



PLANTES DEL TERRITORI CATALÀ PER TRACTAR L'ACNÉ



Boixac de jardí

13/02/2022

Curs 2022-2023

Primer de tot agrair a l'Institut per donar-me l'oportunitat de posar en pràctica la metodologia que la majoria d'alumnes han d'esperar a la universitat per poder utilitzar. Sense aquesta, l'experimentació del treball no hauria estat possible. Seguidament, donar gràcies a tot el meu cercle de coneguts: amics, família i fins i tot diversos professors, que m'han donat suport tant moral, com pràctic al laboratori.

Finalment, vull donar gràcies a la meva tutora. Gràcies per aconsellar-me, ajudar-me quan he estat estancat, mostrar-te tan resolutiva i especialment fer que aquest treball fos possible.

Abstract

Acne is a skin disease which affects 80% of the world population at some point in their life. Its principal causes are hormonal changes which occur during plenty of stages in human development, such as adolescence or menstruation, and the dysbiosis that these cause. A bibliographic investigation has been carried out in this project to understand the relationship between the resident skin microbiome species that influence in the development of inflammatory lesions, hormones and the disease itself. Treatments of the disease have also been investigated. Knowing that some of these cosmetics contained plants (burdock, marigold and soapwort, among others), the aim to demonstrate which of some of these plants and others that can be found in the Catalan territory could be used to treat acne, was set. To do so, an experimental investigation, based in antibiograms, was carried out in order to prove which of some of the group of plants had antibacterial properties.

Resumen

El acné es una enfermedad de la piel que afecta alguna vez en la vida a un 80% de la población mundial. Sus causas principales son los cambios hormonales que se dan en muchas etapas del desarrollo humano, como la adolescencia o la menstruación, y la disbiosis causada por estos. En este trabajo se ha documentado bibliográficamente la relación entre las especies de la microbiota cutánea residentes que influyen en la aparición de lesiones inflamatorias, las hormonas y la propia enfermedad. También se han investigado los tratamientos de esta enfermedad. Al conocer que muchos de estos cosméticos contenían plantas (bardana, caléndula o saponaria, entre otras), se marcó el objetivo de demostrar si algunas de estas y otras que se pueden encontrar en el territorio catalán se podrían utilizar para tratar la enfermedad. Para ello, se realizó una investigación experimental, basada en los antibiogramas, con la finalidad de comprobar cuáles de este grupo de cinco plantas escogidas tenían propiedades antibacterianas.

Índex

1. Introducció	1
1.1 Motivació	1
1.2 Rellevància científica	2
1.3 Objectius.....	2
1.4 Metodologia	2
2. Marc teòric.....	5
2.1. L'acné	5
2.1.1. Tipus d'acné.....	6
2.1.2. Causes de l'acné.....	7
2.1.3. Tractaments per l'acné.....	9
2.2. Bacteris.....	11
2.2.1. Tinció de gram	11
2.2.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	12
2.2.3. <i>Escherichia coli</i>	12
2.3. Antibacterians	12
2.3.1. Els antibiòtics	13
2.3.2. Els antisèptics	14
2.4. Les plantes de l'experiment i les variables de control.....	14
2.4.1. Les plantes.....	14
2.4.2. Variables de control	15
2.5. Les plantes en la cosmètica	16
2.6. Antibiograma	17
3. Part experimental.....	19
3.1. Hipòtesi.....	19
3.2. Materials i mètodes	19
3.2.1. Preparació de 300 mL de medi:	19

3.2.2.	Inoculació dels bacteris i antibiogrames	19
3.2.3.	Tinció de gram	20
3.2.4.	Per la tinció de les plaques amb blau de metilè.....	21
3.3.	Resultats	22
3.4.	Interpretació dels resultats	30
4.	Conclusions	35
5.	Referències	37
5.1.	Referències dels continguts	37
5.2.	Referències de figures	39
5.3.	Referències d'imatges.....	39
5.4.	Referències de taules.....	40
6.	Índex de figures	41
7.	Índex d'imatges.....	41
8.	Índex de taules	41

1. Introducció

L'acné és una malaltia que el 80% de la població pateix o ha patit algun cop en la seva vida. Existeixen, tant al mercat com en farmàcia, diversos actius i fàrmacs per tractar aquesta afecció de les unitats pilosebàcies. L'existència de tants fàrmacs i tractaments crea una gran confusió sobre no només l'eficàcia d'aquests, sinó també, si s'haurien d'utilitzar en una malaltia com l'acné. Tot i això, alhora, es tracta d'una malaltia amb gran desinformació, no només amb el tractament, sinó també amb el que es considera acné i les seves causes. S'han usat des de l'antiguitat diverses plantes per a tractar tant aquesta malaltia, com altres patologies causades per infeccions bacterianes. És per això que en aquest treball s'han escollit cinc plantes que es poden trobar en el territori català que podrien fer-se servir per a tractar aquesta malaltia. Aquest conjunt de plantes n'inclou algunes que s'utilitzaven antigament i d'altres de les quals no es té cap registre sobre les seves propietats antibacterianes. Per a determinar si es podrien emprar o no, s'ha realitzat, prèviament, una àmplia recerca en les causes, el desenvolupament de la malaltia i els usos de les plantes que s'han escollit. Seguidament, s'ha dut a terme una investigació experimental basada en el mètode de *Kirby-Bauer* per a determinar si alguna d'aquestes cinc plantes, es podria usar en el tractament d'aquesta malaltia.

