:** positiu **Temperatura òptima de creixement:** 34°C a 37°C **Nutrició:** sapròfita **Habitat:** superfície de la pell humana i d'animals i membranes mucoses. **Pigmentació:** no pigment **Respiració:** anaeròbica facultativa **Patogenicitat:** és un bacteri molt poc patogen comparat amb *S. aureus.* Però, es sap que crea biopel·lícules que creixen a dispositius que es col·loquen dins el cos (catèters intravenoses, pròtesis mediques, vàlvules...). **Altres dades:**

[17] Organisme anaeròbic facultatiu: tipus d'organisme que es pot desenvolupar tant amb presència d'oxigen com en absència d'aquest gas.

	• És l'espècie més freqüent per contaminació en anàlisis clínics. • Té una alta taxa de resistència a la meticil·lina.
Bacillus cereus  **Figura 20**: Micrografia de *Bacillus cereus* obtinguda per SEM © Marisol Moya i Miguel Angel Velasquez  **Figura 21:** Placa de petri amb colònies de *Bacillus cereus* © Santiago Pablo Baggini	**Família:** Bacillaceae **Morfologia:** bacil **Gram:** positiu **Temperatura òptima de creixement:** 30°C a 37°C **Nutrició:** sapròfita **Habitat:** sòl i aliments que ha contaminat **Pigmentació:** ---------- **Respiració:** anaeròbica facultativa **Patogenicitat:** aquest bacteri causa emmetzinament pel consum d'aliments contaminants. Produeix dos tipus de infeccions provocades per tòxics: • Forma diarreica: causa diarrea i dolor abdominal • Forma emètica: causa vòmits i nàusees. **Altres dades:** -------
Bacillus megaterium	**Família:** Bacillaceae **Morfologia:** bacil **Gram:** positiu **Temperatura òptima de creixement:** al voltant dels 30°C **Nutrició:** sapròfita

 **Figura 22:** Cèl·lules de *Bacillus megaterium* tenyides de Sudan negre i safranina © Wikipedia **Figura 23:** Placa de petri amb colònies de *Bacillus megaterium* © Department of Veterinary Disease Biology	**Habitat:** gran varietat de superfícies. Des del sòl, pedres, cuir, excrements de vaca, aliments... **Pigmentació:**---------- **Respiració:** aeròbica **Patogenicitat:** no patogen **Altres dades:** • És un reconegut agent de control de malalties de plantes. • També és un organisme molt important en la indústria ja que produeix penicil·lina amidasa per crear penicil·lina sintètica, diverses amilases[18] per la industria del forn i s'utilitza en la producció de vitamina B12, entre d'altres.
Eschericha Coli  **Figura 24**: Micrografia de Eschericha Coli obtinguda per SEM amb color © Infocistitis	**Família:** Enterobacteriaceae **Morfologia:** bacil **Gram:** negatiu **Temperatura òptima de creixement:** 37°C **Nutrició:** sapròfita **Habitat:** tracte gastrointestinal d'humans i animals de sang calenta **Pigmentació:** no pigment **Respiració:** anaeròbica facultativa **Patogenicitat:** és un dels organismes patògens més rellevants en els éssers humans. Provoca des d'infeccions al sistema digestiu (on es sol trobar) a altres sistemes i aparells (urinari, circulatori, nerviós...). **Altres dades:**

[18] Amilasa: enzim que té com a funció trencar el glicogen i el midó en sucres simples.

 **Figura 25:** Placa de petri amb colònies de Eschericha Coli © El técnico ambiental blog	• És el bacteri anaeròbic facultatiu comensal[19] més abundant de la microbiota • És necessari pel funcionament correcte de l'aparell digestiu.

[19] Comensalisme: és una forma d'interacció biològica en la que un dels organismes obté un benefici, mentre que l'altre no en surt perjudicat ni beneficiat.

8. Pràctica 1

8.1 Objectiu

L'objectiu d'aquesta pràctica consisteix en practicar la prova de l'antibiograma per poder estudiar la sensibilitat i resistència d'una soca bacteriana a un grup d'antibiòtics.

8.2 Tècniques d'investigació

8.2.1 Material

12 ml brou nutritiu, nansa de sembra, 6 mini vasos de precipitats, 2 vasos de precipitats, escalfador elèctric, bacteris *(Microccoccus luteus, Pseudomonas fluorescents, Serratia marcesens, Staphylococcus epidermis, Bacillus cereus, Bacillus megaterium)*, fogonet d'alcohol, comptagotes, 6 plaques de petri amb medi nutritiu, discs d'antibiòtics (amoxicil·lina, estreptomicina, penicil·lina G i levofloxacino), alcohol, permanent, pinces, cambra de gasos, cinta adhesiva, caixa de cartró, llumins.

8.2.2 Protocol

Per poder realitzar aquesta pràctica realitzaré el següent protocol. Primerament, sembraré les noves plaques de petri utilitzant el brou nutritiu. A continuació, col·locaré a cada placa quatre de discs d'antibiòtics diferents. Esperaré una setmana aproximadament, per després valorar els resultats obtinguts i determinar la sensibilitat de les soques bacterianes estudiades.

8.2.3 Tècniques emprades

La principal tècnica emprada en aquesta pràctica és coneguda amb el nom d'antibiograma. Aquesta tècnica microbiològica determina la susceptibilitat d'un bacteri a un grup d'antibiòtics. Avui en dia, és la tècnica més utilitzada en el laboratori clínic per decidir quin antibiòtic és més adequat per tractar al pacient. A més a més, els antibiogrames també es realitzen en l'estudi de la resistència bacteriana ja que mostren quins bacteris són resistents i quins són sensibles.

Els passos bàsics a seguir per dur a terme necessaris un antibiograma són els següents.

1. Aïllar la soca de bacteris responsables de la infecció.
2. En una placa de Petri amb agar es sembren els bacteris. La sembra de bacteris es duu a terme amb un bastonet de cotó estèril o una nansa de sembra que s'impregna amb el medi on han sigut aïllats els bacteris. A continuació, es passa l'utensili utilitzat per la placa de Petri.
3. Tot seguit, es col·loquen discs de paper amb diferents tipus d'antibiòtic sobre la placa de Petri. S'ha de tenir en compte l'espai que es deixa entre els discs. Si quedessin massa junts podria afectar als resultats.
4. Es diposita la placa en una estufa de laboratori i s'incuben aproximadament durant 24 hores a 37°C.
5. Per acabar, es mesura el diàmetre de l'halo sense creixement bacterià que hi ha al voltant de cada disc i es compara amb la taula corresponent de cada antibiòtic sobre la seva capacitat de difusió en el medi.

Per un determinat antibiòtic, segons el CLSI[20], una soca bacteriana és:

- Sensible: si existeix una possibilitat d'èxit terapèutic amb un tractament habitual.
- Resistent: si la possibilitat d'èxit terapèutic és nul·la o molt reduïda. No es pot esperar cap efecte terapèutic sigui quin sigui el tipus de tractament.
- Intermèdia: quan l'èxit terapèutic és imprevisible encara que es pugui aconseguir en certes condicions, per exemple, en concentracions molt elevades.

8.3 Procediment

12 de setembre del 2017

[20] CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): és una organització sense ànim de lucre que promou el desenvolupament i l'ús de normes i pautes segons el consens general de la comunitat científica dintre l'assistència mèdica

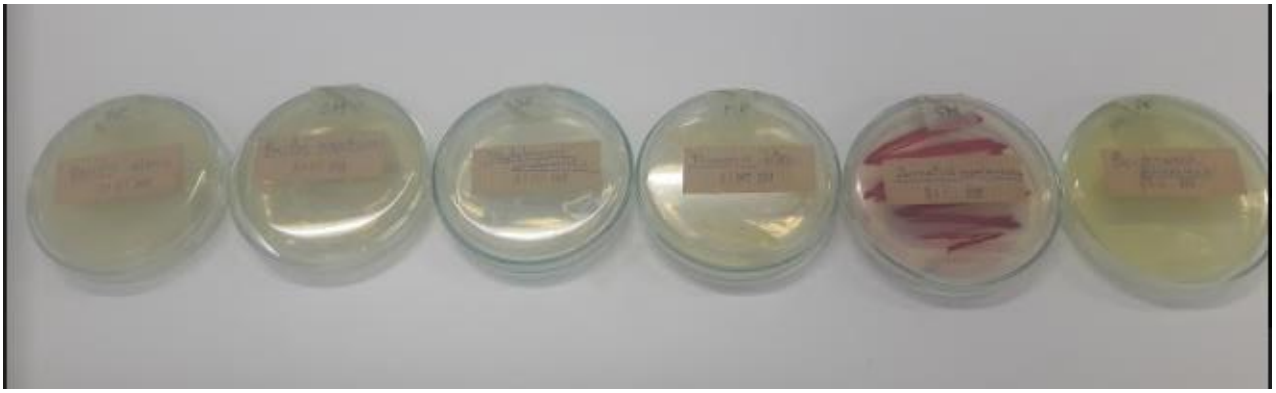


Figura 26: Plaques de petri de vidre del CESIRE. Font pròpia.

L'objectiu principal d'avui és preparar els antibiogrames a partir de les plaques de petri enviades des del CESIRE.

1. Abans de començar, esterilitzo el material que faré servir. Per tant, omplo un vas de precipitats amb aigua i hi poso a dintre el comptagotes, les pinces i els sis mini vasos de precipitats. És important que també hi hagi aigua dintre el comptagotes. Aquest no és un bon mètode per esterilitzar, però com que no disposem de material estèril o olla a pressió és l'única opció.
2. Col·loco el vas de precipitats sobre l'escalfador i deixo que s'escalfi.
3. Un cop l'aigua comença a bullir, apago l'escalfador i deixo que es refredi el material.
4. Dintre la campana de gasos, encenc el fogonet d'alcohol. (Els següents passos sempre es faran dintre la campana).
5. Amb el comptagotes prèviament esterilitzat, preparo els sis mini vasos de precipitats amb 2 ml de medi líquid nutritiu cada un.
6. Esterilitzo la nansa de sembra. Primerament, la submergeixo en un vas de precipitats amb alcohol i després la flamejo al fogonet d'alcohol.
7. Curosament, llisco la nansa per la placa de petri que conté els bacteris on es vegi visiblement una colònia.
8. Submergeixo la nansa en un mini vas de precipitats. Un cop acabat el pas, es aconsellable arraconar el vas de precipitats per no equivocar-se i repetir l'acció.
9. Repeteixo el punt 6,7 i 8 fins haver sembrat cada mini vas de precipitats amb el seu bacteri corresponent.

10. A continuació, aboco el contingut de cada mini vas de precipitats en una placa de petri diferent.
11. Deixo que es refredin uns 30 minuts les plaques perquè es solidifiqui el medi nutritiu líquid.
12. Amb unes pinces prèviament esterilitzades, agafo els dics d'antibiòtic i col·loco un de cada tipus a cada placa de petri.
13. Marco amb un permanent les plaques per no confondre-les i les segello en un extrem amb cinta adhesiva per dificultar que s'obrin.
14. Les poso dintre una caixa de cartró, a prop d'una finestra, ja que no disposem d'una estufa de laboratori.

Abreviació	Nom de l'espècie
ML	*Microccocus luteus*
PF	*Pseudomonas fluorescens*
SM	*Serratia marcesens*
SE	*Staphylococcus epidermis*
BC	*Bacillus cereus*
BM	*Bacillus megaterium*

Taula 3: Abreviacions de les espècies dels bacteris. Font pròpia.

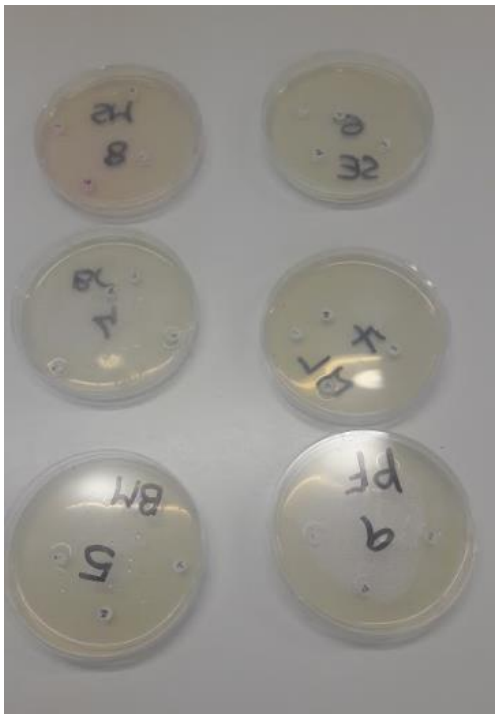


Figura 27: antibiogrames acabats de preparar. Font pròpia.

Per poder veure el seguiment complet de les plaques consultar l'annex

20 de setembre del 2017

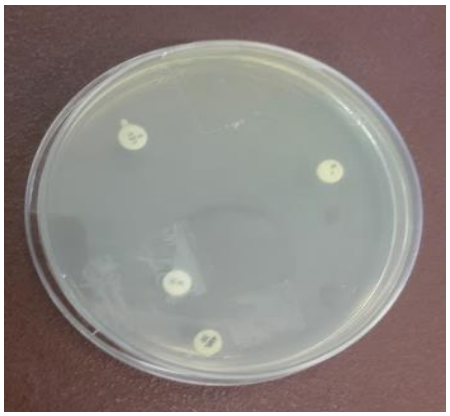


Figura 28: PF al cap de 8 dies. Font pròpia

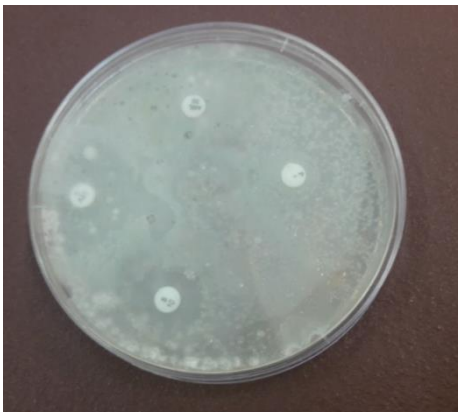


Figura 29: BM al cap de 8 dies. Font pròpia

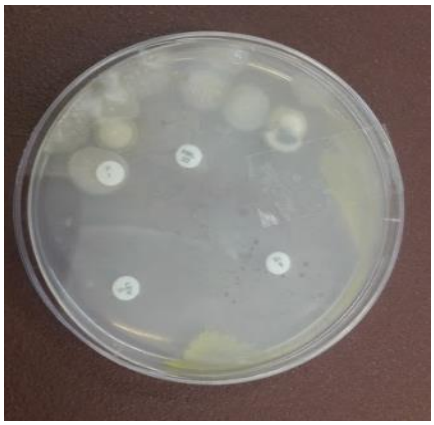


Figura 30: ML al cap de 8 dies. Font pròpia.

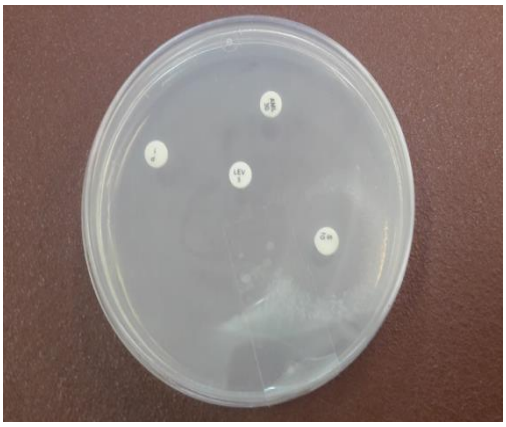


Figura 31: SE al cap de 8 dies. Font pròpia.

Figura 32: SM al cap de 8 dies. Font pròpia.

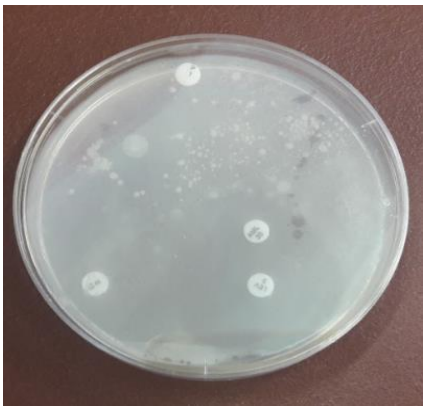


Figura 33: BC al cap de 8 dies. Font pròpia.