1.1 Motivació

Des de fa ja tres anys pateixo acné lleu i sempre m'ha interessat molt quines eren les causes d'aquesta malaltia que diversos cops m'ha afectat no només físicament. Quan vaig començar a patir-lo em va despertar molta curiositat saber que era el que causava aquesta malaltia tan molesta i de vegades dolorosa. Mai em van quedar clares quines eren les causes, ja que a internet, existeix una gran desinformació sobre l'acné. No només volia saber quines eren les causes, sinó també volia saber com em podia desfer d'ella, així que també vaig començar a buscar com tractar-la. Després de trobar moltes respostes, tot i de poca credibilitat totes, vaig començar a provar diversos tractaments (casolans, cremes de farmàcia, locions de supermercat, remeis naturals, sabons...) però res va semblar ser efectiu, exceptuant un fàrmac que va comprar la meua mare. Aquest era un antibiòtic, la clindamicina i el va comprar sense prescripció mèdica. Vaig començar amb el tractament i al principi semblava que ja havia curat el meu acné, però cada cop que deixava d'utilitzar la clindamicina, l'acné tornava. A més a més, la clindamicina era menys eficaç cada cop que l'utilitzava. Al cap d'un any, vaig deixar el tractament que van

recomanar a la meua mare a la farmàcia, ja que la clindamicina havia perdut quasi tota la seva eficàcia. Avui en dia encara pateixo acné tot i ser aquest molt més lleu.

1.2 Rellevància científica

Actualment, vivim en una societat on els antibiòtics es fan servir en excés. L'abús dels antibiòtics en un futur pot comportar problemes, ja que els bacteris creen resistència a molts d'aquests medicaments. Quasi tota la carn que es consumeix avui en dia en conté, i no només això sinó que l'aliment que se li dona a aquests animals també. Un altre exemple és *S. Aureus*, un estafilococ que és cada cop més resistent a la meticil·lina (el principal antibiòtic amb què es combat). Això està comportant dificultats en molts hospitals, on les infeccions per aquest bacteri són cada cop més abundants i més difícils de tractar. A mi personalment em van recomanar a farmàcia un antibiòtic sense recepta mèdica. D'altra banda, com s'ha esmentat prèviament, existeix una gran desinformació sobre l'acné. [1] [2]

És per això que en aquest treball no només s'explica que és l'acné i quines són les verdaderes causes, sinó que també, s'intenta demostrar si algunes plantes del territori català presenten propietats antibacterianes i, per tant, si es podrien utilitzar per tractar aquesta malaltia.

1.3 Objectius

- Investigar i entendre sobre l'acné i les seves causes.
- Estudiar si algunes plantes del territori català tenen propietats antibacterianes.
- Determinar la sensibilitat antibacteriana de les diferents plantes per tal de valorar-ne l'eficàcia per combatre l'acné.
- Aprendre i posar en pràctica la metodologia de treball al laboratori en el camp de la microbiologia.

1.4 Metodologia

Per a poder realitzar la part més teòrica d'aquest treball s'ha realitzat una extensa recerca d'informació. S'han consultat molts articles científics i diverses pàgines web que han ajudat a comprendre aquesta malaltia. Després per a dur a terme l'experimentació es van demanar dues espècies de bacteris al centre de recursos pedagògics específics de suport a la innovació i la recerca educativa (CESIRE), amb els quals es va fer una

investigació experimental basada en el mètode de Kirby-Bauer (antibiograma amb mètode de difusió en agar). En aquesta s'inoculava una placa de petri amb els bacteris i es comprovava quines del conjunt de cinc plantes inhibien o no el creixement de les dues espècies. Amb això es pretenia comprovar quines es podrien utilitzar per al tractament de l'acné.

2. Marc teòric

2.1. L'acné

L'acné és una malaltia de la pell principalment de la cara, esquena i pit. Aquesta malaltia involucra les unitats pilosebàcies¹ i es caracteritza per l'aparició de barbs, pústules i altres lesions generalment inflamatòries. L'acné es diferencia en tipus que depenen de diversos factors. Els principals són la causa, el tipus de lesió o el seu grau i el període d'aparició.

L'augment de la producció d'andrògens² junt amb un desequilibri de la microbiota cutània són les principals causes d'aquesta malaltia que el 80% de la població mundial ha patit algun cop a la seva vida.