8.4 Resultats

	ML	PF	SM	SE	BC	BM
Levofloxacino	X	X+	X+	+X	X+	X+
Penicil·lina G				+X		
Estreptomicina	X	X	X	X	X	X
Amoxicil·lina	X			+X	X	

Taula 4: Sensibilitat dels bacteris als antibiòtics. Font pròpia.

X=sensible, el signe + refereix a que hi ha un halo amb un diàmetre més gros que els altres

8.5 Discussió

Com podem observar en els resultats obtinguts, l'antibiòtic levofloxacino és el més eficaç, tot i que es un antibiòtic d'ampli espectre. Això, es pot deure a que està dintre del grup de les quinolines. Aquest grup es sol utilitzar en infeccions produïdes per bacteris resistents. D'altra banda, l'antibiòtic menys eficient és la Penicil·lina G. Aquest fet és pot deure a que la Penicil·lina G té un espectre molt reduït, només són sensibles alguns bacteris Gramnegatius. A més a més, avui en dia està molt estesa la resistència a aquest antibiòtic. L'únic bacteri al qual ha impedit el creixement és a SE, que és un bacteri Grampositiu. Segurament aquest incident ha sigut causat per la poca equidistància amb la qual estan posats els discs. L'estreptomicina va ser el primer antibiòtic aïllat els quals els bacteris Grampositius eren sensibles però també té efecte bactericida en els Gramnegatius, tal i com podem observar en la taula. Per últim, es pot veure que hi ha hagut alguns bacteris resistents a l'amoxicil·lina, tot i que es considerada un antibiòtic d'ampli espectre, però no tant potent com el levofloxacino.

Les limitacions més grans que he tingut han sigut la manca d'una estufa de laboratori i la poca esterilitat del lloc de treball. El laboratori d'un institut no és l'indret ideal per fer pràctiques de microbiologia. Tot i que sempre hem esterilitzat tot el material que hem fet servir, han crescut fongs a les plaques de petri. El fracàs d'aquesta pràctica és l'antibiograma de SE. El dia després de la sembra vaig agafar la placa sense donant-me compte que hi havia líquid a l'interior. Tot el líquid es va moure i va arruïnar l'antibiograma. Les anotacions de SM de la taula són del primer dia. A causa del fracàs, vam repetir l'antibiograma de SM, però a la segona vegada com que no teníem una estufa vam provar-ho amb una iogurtera. La temperatura

que proporciona la iogurtera és lleugerament més alta que una estufa, en comptes de 37 °C ronda al voltant dels 42°C, i no és regulable. Quan vam tornar el dia següent de la sembra per mirar si havien crescut colònies ens vam trobar que el medi nutritiu s'havia desplaçat cap els extrems. Per culpa d'aquest fet, no es pot acabar d'apreciar bé l'antibiograma.

Figura 34: antibiograma de SM fallit. Font pròpia.

Finalment, si disposes de més temps, tornaria a repetir l'antibiograma de SM sense utilitzar la iogurtera.

9.Pràctica 2

9.1 Objectiu

L'objectiu principal d'aquesta pràctica consisteix en buscar bacteris resistents en el nostre entorn. Per això, agafarem tres mostres de tres llocs diferents relacionats amb el concepte One Health (humà, animal i medi ambient). Per tant, les mostres seran del riu Onyar, la llet fresca d'una vaca que havia estat amb un tractament d'antibiòtics feia poc i de la meva saliva.

9.2 Tècniques d'investigació

9.2.1 Material

6 plaques de petri, llet de vaca fresca, bastonets de cotó, comptagotes de vidre, aigua de riu, cinta adhesiva, fogonet d'alcohol, llumins, tub estèril, permanent, escalfador, campana de gasos, vas de precipitats, caixa de cartró, pots estèrils, aigua destil·lada, nansa de sembra, portaobjectes, cristal·litzador, pinça de fusta, plaques de petri buides, nansa de sembra, violeta de metil, lugol, alcohol, safranina, pipeta Pasteur, microscopi òptic, vas de precipitats, iogurtera.

9.2.2 Protocol

Per poder realitzar aquesta pràctica realitzaré el següent protocol. Primerament, aniré a buscar les mostres i sembraré les plaques de petri. Esperaré una setmana i faré la tinció de Gram a algunes colònies de bacteris que hagin crescut. Gràcies a la tinció podré saber si són Gramnegatius o Grampositius i un cop fet l'antibiograma extreure les conclusions.

9.2.3 Tècniques emprades

La tècnica de la tinció de Gram fa ser desenvolupada pel bacteriòleg danès Christian Gram el 1884. Aquesta tècnica permet distingir entre els bacteris Grampositius i Gramnegatius. Els bacteris Grampositius queden tenyits de violeta i els Gramnegatius de rosa. Aquest fet passa perquè les parets dels bacteris Grampositius són riques en àcids teïcoics però no tenen fosfolípids, aquesta

característica fa que el violeta de genciana quedi impregnant i que es mantingui intacte gràcies a que el lugol crea una capa impermeable que no deixa que l'alcohol decolori el tint. D'altra banda, les parets dels bacteris Gramnegatius tenen una composició diferent, són decolorats per l'alcohol i les seves parets només queden tenyits per la safranina. En aquesta pràctica em fet servir dos variants diferents de la tinció de Gram.

L'altra tècnica emprada és l'antibiograma. L'antibiograma és una tècnica microbiològica que determina la susceptibilitat d'un bacteri a un grup d'antibiòtics. Avui en dia, és la tècnica més utilitzada en el laboratori clínic per decidir quin antibiòtic és més adequat per tractar al pacient. A més a més, els antibiogrames també es realitzen en l'estudi de la resistència bacteriana ja que mostren quins bacteris són resistents i quins són sensibles.

En aquesta pràctica també s'ha emprat la prova de l'antibiograma que ja ha sigut prèviament explicada en el subapartat "6.3 Tècniques emprades" de la pràctica 1.

9.3 Procediment

12 de setembre del 2017

L'objectiu del dia es sembrar tres plaques de petri amb les tres mostres que hem aconseguit.

Prèviament, abans de començar amb la sembra, esterilitzo els comptagotes. Per l'esterilització segueixo els passos següents:

1. Col·loco el material que es necessiti esterilitzar dintre un vas de precipitats.
2. Afegeixo aigua dintre el vas. És important que en els comptagotes també hi hagi dintre aigua.
3. Col·loco el vas de precipitats sobre l'escalfador i el deixo que bulli.

La placa 1, abreviada 1, correspondrà a la placa sembrada amb la meva saliva. Per preparar la placa utilitzo els següents passos:

4. Amb un bastonet de cotó agafo mostres de saliva a la meva boca.

5. Pressiono suaument el bastonet sobre el medi de la placa de petri i el moc fent zig-zag cobrint tota la superfície.
6. Tanco la placa, la marco amb un permanent i la segello en un extrem amb cinta adhesiva perquè sigui més difícil que s'obri.

La placa 2, abreviada 2, correspondrà a la placa sembrada amb la llet de vaca fresca.

7. Amb un comptagotes, prèviament esterilitzat, agafo 2,5 ml de llet i l'evoco sobre la placa de petri.
8. Tanco la placa, la marco amb un permanent i la segello en un extrem amb cinta adhesiva perquè sigui més difícil que s'obri.

La placa 3, abreviada 3, correspondrà a la placa sembrada amb aigua del riu Onyar.

9. Com que el pot amb el qual vam recollir la mostra és molt més petit que el de la llet simplement aboquem acuradament el líquid.

El resultat final de la pràctica d'avui:

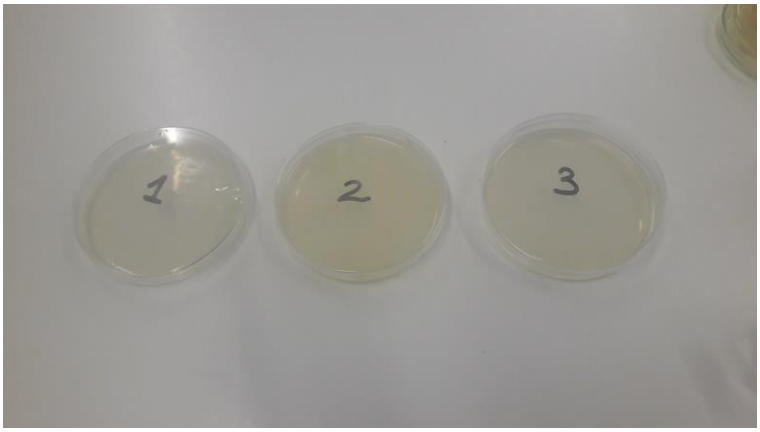


Figura 35: Plaques acabades de sembrar. Font pròpia

Un cop acabat l'objectiu guardem les tres plaques dintre una caixa de cartró a prop d'una finestra per manca d'una estufa de cultiu.

Per poder veure el seguiment complet de les plaques consultar l'annex

18 de setembre de 2017

Figura 36: 1 al cap de 6 dies. **Figura 37:** 2 al cap de 6 dies. **Figura 38:** 3 al cap de 6 dies.

Totes tres són de font pròpia.

Un cop passada una setmana podem observar com en a les plaques 2 i 3 han crescut colònies bacterianes, però en la placa 1 simplement han crescut fongs. Per tant, faré la tinció de gram de només dues plaques tot i que prepararé dos portaobjectes per la placa 3 ja que es poden distingir colònies bacterianes diferents. Els distingiré pels noms de 3C (la colònia amb el color més claret) i 3F (la colònia amb el color més fosc).

El procediment de la tinció de gram utilitzada és:

1. Encenc el fogonet d'alcohol i preparo els portaobjectes sobre les plaques de petri buides i els hi tiro una gota d'aigua destil·lada amb una pipeta.
2. Esterilitzo la nansa de sembra. Primerament, la submergeixo en un vas de precipitats amb alcohol i després la flamejo al fogonet d'alcohol.
3. Curosament, llisco la nansa per la placa de petri que conté els bacteris on es vegi visiblement una colònia.
4. Frego la nansa de sembra sobre la gota d'aigua destil·lada.
5. Repeteixo els punts 2,3,4 fins haver preparat tots els portaobjectes.
6. Tenyeixo l'espècimen amb el primer colorant, violeta de metil o de genciana, que com indica el seu nom, tenyeix de violeta.
7. Espero un minut i seguidament netejo la placa amb aigua destil·lada. Agafo el portaobjectes amb pinces de fusta. Deixo que l'aigua tenyida caigui sobre el cristal·litzador.
8. Afegeixo el mordent[21], lugol. Espero un minut.

[21] Mordent: Substància que, fixada a un teixit, a una pell, permet la fixació del colorant que s'hi aplica.

9. Aplico l'agent decolorant, una solució etanol. En aquest moment, els bacteris Gramnegatius perden la tinció violeta i els Grampositius reten el colorant.
10. Espero un minut i seguidament netejo la placa amb aigua destil·lada. Deixo que l'aigua tenyida caigui sobre el cristal·litzador.
11. Com a colorant de contrast afegeixo safranina, que tenyeix de color rosa els bacteris Gramnegatius que prèviament havien estat decolorats, mentre que intensifica el color violeta en els bacteris Grampositius. Espero un minut.
12. Rento el portaobjectes per última vegada.

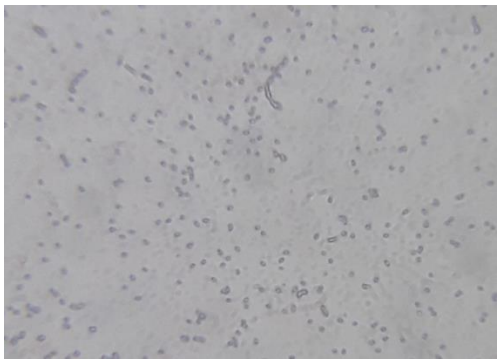
La pràctica no va obtenir uns resultats gaire bons. No s'observava res pel microscopi i durant el procediment vam trencar un portaobjectes. Per tant, vaig decidir tornar a repetir la tinció amb unes instruccions diferents.

<u>21 de setembre del 2017</u>

L'objectiu d'avui es tronar a repetir la tinció de gram amb uns passos diferents.

1. Poso en un portaobjectes ben net una gota de dissolució bacteriana i l'estenc.
2. Deixo que s'assequi a l'aire i, després, fixo la preparació escalfant-la suaument a la flama del fogonet d'alcohol.
3. Tiro sobre la preparació una gota de violeta de genciana i espero un minut.
4. Rento la preparació amb aigua destil·lada. Deixo que l'aigua caigui dintre els cristal·litzador.
5. Tiro una gota de lugol i espero un minut.
6. Rento la preparació amb etanol primer, i seguidament amb abundant aigua destil·lada.
7. Tiro una gota de safranina i espero un minut i mig.
8. Rento la preparació amb aigua corrent.
9. L'asseco amb el paper de filtre, suaument i sense fregar.

A diferència de l'altre tinció, en aquesta si he obtingut alguns resultats



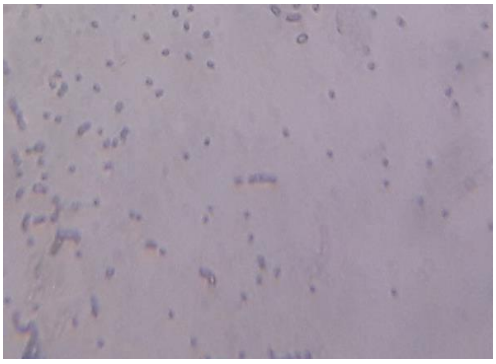


Figura 39: Tinció de gram lilosa de 3C. Font pròpia.

Figura 40: tinció de gram rosa de 2. Font pròpia

La qualitat de les fotografies no és gaire bona i no es pot observar gaire bé la diferencia de colors.

22 de setembre del 2017

L'objectiu d'avui és fer l'antibiograma de les colònies bacterianes que han crescut a les plaques de petri i hem fet la tinció de gram:

1. Abans de començar, esterilitzo el material que faré servir. Per tant, omplo un vas de precipitats amb aigua i hi poso a dintre el comptagotes, les pinces i els tres mini vasos de precipitats. És important que també hi hagi aigua dintre el comptagotes.
2. Col·loco el vas de precipitats sobre l'escalfador i deixo que s'escalfi.
3. Un cop l'aigua comença a bullir, apago l'escalfador i deixo que es refredi el material.
4. Dintre la campana de gasos, encenc el fogonet d'alcohol. (Els següents passos sempre es faran dintre la campana).
5. Amb el comptagotes prèviament esterilitzat, preparo els tres mini vasos de precipitats amb 1,5 ml de medi líquid nutritiu cada un. (A la pràctica 1 vam tenir problemes amb l'excés de medi per tant hem rebaixat 0,5ml).
6. Esterilitzo la nansa de sembra. Primerament, la submergeixo en un vas de precipitats amb alcohol i després la flamejo al fogonet d'alcohol.
7. Curosament, llisco la nansa per la placa de petri que conté els bacteris on es vegi visiblement una colònia.
8. Submergeixo la nansa en un mini vas de precipitats. Un cop acabat el pas, es aconsellable arraconar el vas de precipitats per no equivocar-se i repetir l'acció.

9. Repeteixo el punt 6,7 i 8 fins haver sembrat cada mini vas de precipitats amb el seu bacteri corresponent.
10. A continuació, aboco el contingut de cada mini vas de precipitats en una placa de petri diferent.
11. Deixo que es refredin uns 30 minuts les plaques perquè es solidifiqui el medi nutritiu líquid.
12. Amb unes pinces prèviament esterilitzades, agafo els dics d'antibiòtic i col·loco un de cada tipus a cada placa de petri.
13. Marco amb un permanent les plaques per no confondre-les i les segello en un extrem amb cinta adhesiva per dificultar que s'obrin.
14. Les poso dintre de la iogurtera.