L'acné més comú apareix a la pubertat i es caracteritza per l'aparició de petits barbs oberts o tancats. Aquestes lesions o protuberàncies són degudes a la queratinització³ irregular, causada pels canvis hormonaals, que obstrueix els fol·licles pilosos juntament amb una quantitat anormal de seu, també causada pels canvis hormonaals. En molts casos les lesions es queden en

aquest punt i no es desenvolupen més, sobretot entre pells fosques o persones molt joves que comencen a patir acné. Tot i això, en la gran majoria d'afectats, el desenvolupament de les lesions no s'atura en aquest punt. L'acumulació de queratinòcits i seu fomenta que algunes espècies benignes de la microbiota cutània augmentin la seva població, ja que es nodreixen dels greixos i la queratina de la qual estan constituïts. Aquest augment dels microorganismes és detectat pel nostre cos que allibera mediadors inflamatoris, la zona s'inflama i per això fa mal. En aquest punt el sistema immunitari comença a combatre la proliferació dels bacteris. Com a resultat d'aquest procés el cos

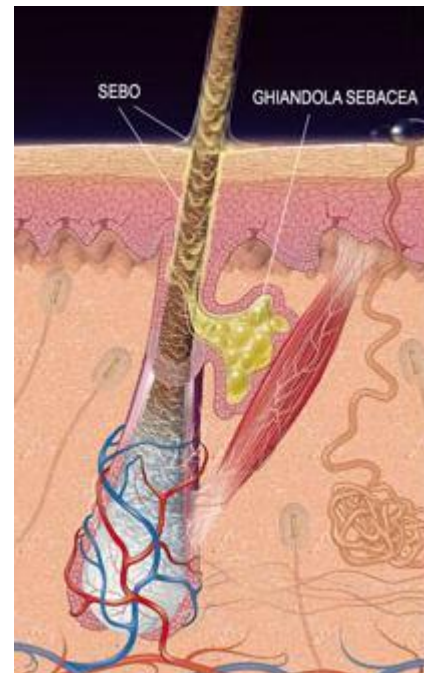


Figura 1: Unitat pilosebàcia, es senyalen el seu i la glàndula sebàcia. [1]

¹ Unitats funcionals formades per una o dues glàndules sebàcies, un fol·licle pilós i el seu múscle erector. Són més grans i nombroses a la cara, n'hi ha de 400 a 900 per cada centímetre quadrat.

² Hormona liposoluble i esteroide, la seva funció principal és desenvolupar els trets sexuals masculins.

³ Procés de l'epidermis on els queratinòcits diferenciats de l'estrat basal perden el seu contingut en aigua i augmenta el de queratina i àcids grassos. Quan acaba aquest procés es desprenen de la pell.

allibera pus. Depenen de la profunditat de la pell on tingui lloc aquesta infecció es forma una pústula, les lesions inflamatòries més superficials, o una pàpula, si es formen a la dermis. La formació d'aquestes dues lesions també pot produir-se sense la formació dels barbs.

Existeixen altres lesions per acné, però són molt extremes i només es donen en casos molt greus de la malaltia, són els coneguts nòduls, quists i fins i tot abscessos. Aquestes lesions són degudes a una infecció molt avançada en pústules o pàpules, tenen una dimensió considerable en comparació amb les de l'acné regular i són molt més doloroses.

2.1.1. Tipus d'acné

La manera més comuna de classificar l'acné és per grau i quantitat de lesions. Segons aquesta classificació, hi ha quatre graus: lleu o grau 1, moderat o grau 2, greu o grau 3 i molt greu o grau 4. Cadascun d'aquests graus se sol caracteritzar per tenir un període d'aparició i una causa mínimament diferenciable. Per això a cada grau se'l coneix amb un nom col·loquial diferent.

L'acné lleu o de grau 1 es reconeix per dues característiques: els barbs han de ser la lesió predominant i si hi ha lesions inflamatòries han de ser menys de cinc a una meitat de la cara. És característic en persones amb pell fosca (fototip⁴ VI) o adolescents que comencen a patir acné. S'anomena col·loquialment acné comedonià o comedogènic.

Si el nombre de lesions inflamatòries va d'entre 6 a 10 en una meitat de la cara i aquest nombre és predominant a les lesions que no ho són, és acné de grau 2 o moderat. Molt comú en adolescents d'entre 15 i 20 anys. Freqüentment en aquest tipus d'acné apareixen també pústules pel tronc superior, sobretot per l'esquena. Es coneix col·loquialment com l'acné hormonal o adolescent.

L'acné greu o de grau 3 té tendència a ser molt dolorós. Des de 10 i fins a 50 lesions inflamatòries molt profundes a una meitat de la cara s'hi poden formar fins a nòduls i quists. Tota l'esquena i el tronc frontal s'hi poden veure afectats.

El tipus més extrem i dolorós d'acné és el de grau 4 o molt greu. Més de 50 lesions molt profundes i inflamatòries només en una meitat de la cara. Se'l coneix com a acné nòdul-quístic i sense tractament mèdic pot desencadenar altres malalties o problemes de salut.

[3]

⁴ Escala que classifica numèricament pel color la pell humana.

2.1.2. Causes de l'acné

Els canvis hormonals són la principal causa de l'acné, ja que alteren diversos factors de la pell. Aquests canvis es donen principalment en l'adolescència. També es donen en processos com la menstruació, la menopausa o amb certs medicaments que alteren els nivells hormonals a la sang. A part d'accelerar irregularment la queratinització, els alts nivells d'hormones andrògenes a la sang (testosterona, androsterona i androstenediona) inhibeixen a les cèl·lules de la pell la producció de proteïnes i pèptids antimicrobians com la dermicidina o la HBD1 i augmenten la síntesi d'àcids grassos, seu. Aquestes dues alteracions es deuen a les funcions que tenen els andrògens: desenvolupar els caràcters sexuals masculins, regular la libido i regular també certes vies metabòliques. Tot i que no se sap el mecanisme exacte pel qual els andrògens incrementen la producció de seu, sí que es coneix el de la inhibició de les proteïnes antimicrobianes. Quan les hormones són a dins de l'espai intracel·lular, l'enzim 5- α -reductasa les converteix a les tres en dihidrotestosterona, un metabòlit molt més potent, que a dins del nucli de les cèl·lules de les unitats pilosebàcies (sebòcits) impedeix la síntesi d'aquestes. [4]

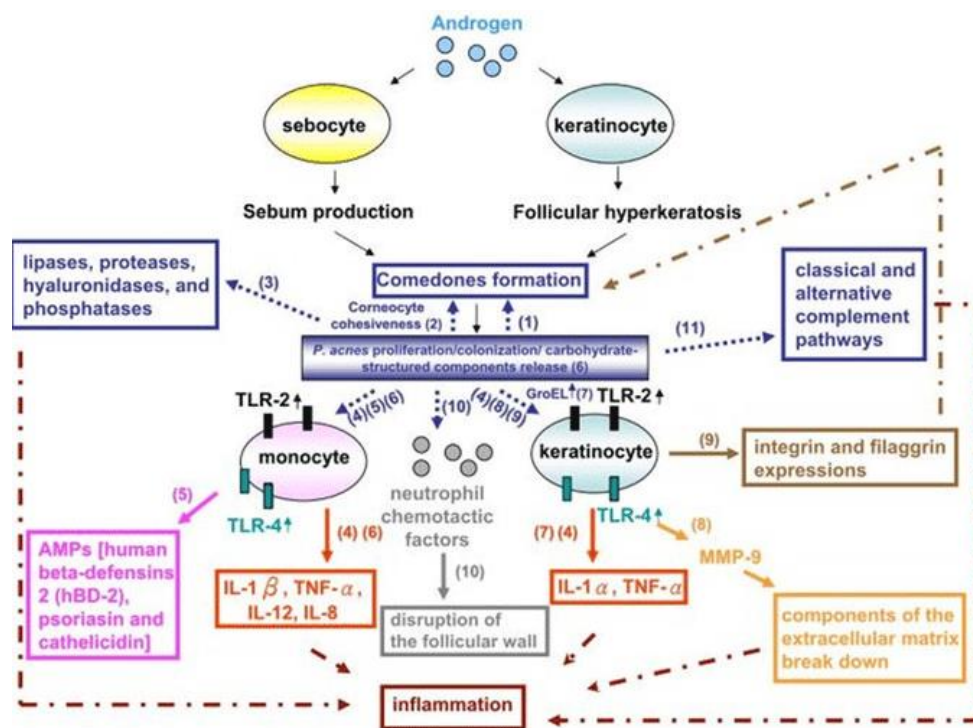


Figura 2: Via de senyalització dels andrògens a la pell i els seus efectes. [2]

D'altra banda, tenim la proliferació de bacteris com l'altra causa principal de l'acné. La pell com moltes altres regions del cos és l'hoste d'un petit ecosistema format per bacteris, fongs, àcars i altres microorganismes inofensius antigament conegut com a flora sapròfita. Ara se sap que aquest concepte és erroni i es coneix a aquest conjunt com a

microbiota humana. Per a entendre com funciona l'acné s'han de conèixer dues espècies que la formen i que en condicions normals són inofensives: *Cutibacterium acnes* i *Staphylococcus epidermidis*. Aquestes dues espècies de bacteris no són perjudicials per als humans en condicions normals de la nostra pell, però com ja s'ha explicat, en moments com l'adolescència, la menstruació i molts altres, dues de les funcions de la pell es veuen alterades. Els barbs que aquestes alteracions causen estan plens de molts tipus de lípids diferents (triglicèrids, colesterol, èsters de cèrids...) i proteïnes, sobretot queratina. Aquestes molècules en un espai reduït i a temperatures altes, donen les condicions ideals perquè els exemplars de les dues espècies nomenades es reproduïxen en excés. L'alta quantitat de microorganismes és nociva i és reconeguda pel nostre cos com una amenaça que ha de combatre. En aquest punt es passa d'una lesió petita i sense inflamació a una lesió de dimensions més elevades i inflamada. El cos combatrà l'augment dels bacteris i com a resultat es formarà un sac de pus (la pústula o pàpula). [5] [6]

Enfermedad	Microorganismos	
	Disminución	Aumento
Psoriasis	<i>Propionibacterium acnes</i> Estafilococos	<i>Candida albicans</i> <i>Malassezia furfur</i>
Acné	---	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Rosácea	---	<i>Demodex folliculorum</i>
Dermatitis atópica	---	<i>Staphylococcus aureus</i>
Dermatitis seborreica	---	<i>Malassezia globosa</i> <i>Malassezia restricta</i>