25 de setembre del 2017

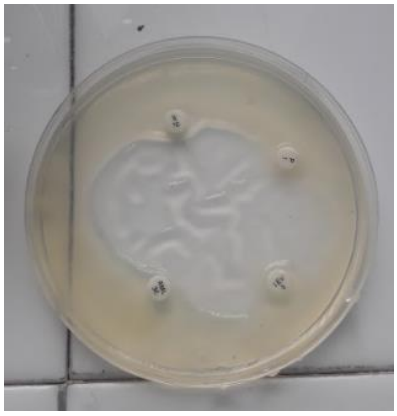


Figura 41: antibiograma 2. **Figura 42**: antibiograma 3F **Figura 43:** antibiograma 3C

Totes les fotos són de font pròpia.

9.4 Resultats

	Placa 2	Placa 3F	Placa 3C
Amoxicil·lina			
Levofloxacino		X	X
Estreptomicina			X
Penicil·lina G			

Taula 5: sensibilitat dels bacteris. Font pròpia.

9.5 Discussió

Com podem veure a les figures 27, 28 i 29 falta medi nutritiu al centre de la placa. El més probable és que la temperatura dintre la iogurtera fos massa alta. Vam voler utilitzar la iogurtera per substituir l'estufa de laboratori, però com podem observar, no

va anar gaire bé. Per tant, els resultats obtinguts en aquesta pràctica no són gaire precisos. A la placa 2 no trobem cap halo d'inhibició. Segons la tinció de gram aquests bacteris haurien de ser Gramnegatius, per tant, aquesta colònia hauria de ser sensible als quatre antibiòtics. Aquests bacteris procedeixen de la llet d'una vaca que havia estat en contacte amb antibiòtics feia poc. El veterinari li havia receptat CEFAMAX, una pomada a base de cefapirina, un antibiòtic de la família de les cefalosporines. Aquest antibiòtic és d'ampli espectre i actua tant a cocs Grampositius com a bacteris Gramnegatius com *Eschericha Coli* i *Bacteroides spp*. Per tant, és possible que durant el tractament s'hagués creat una resistència o que la vaca ja la tingués en la seva microbiota. En l'antibiograma 3C podem apreciar que als voltants dels discs d'estreptomicina i levofloxacino no hi ha tanta concentració de bacteris. Aquest resultat ens concorda amb la tinció de gram realitzada ja que vam poder observar que els bacteris eren Grampositius i la Penicil·lina G no actua sobre aquest tipus de bacteris i l'estreptomicina si. L'últim antibiograma podem veure un gran halo en el Levofloxacino. La tinció d'aquesta colònia no va ser gaire bona i no vam poder apreciar bé el color. Per tant, no sabem si és Grampositiu o Gramnegatiu. El que és molt estrany és que a la placa 1 no hi cresqués cap colònia ja que dintre la cavitat bucal habiten moltes espècies diferents de bacteris.

Deixant a part la manca d'esterilitat, la gran limitació d'aquesta pràctica han sigut els augments dels microscopis. No vaig ser capaç de poder enfocar a 1000 augments, les lents estaven en males condicions. Per tant, crec que hauríem pogut observar millor les tincions si haguéssim pogut observar-les a 100 augments. D'altra banda, la utilització de la iogurtera com a estufa de laboratori ha sigut un desastre. Havíem obtingut millors resultats deixant créixer els bacteris a temperatura ambient dintre la caixa.

Si disposés de més temps tornaria a repetir els antibiogrames sense utilitzar l'estufa i si pogués aconseguir un altre microscopi amb el qual pogués enfocar a 1000 augments tornaria a repetir les tincions. A més, utilitzaria l'oli d'immersió, així podria obtenir uns resultats més acurats.

10. Pràctica 3

10.1 Objectiu

L'objectiu d'aquesta pràctica consisteix en demostrar o no la hipòtesi que defensa que una colònia de bacteris en contacte amb antibiòtics té més possibilitats de propagar mecanismes de resistència.

10.2 Tècniques d'investigació

10.2.1 Material

fogonet d'alcohol, *Escherica coli*, nansa de sembra, amoxicil·lina, discs d'antibiòtics, pot estèril, 2 comptagotes, plaques de petri, escalfador, comptagotes, campana de gasos, proveta, cinta adhesiva, cerilles, permanent, vas de precipitats, embut, medi líquid nutritiu, aigua destil·lada, portaobjectes, cristal·litzador, pinça de fusta, plaques de petri buides, nansa de sembra, violeta de metil, lugol, alcohol, safranina, comptagotes de plàstic, microscopi òptic, vas de precipitat.

10.2.2 Protocol

Per poder realitzar aquesta pràctica es realitzarà el següent protocol. Primerament, prepararé 3 plaques de petri amb diferents concentracions de amoxicil·lina. A continuació, sembraré cada placa amb el bacteri *Eschericha Coli*. Deixaré que creixin les colònies bacterianes durant una setmana. Un cop s'observin a ull nu, prepararé 3 plaques de petri més, sembrades amb les colònies resultants al primer experiment i col·locaré els discs d'amoxicil·lina. També prepararé una quarta placa per comparar els resultats dels antibiogrames amb bacteris que han tingut contacte amb amoxicil·lina i d'altres que no. Esperaré un altre cop que creixin i valoraré els resultats obtinguts.

10.2.3 Tècniques emprades

Les dues tècniques emprades en aquesta pràctica són l'antibiograma i la tinció de gram. L'antibiograma va ser explicat en la pràctica 1 i la tinció de gram en la pràctica 2 en els seus apartats corresponents de tècniques emprades.

10.3 Procediment

13 de setembre

L'objectiu principal d'avui és preparar tres plaques de petri amb concentracions diferents d'amoxicil·lina i després sembrar-les amb *Eschericha coli*. Abans de començar la pràctica, determinem la concentració d'amoxicil·lina de cada placa. Després de llegir el prospecte, decidim que a la placa +++ hi afegirem 2,5 ml d'antibiòtic, una quarta part de la dosis que prendria una persona adulta. A la placa ++ hi afegim 2,5 ml d'una dissolució preparada a partir de 2,5 ml d'antibiòtic i 2,5 ml d'aigua. Finalment, la placa + hi afegim 2,5 ml d'una dissolució preparada a partir de 2,5 ml d'antibiòtic i 12,5 d'aigua.

Els passos a seguir són:

1. Abans de començar, esterilitzo el material que faré servir. Per tant, omplo un vas de precipitats amb aigua i hi poso a dintre els comptagotes, la proveta i l'embut. És important que també hi hagi aigua dintre el comptagotes.
2. Encenc un fogonet d'alcohol i el poso dintre la campana de gasos. Totes les accions següents tindran lloc dintre de la campana de gasos.
3. Preparo l'antibiòtic seguint les instruccions del prospecte. Afegeixo amb l'embut una mica d'aigua destil·lada i xarboto. Seguidament, el torno a omplir fins arribar a les fletxes marcades i el torno a xarbotar.
4. Amb un comptagotes agafo 2,5 ml de l'ampolla de l'antibiòtic i els tiro sobre una placa. Aquesta placa serà la +++.
5. Torno a agafar 2,5ml d'antibiòtic i els tiro en una proveta.
6. Afegeixo 2,5 ml d'aigua a la proveta. Agito.
7. Amb el comptagotes agafo 2,5 ml de la dissolució preparada i els tiro en una placa. Aquesta placa serà la placa ++.
8. Torno a agafar 2,5ml d'antibiòtic i els tiro dintre la proveta.
9. Afegeixo 12,5 ml d'aigua destil·lada a la proveta. Xarboto.
10. Agafo amb el comptagotes 2,5 ml de la dissolució preparada i els tiro en una placa. Aquesta placa serà la placa ++.
11. Poso 8ml de medi líquid nutritiu en un pot estèril.
12. Esterilitzo la nansa de sembra. Primerament, la submergeixo en un vas de precipitats amb alcohol i després la flamejo al fogonet d'alcohol.