Taula 1: Relació entre les disbiosis de les espècies de la microbiota cutània i les malalties que aquestes causen. [1]

A part d'aquestes dues causes, se'n coneixen d'altres que tenen menys influència en l'aparició de la malaltia. Els raigs ultraviolats tenen molts efectes en el nostre organisme i la seva pell. Entre ells està inflamar-la si no es prenen mesures de protecció solar durant un temps prolongat. Aquesta inflamació pot no ser beneficiosa per la nostra pell i augmentar el risc de desenvolupar pàpules i altres lesions. Una altra causa pot ser l'ús de cosmètics que contenen ingredients molt greixosos coneguts com a comedogènics. Alguns d'aquests són la parafina, l'alcohol cetílic o silicones i es troben en alguns productes de maquillatge o locions hidratants. La seva acció és la mateixa que la que fa l'excés de seu als fol·licles pilosos, cobrir-los. La presència de familiars propers que han estat afectats per la malaltia també incrementa el risc de patir-la.

2.1.3. Tractaments per l'acné

Existeixen diversos tractaments sense recepta mèdica al mercat que ajuden considerablement a disminuir i en la majoria de casos, eliminar l'acné si aquest és lleu. Si la malaltia és de grau 3 o superior aquests fàrmacs no solen tenir efecte, ja que la infecció bacteriana és molt elevada i és necessària la intervenció mèdica.

- Tractaments sense recepta mèdica

Alguns dels fàrmacs més populars són àcids exfoliants, sabons, cremes i molts altres productes i actius que es poden trobar tant a les farmàcies com als supermercats. Els àcids més utilitzats són els alfa-hidroxiàcids (AHA) i els beta-hidroxiàcids (BHA). Aquests es diferencien en la posició del grup hidroxil en la cadena principal. Mentre que als primers només el separa un carboni (el carboni alfa) del grup àcid, als segons el separen dos carbonis (el grup hidroxil es troba en el carboni beta).

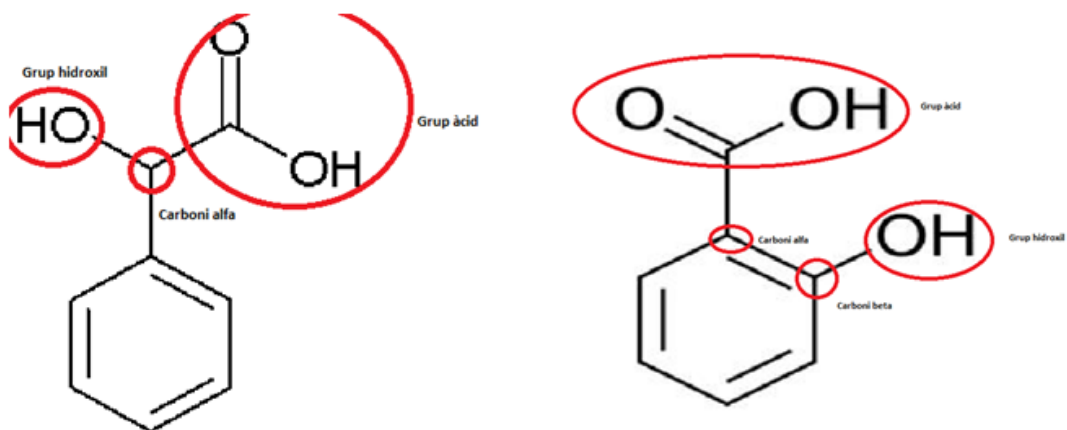


Figura 3: **Molècula d'àcid mandèlic, un AHA (esquerra) i molècula d'àcid salicílic, un BHA (dreta).** S'assenyalen els grups hidroxils (CHO), els grups àcids (COOH) i els carbonis que separen aquests dos grups. [3] [4]

Existeixen molts AHA, tots s'extreuen d'aliments fermentats, però són només sis els emprats en cosmètica, aquests són: l'àcid glicòlic, de la canya de sucre; l'àcid làctic, de la llet; l'àcid cítric, de les fruites cítriques; l'àcid tartàric, del raïm; l'àcid mandèlic, d'ametlles amargues; i l'àcid màlic, de la poma. Cadascun té un efecte mínimament diferent en la pell, pel seu pes molecular, però el mecanisme d'acció és el mateix, ja que tots són hidrosolubles⁵. Tots ells penetren molt bé a les capes superficials de l'epidermis i ajuden a renovar-la, pel fet que causen el desprendiment dels queratinòcits morts de l'estrat corni, gràcies a la seva naturalesa àcida.

⁵ Que és soluble en aigua, característica de les molècules polars.

Tot i existir també molts BHA, només un s'utilitza en cosmètica, l'àcid salicílic. Aquest compost s'extreu de l'escorça de salze. Al contrari que el grup anterior, aquest àcid és liposoluble⁶, així que actua sobre la pell de diferent manera. La seva naturalesa química fa que pugui entrar a les glàndules sebàcies i reduir el seu contingut en seu, acabant així amb la principal causa de l'acné. També és antimicrobià gràcies a l'anell de benzè que el forma.

A part d'àcids exfoliants, al mercat es troben altres productes que redueixen l'acné d'altres maneres. Es destaquen els retinoides tòpics, la niacinamida, el peròxid de benzoïl i les pastilles anticonceptives que combinen un estrogen amb un prostàgen. [7]

- Tractaments amb recepta mèdica

D'altra banda, la majoria de casos d'acné grau 3 o superior no semblen millorar sense l'ús d'actius o productes amb recepta mèdica. Els més comuns són els retinoides orals, els antibiòtics orals i les pastilles anticonceptives. [8]

La tretinoïna, la isotretinoïna i l'acitretina orals són molt més efectives que els seus derivats tòpics, ja que no són necessàries reaccions metabòliques del nostre cos perquè comenci el seu funcionament (són les formes actives), com és el cas dels seus predecessors, retinol i retinaldehid, que solen venir en format tòpic i que han de ser modificats pel nostre organisme fins als retinoides nomenats. Les dosis acostumen a ser d'un mil·ligram per dia durant vint setmanes i la seva efectivitat és del 85%. Aquests compostos tenen molts efectes adversos: sequedat de les mucoses, de la pell, dels llavis i dels ulls; petites hemorràgies internes; infeccions de les cutícules; migranyes i altres. Durant aquestes vint setmanes són necessaris algunes anàlisis de sang, ja que aquests medicaments són molt potents i poden alterar molts processos a l'organisme. Hi ha certs països on la venda d'alguns retinoides orals està prohibida, com és el cas de Regne Unit. [9]

També han de tenir recepta mèdica els antibiòtics orals. El seu funcionament és el mateix que el dels antibiòtics tòpics, però es fan servir per arribar a àrees del cos molt grans on l'ús dels tòpics seria una pèrdua de temps. Si l'acné no disminueix o desapareix en dos mesos de tractament es canvia d'antibiòtic o de tractament a causa de les resistències bacterianes que pugui estar causant en altres àrees del cos. [10]

⁶ Que és soluble en dissolvents lípids o altres dissolvents apolars, característica de les molècules que també ho són.

2.2. Bacteris

Constitueixen un regne a escala taxonòmica, les moneres, i són l'únic dels cinc que són cèl·lules procariotes, per tant, tenen certes diferències amb la resta de regnes (animals, plantes, fongs i protoctists). Les cèl·lules procariotes no tenen nucli, contenen molts menys orgànuls cel·lulars i els que tenen, en comparació amb les eucariotes, són més petits. Es pot dir que generalment són cèl·lules més senzilles que les eucariotes, tot i que la seva adaptació és molt més ràpida.

Els bacteris són els organismes més antics del planeta, els primers éssers vius. Actualment, existeixen nombroses espècies i diverses maneres de classificar-les. Les més rellevants són per la forma en què es presenten (cocs, bacils o espirils) o pel color que adopten amb la tinció de gram.

Hi ha dues espècies, que com ja s'ha explicat, per disbiosis causen acné: *Cutibacterium acnes* i *Staphylococcus Epidermidis*. Per disponibilitat del centre on es van demanar els bacteris (CESIRE) per la part experimental només es va poder aconseguir l'estafilococ. Tot i això, per comparar les propietats de les plantes també es va demanar el bacteri més comú en la microbiota intestinal i que a diferència del causant de l'acné, és gramnegatiu, *Escherichia coli*.

2.2.1. Tinció de gram

La tinció de gram és un procés emprat en microbiologia per diferenciar els bacteris grampositius i gramnegatius. Aquest procés requereix 4 solucions: un tint bàsic, una substància que incrementi l'afinitat entre el tint i la cèl·lula, un decolorant i un segon tint. Els més utilitzats són el cristall violeta, el lugol, l'etanol i la safranina respectivament.

Els bacteris grampositius tenen una gruixuda capa de peptidoglicà⁷ (de 20 a 80 nm de gruix) a la paret, mentre que els bacteris gramnegatius tenen una capa de peptidoglicà, de 2 nanòmetres i una capa més externa de lipopolisacàrids, lipoproteïnes i lípids. Els grampositius després de la decoloració continuaran tintats de violeta, ja que el tint haurà penetrat en la seva gruixuda paret bacteriana, en canvi, als gramnegatius no, perquè la seva paret de peptidoglicà és molt prima. Aquests es tenyiran amb la segona tinció d'un color vermell rosat. [11]

⁷ Biopolímer compost d'aminoàcids i monosacàrids.