13. Curosament, llisco la nansa per la placa de petri que conté *Eschericha Coli* on es vegi visiblement una colònia.
14. Submergeixo la nansa en el pot estèril.
15. Poso aproximadament 2ml de líquid de nutritiu amb *Eschericha Coli* a les tres plaques.
16. Marco amb un permanent les plaques per no confondre-les i les segello en un extrem amb cinta adhesiva per dificultar que s'obrin.
17. Les poso dintre una caixa de cartró, a prop d'una finestra, per manca d'estufa de cultiu.

Per poder veure el seguiment complet de les plaques consultar l'annex

<u>18 de setembre</u>

Figura 44: +++ al cap de 5 dies **Figura 45:** ++ al cap de 5 dies **Figura 46:** + al cap de 5 dies

Totes les figures són de font pròpia

Com podem veure a les imatges a les plaques +++ i ++ nomes s'aprecien fongs. D'altra banda, a la placa + podem observar uns puntets groguencs que a ull nu no es pot diferenciar bé si es tracta d'un fong o una colònia bacteriana. Per tant, decidim fer una tinció de Gram.

Els passos a seguir són:

1. Encenc el fogonet d'alcohol i preparo els portaobjectes sobre les plaques de petri buides i els hi tiro una gota d'aigua destil·lada amb una pipeta.
2. Esterilitzo la nansa de sembra. Primerament, la submergeixo en un vas de precipitats amb alcohol i després la flamejo al fogonet d'alcohol.
3. Curosament, llisco la nansa per la placa de petri que conté els bacteris on es vegi visiblement una colònia.

4. Frego la nansa de sembra sobre la gota d'aigua destil·lada.
5. Repeteixo els punts 2,3,4 fins haver preparat tots els portaobjectes.
6. Tenyeixo l'espècimen amb el primer colorant, violeta de metil o de genciana, que com indica el seu nom, tenyeix de violeta.
7. Espero un minut i seguidament netejo la placa amb aigua destil·lada. Agafo el portaobjectes amb pinces de fusta. Deixo que l'aigua tenyida caigui sobre el cristal·litzador.
8. Afegeixo el mordent[22], lugol. Espero un minut.
9. Aplico l'agent decolorant, una solució etanol. En aquest moment, els bacteris Gramnegatius perden la tinció violeta i els Grampositius reten el colorant.
10. Espero un minut i seguidament netejo la placa amb aigua destil·lada. Deixo que l'aigua tenyida caigui sobre el cristal·litzador.
11. Com a colorant de contrast afegeixo safranina, que tenyeix de color rosa els bacteris Gramnegatius que prèviament havien estat decolorats, mentre que intensifica el color violeta en els bacteris Grampositius. Espero un minut.
12. Rento el portaobjectes per última vegada.

La pràctica no va obtenir uns resultats gaire bons. No s'observava res pel microscopi i durant el procediment vam trencar un portaobjectes. Per tant, vaig decidir tornar a repetir la tinció amb unes instruccions diferents.

<u>21 de setembre</u>

Com a conseqüència del poc èxit que vam obtenir en la primera tinció de gram, la tornem a repetir però seguint unes instruccions diferents.

L'objectiu d'avui es tronar a repetir la tinció de gram amb diferents passos.

1. Poso en un portaobjectes ben net una gota de dissolució bacteriana i l'estenc.
2. Deixo que s'assequi a l'aire i, després, fixo la preparació escalfant-la suaument a la flama del fogonet d'alcohol.
3. Tiro sobre la preparació una gota de violeta de genciana i espero un minut.
4. Rento la preparació amb aigua destil·lada. Deixo que l'aigua caigui dintre els cristal·litzador.
5. Tiro una gota de lugol i espero un minut.

[22] <u>Mordent:</u> Substància que, fixada a un teixit, a una pell, permet la fixació del colorant que s'hi aplica.

6. Rento la preparació amb etanol primer, i seguidament amb abundant aigua destil·lada.
7. Tiro una gota de safranina i espero un minut i mig.
8. Rento la preparació amb aigua corrent.
9. L'asseco amb el paper de filtre, suaument i sense fregar.

10.4 Resultats

Després d'observar la mostra un cop realitzada pel microscopi no vam observar cap cèl·lula eucariota, per tant, no podia ser un fong. Tot i així, la tinció va mostrar un color tirant a lilós, encara que era molt difícil de diferenciar.

10.5 Discussió

A partir d'aquest moment ja no podem continuar la pràctica. El color obtingut en la tinció no era l'esperat ja que Eschericha Coli és un bacteri Gramnegatiu, per tant, hauria d'haver quedat tenyit de color rosa. És possible que aquest resultat sigui degut a una contaminació durant la sembra. Tot i així, en aquesta pràctica hem pogut observar que els fongs no són sensibles a l'amoxicil·lina, ja es sap que els antibiòtics només s'utilitzen per tractar infeccions bacterianes.

Deixant a part la manca d'esterilitat, la gran limitació d'aquesta pràctica han sigut els augments dels microscopis, al igual que a la pràctica 2. No vaig ser capaç de poder enfocar a 1000 augments, les lents estaven en males condicions. Potser, si hagués pogut enfocar en els 1000 augments podria haver aconseguit veure millor el color de la tinció ja que era molt pobre i costava de diferenciar.

Si disposes de més temps repetiria tota la pràctica des de l'inici. Escolliria unes concentracions més baixes d'antibiòtic i esperaria els nous resultats.

11. Conclusions

Un cop finalitzada la recerca del meu treball teòric i pràctic, puc finalment concloure que:

- En les colònies bacterianes poden fer-se presents tan ràpidament els mecanismes de resitència bacteriana per la veloç reproducció per biparticó dels procariotes, les mutacions, però, per sobre de tot, pels fènomens de parasexualitat bacteriana.
- El descobriment dels antibiòtics va ser un gran pas per a la humanitat ja que van proporcionar tractament a moltes infeccions que abans eren mortals, per exemple, la pneumònia. A més a més, avui en dia podem realitzar cirugies i tractaments com la quimioteràpia gràcies aquests fàrmacs.
- Les grans families d'antibiòtics són els β-lactams (penicil·lines, cefalosporines, carbapenems...) que inhibeixen la síntesis de la paret bacteriana, els macròlids i els aminoglucosídics que inhibeixen la producció de proteïnes i , per últim, les quinolones i tertraciclines que interfereixen en la síntesi d'àcids nucleics. Tot i així, hi ha molts altres grups menys nombrosos, com les sulfamides, que interfereixen en la producció de l'àcid fòlic.
- La resistència bacteriana és un procés evolutiu amb un origen natural. Però, per culpa del mal ús de substàncies antimicrobianes per part de l'home aquest procès s'ha descontrolat i s'ha perdut l'equilibri. Els principals mètodes de resistència són la modificació de la diana on actua l'antibiòtic, la inhibició de l'antibiòtic gràcies a enzims produits pel bacteri i la disminució de la concentració d'antibiòtic dintre la cèl·lula.
- Les principals accions humanes que han ajudat a la propagació de les restències es basen principalment en la manca de coneixement sobre d'aquest problema, són l'automedicació de la població, el mal ús dels antibiòtics en el sistema sanitari i la sobremedicació en la ramaderia.
- Avui en dia, s'han proposat diverses solucions prometedores per erradicar aquest problema. Des d'ingenioses teràpies com la utilització de virus bacteriòfags i la prescripció combinada d'un antibiòtic juntament amb una altra susbstànica inhibidora de l'enzim que ha de destruir el fàrmac a campanyes per a la consciencació social. A més, molts d'aquests estudis i campanyes s'estan fent a Catalunya, per exemple, a l'Hospital de la Vall d'Hebron.

- Gràcies a les pràctiques que he realitzat he pogut aprendre les proves i tècniques més importants en l'estudi de la microbiologia com la sembra de colònies bacterianes, la tinció de gram i l'antibiograma.
- Amb la pràctica 2, volia demostrar que es poden trobar bacteris resistents però els resultats es van veure alterats, per tant, encara que l'antibiograma dels bacteris de la llet no mostres cap halo d'inhibició, no puc assegurar que aquells bacteris fossin realments resistents.
- Tot i que amb la pràctica 3 no hem obtingut els resultats que esperavem, no ha crescut cap colònia bacteriana resitent a l'amoxicil·lina he llegit molts articles i llibres de metges i científics on defensen aquesta idea. Fins i tot, en la meva visita a l'Hospital de la Vall d'Hebron em van remarcar aquesta idea.