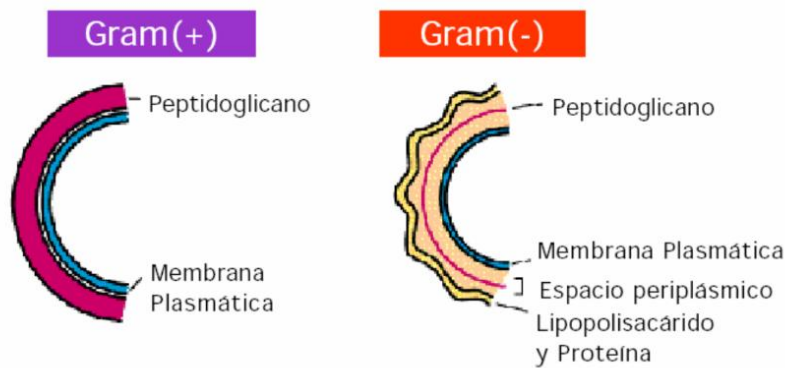


Figura 4: Diferències entre els bacteris grampositius (esquerra) i els gramnegatius (dreta). [5]

2.2.2. *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis és un estafilococ⁸. És un bacteri anaerobi facultatiu pertanyent a la microbiota cutània bacteriana resident, ja que en condicions estables de la pell, l'individu i el bacteri estableixen una relació de simbiosi. L'estafilococ secreta certes substàncies antimicrobianes que regulen la població de *S. aureus*, un altre bacteri de la microbiota resident, menys comú però amb més facilitat de tornar-se un patògen. No només se'l relaciona amb l'acné, sinó que també és el causant, amb altres estafilococs, d'infeccions i inflamacions com l'endocarditis, la sèpsia o endoftalmitis. [12] [13]

2.2.3. *Escherichia coli*

D'altra banda, trobem a un bacil gramnegatiu, *E. coli*, un dels bacteris més comuns al tracte digestiu. Les infeccions per aquest bacteri poden arribar a ser doloroses, però generalment no són perilloses (causen diarrees i vòmits). *E. coli* manté una relació de simbiosi amb l'individu on ell proporciona els nutrients necessaris per al bacteri (els quals els humans no podem digerir) i el microorganisme els degrada. També se'l considera l'ésser viu sobre què es té més coneixement biomolecular, amb ell es proven les propietats de moltes noves biomolècules. [14]

2.3. Antibacterians

Una substància antibacteriana és qualsevol substància, que sense importar el seu origen, elimina els bacteris o inhibeix la seva proliferació. S'utilitzen per combatre aquests microorganismes i les seves infeccions. Durant tota la història, la humanitat ha emprat

⁸ Coc que s'agrupa en forma de raïm o collar de perles.

diversos productes amb aquesta finalitat. El primer registre que es té de l'ús dels antibacterians prové de la Xina de l'any 500 aC. S'usava la quallada de soja florida per a netejar ferides i tractar moltes infeccions. També se sap que Egipcis i Grecs feien servir moltes plantes amb aquestes propietats. Per l'acné es feien servir antigament preparats de farigola o calèndula, ja que aquestes dues plantes es relacionaven amb propietats antimicrobianes i reductores de la inflamació.

L'ús dels remeis naturals per les infeccions bacterianes va decaure amb el primer antibiòtic, la penicil·lina, descoberta l'any 1897. En aquest punt de la història és on es comença a diferenciar les substàncies antibacterianes dels antibiòtics de laboratori. [15]

2.3.1. Els antibiòtics

Els antibiòtics es diferencien amb els antibacterians per la seva procedència, ja que el seu ús és el mateix. Són substàncies que produeix un altre microorganisme, que poden estar modificades o no al laboratori i que tenen capacitat de selecció sobre les cèl·lules les quals actuen, els bacteris. Es classifiquen en dos grups els bacteriostàtics, si detenen el creixement dels bacteris, o els bactericides, si els eliminen. Hi ha generalment cinc mecanismes d'acció pels quals una molècula inhibeix o elimina un bacteri: el bloqueig de la síntesi de factors metabòlics, l'alteració del metabolisme o dels àcids nucleics, la inhibició de la síntesi proteica, l'alteració de la membrana plasmàtica o l'alteració de la paret bacteriana.

En termes de química els antibiòtics són un grup molt ampli i és per això que, qualsevol molècula orgànica produïda per un altre ésser viu que pot estar modificada al laboratori i que tingui qualsevol d'aquests mecanismes d'acció selectius sobre una cèl·lula procariota, es considerarà un antibiòtic. [16]

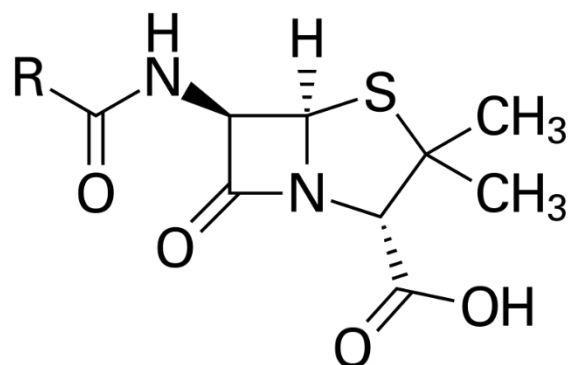


Figura 5: Molècula de penicil·lina, un antibiòtic amb acció bactericida. [6]

2.3.2. Els antisèptics

No només hi ha un tipus de substància antibacteriana. En aquest grup també es troben els antisèptics. Tenen la mateixa funció que els antibiòtics, però no tenen control sobre qui l'exerceixen. A més, la procedència d'aquest tipus de substàncies no és tan rigorosa com la dels antibiòtics. Deixant de banda aquestes dues característiques, són iguals que els antibiòtics, inhibeixen el creixement dels bacteris, tot i que també actuen sobre altres microorganismes i els eliminen. S'utilitzen en concentracions baixes a causa de la poca selecció que tenen sobre els seus objectius.