12.Fonts d'informació

Llibres

ARIAS, M; et al. *Biologia 2*. Barcelona: Castellnou Edicions, 2009.

DE MANUEL, J; et al. *Biologia 1: ciències de la naturalesa i de la salut*. Barcelona: Teide, 2005.

INGRAHAM, J.; INGRAHAM, C. *Introducción a la microbiologia*. Vol.1. Barcelona: Editorial Reverté, 1998.

INGRAHAM, J.; INGRHAM, C. *Introducción a la microbiologia*. Vol.2. Barcelona: Editorial Reverté, 1998.

OTEO, J. *La resistència a los antibióticos: la amenaza de las superbacterias*. Madrid: Los libros de la Catarata, 2016.

Articles

USÓ, J; GIL M; GOMILAB B; TIRADOB MA. "Endocarditis por Micrococcus luteus". Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2003, Vol. 21 núm.2, p. 117.

LILIANA, S; PATIÑO, NM; RODRÍGUEZ, L; ALARCON, T; ATIBOL, M. "Infección por Serratia Marcesens: Caso Clínico". *Revista de Posgrado de la Via Cátedra de Medicina*, 2005, núm. 147, p. 16-17.

OTTO, M. "Staphyloccocus epidermis: the accidental pathogen". *Nature Reviews Microbiology*, 2009, núm. 7, p. 555-567

LIZARBE, MA. "Bacterias y virus ¿cómo nos defendemos?". *Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 2009, Vol. 103, núm.1, p.115-172.

V, SEIJIA; R, VIGNOLI. "Principales grupos de antibióticos". *Temas de Bacteriología y Viriología Médica*, 2006, cap. 34, p. 631-647.

V, SEIJIA; R, VIGNOLI. "Principales mecanismos de resistencia antibiòtica". *Temas de Bacteriología y Viriología Médica*, 2007, Vol. 35, p. 649-662.

GARCÍA-REY, C. El papel de la indústria farmacéutica. ¿Por qué no se comercializan nuevos antibióticos?. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2010, vol. 28, p.45-49.

HERNÀEZ, S; LEIVA, J. "Bacterias multirresistentes". *Ventana a otras especialidades,* 2005, vol. 4, núm.4, p. 191.195

PAREDES, F; ROCA JJ. "Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación microbiana". *Offarm*, 2004, vol. 23, núm. 3, p. 116-124.

MARCO,F. "Infección por Staphylococcus aureus resistente a la meticil·lina". *Ventana a otras especialidades*, 2004, vol.3, núm.3, p. 134-137.

LÓPEZ-PUEYO, MJ; BARCENILLA-GAITE, F; AMAYA-VILLAR, R; GRANACHO-MONTERO, J. "Multirresistencia antibiòtica en unidades de críticos". *Medicina Intesiva*, 2011, vol.35, núm. 1, p. 41-53.

Documents en línia

OMS. *Resistencia a los antibióticos* (En línia). Centro de prensa, 2016.

< http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/> (Consulta: 13 d'agost de 2017)

OMS. *Resistencia a los antimicrobianos* (En línia). Centro de prensa, 2016.

< http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/> (Consulta: 13 d'agost de 2017)

OMS. *La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan nuevos antibióticos* (En línia) Centro de prensa, 2017.

< https://mail.google.com/mail/u/0/?tab=wm#inbox/15ebf312930463e0?projector=1> (Consulta: 14 d'agost de 2017)

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. *Data from the ECDC Surveillance Atlas- Antimicrobial resistance* (En línea). (Suècia): European Centre for Disease Prevention and Contol, 2015.
< https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data/data-ecdc> (Consulta: 1 de setembre de 2017)

13.Agraïments

En primer lloc, vull agrair a la meva tutora per la seva orientació constant i l'ajuda tècnica, que han estat essencials pel desenvolupament d'aquest Treball de Recerca.

També estic molt agraïda per la gran col·laboració oferta pel Servei de Microbiologia de l'Hospital de la Vall d'Hebron, en especial els doctors Tomàs Pumarola i Juan José González López.

Per últim, vull donar les gràcies especialment el suport a totes les persones que m'han ajudat i m'han donat suport durant la realització d'aquest treball: a la família i als amics.

14.Valoració personal

Al principi, el desenvolupament del meu treball va ser ràpid, no em vaig trobar amb obstacles. Vaig poder establir contacte amb la Vall d'Hebron força fàcilment i tenia esperances que continuaria així. Malauradament, em van començar a sorgir problemes durant la part pràctica. Tenia diversos plans però tots van fallar menys un. A l'inici, havia de realitzar les pràctiques a la UDG, durant el Jove Campus, però al final no va ser possible ja que estàvem sempre fent tallers i altres activitats i no vam tenir temps per anar als laboratoris de Biologia. La meva segona opció eren les pràctiques d'empresa a l'Hospital Universitari Josep Trueta, però tampoc va ser viable. El Servei de Laboratori ha sigut desplaçat a l'Hospital Santa Caterina de Salt per poder ampliar els altres serveis. Tot i que durant la meva estada a l'empresa no vaig poder fer les pràctiques, vaig conèixer a forces pacients que estaven ingressats per infeccions provocades per bacteris resistents. Per tant, vaig poder comprovar que cada vegada aquest problema s'està estenent més dintre la sanitat. Així que l'últim recurs van ser els laboratoris del meu institut. Però, ja estàvem a mitjans de juliol i ,juntament amb la meva tutora, vam haver de preparar els encàrrecs pel material de les pràctiques a corre cuita ja que la majoria d'empreses tanquen a

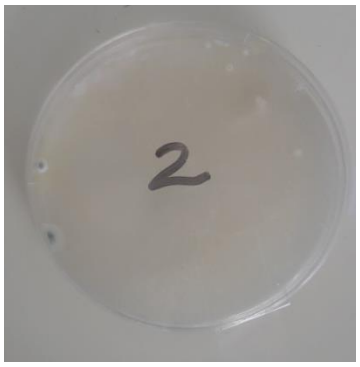
l'agost. Per tant, vam començar les pràctiques al setembre. Vam tenir alguns problemes, sobretot amb missatgeria. A més, no teníem estufa de laboratori i l'ambient de treball era molt poc estèril. Però tot així, en la meva opinió, crec que les pràctiques han sortit prou correctes i estic força satisfeta.

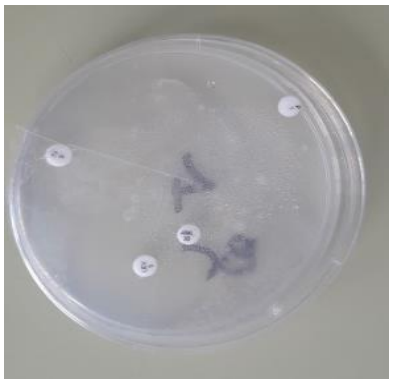
15. Annexos

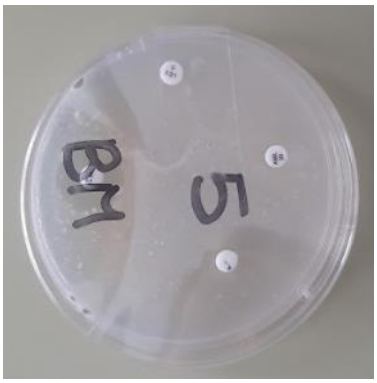
15.2 Seguiment en fotografies

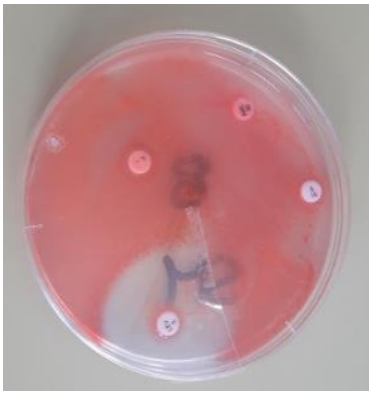
Totes les fotos següents són de font pròpia.

13 de setembre

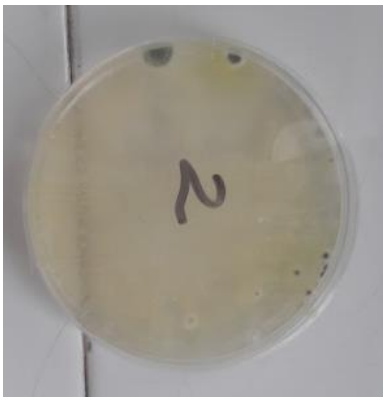


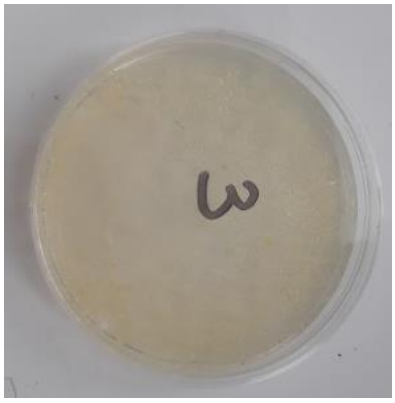


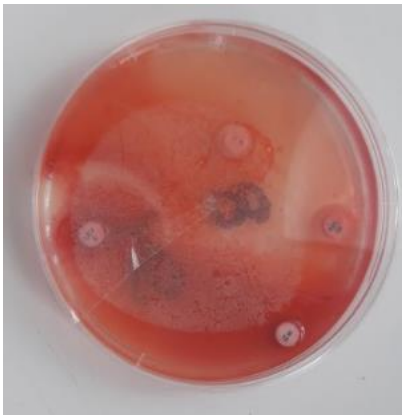


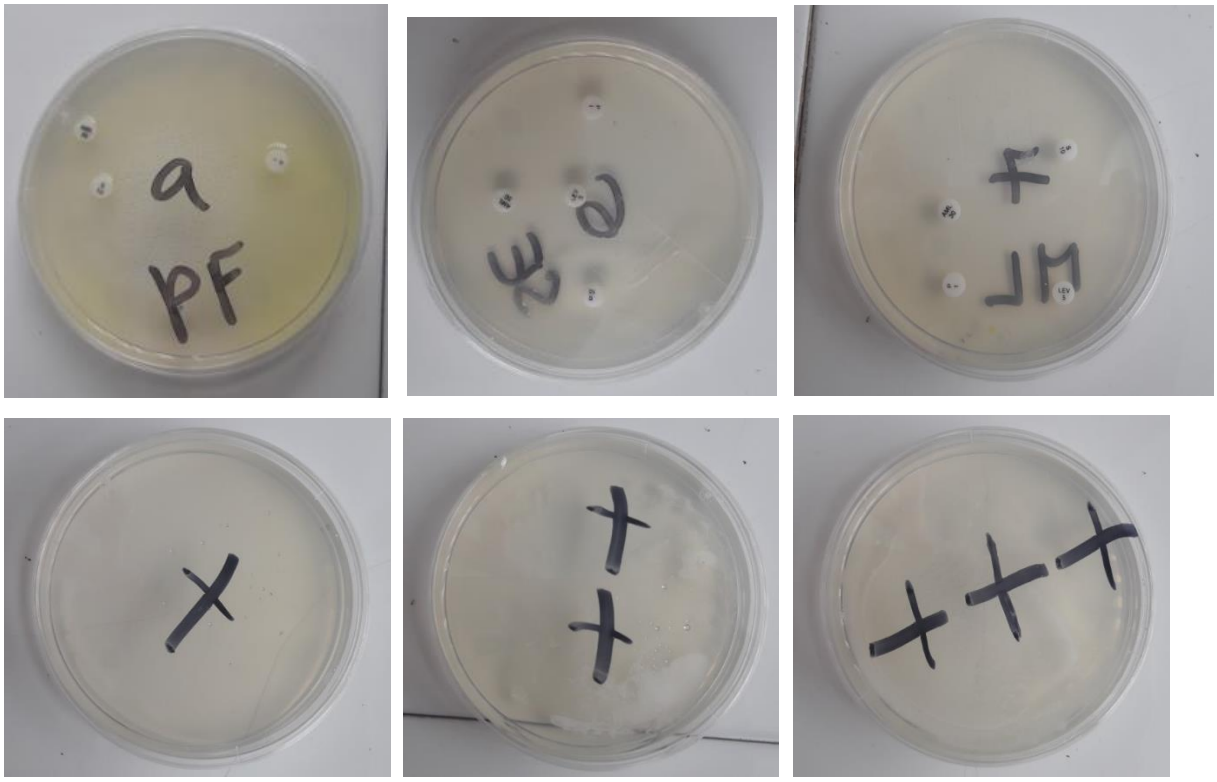


14 de setembre

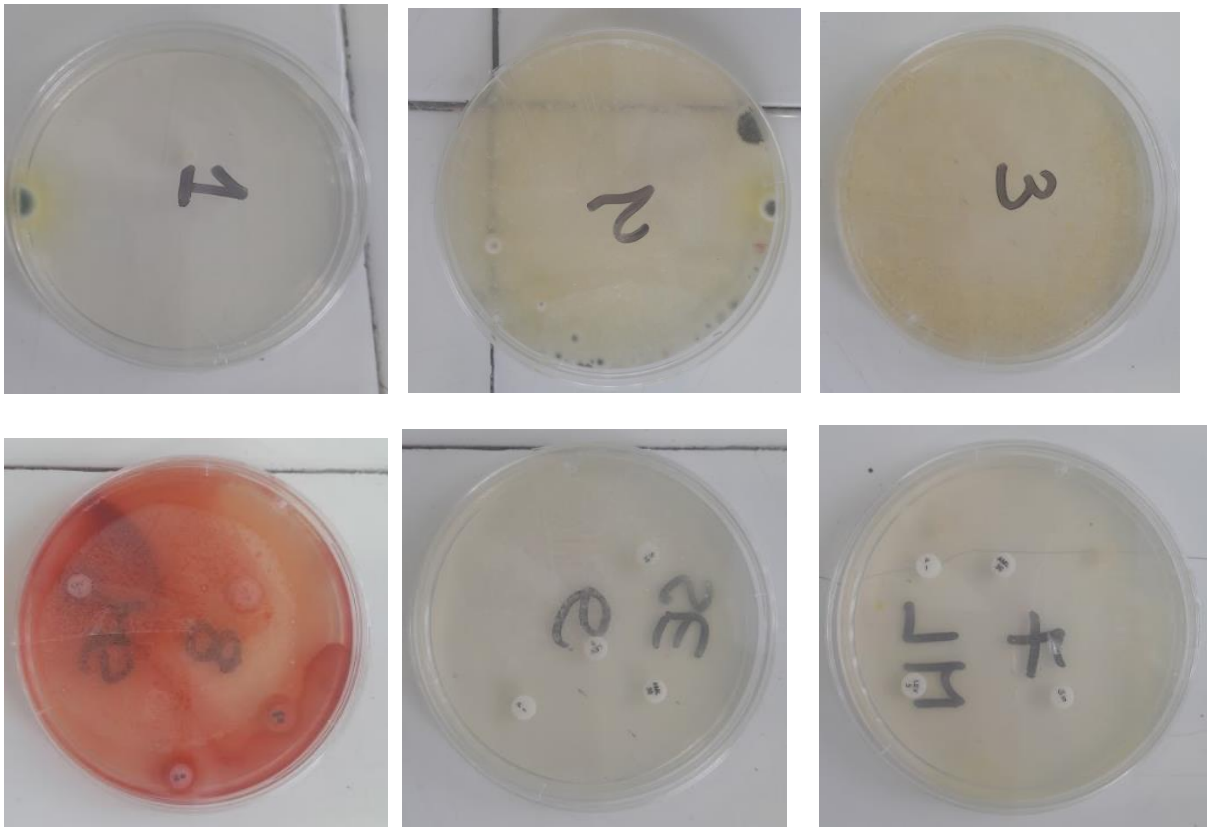








15 de setembre de 2017



15.2 Àudio de la visita a l'Hospital Vall d'Hebron

Àudio de la trobada