Són un grup molt ampli químicament, però a més a més, i a diferència dels antibiòtics, en aquest grup estan incloses moltes substàncies inorgàniques. Es consideren antisèptics per exemple alguns alcohols, dissolucions de iode amb altres molècules orgàniques i l'aigua oxigenada. [17]

2.4. Les plantes de l'experiment i les variables de control

Per la part experimental del treball s'han fet servir cinc plantes que actualment es poden trobar al territori català. La finalitat amb aquestes és veure si tenen propietats antibacterianes.

2.4.1. Les plantes

- *Menta x piperita* o la menta, és un híbrid natural de dues plantes del mateix gènere: la *Menta spicata* i la *Menta aquatica*. Produeix moltes substàncies aromàtiques, a les que deu la seva popularitat. Creix arreu del món, tot i preferir climes temperats i càlids. Presenta moltes fulles i tiges ramificades i no passa dels 80 cm. La similitud d'aquesta espècie amb moltes altres del seu mateix gènere és alta, per això, se la confon molt. Algunes civilitzacions usaven la menta com afrodisíac o com a signe funerari. També s'ha emprat molt en medicina, sent l'origen d'aquest ús el Japó. [18]
- Llimera o el llimoner és un arbre conegut pel fruit que produeix, la llimona. La seva alçada ronda els 5 metres de mitjana. Les fulles són llargues, 10 a 15 cm, i d'un color verd molt intens. L'apreciació per aquest arbre, com bé se sap, és deguda al fruit que dona quan arriba als 2 o 3 anys de vida, la llimona. Una fruita molt coneguda i valorada pel seu alt contingut en vitamina C i àcid cítric. L'arbre és originari de la Xina i l'est Asiàtic, ja que el seu creixement requereix unes

temperatures poc fredes. Tot i no ser una planta autòctona de Catalunya, des de l'any 1200 aproximadament es troba en aquest territori. [19]

- La bufassa és un card, una planta que comunament conté espines, unes flors grans i una tija dura. És originari d'Europa. No se la considera una planta humida, ja que necessita poca aigua per créixer i ho pot fer durant tot l'any. És de la mateixa família que la bardana (*Asteraceae*) una planta que és antimicrobiana i s'utilitza en productes i tractaments per l'acné i altres afeccions de la pell. [20]



Imatge 1: Planta i flor de bufassa. [1]

- El boixac de jardí és una planta que també pertany a la família de les Asteràcies, *Asteracea*. És molt preuada des de fa segles per les propietats terapèutiques i medicinals que se li han atribuït (acció antiinflamatòria), tot i no estar demostrades científicament. També és apreciada pels botànics pels colors groguencs-ataronjats tan intensos de les seves flors. Suporta molt bé quasi tots els climes d'Europa, ja que és autòctona d'aquest continent. També se la coneix com a calèndula. [21]

- L'herba sabonera (*saponaria officinalis*) és una planta herbàcia molt comuna a Europa, Àsia i Amèrica del nord. Com el seu nom indica "*officinalis*" ha sigut molt utilitzada en oficines de farmàcia. Les parts que es poden fer servir són els rizomes⁹, les arrels i les fulles, ja que en aquestes parts és on es concentren els principis actius en les plantes adultes. Ha estat usada en sabons des de fa dècades, ja que se li atribueixen propietats antimicrobianes.[22]



Imatge 2: Plantes de saponària. [2]

2.4.2. Variables de control

És d'alta importància quan es realitza un experiment emprar les variables de control. Aquestes serveixen per a demostrar que els resultats de l'experiment són deguts a la variable independent (en aquest cas les plantes) i no per qualsevol altre factor que hagi

⁹ Sistema d'algunes plantes per a reproduir-se. Constitueix una part de l'arrel semblant a un tubèrcul.

pogut intervenir en el procediment. Més específicament, en microbiologia, quan es vol observar la resistència bacteriana o les propietats antimicrobianes d'alguna substància les variables de control són dues: una de control positiu i una de control negatiu. La de control positiu ha de ser una substància antibacteriana que eliminarà o aturarà el creixement dels bacteris segur. La variable de control negatiu, en canvi, ha de ser una altra substància que no aturi, però tampoc afavoreixi el creixement dels bacteris. En aquest cas la variable de control positiu és un antibiòtic, la clindamicina, el control negatiu és aigua.

La clindamicina és un antibiòtic de tipus bacteriostàtic. Inhibeix la síntesi de proteïnes dels bacteris, ja que s'enllaça amb una de les subunitats del ribosoma procariota i impedeix el seu funcionament. Té un rang d'efectivitat alt sobretot en cocs aerobis grampositius i bacils anaerobis gramnegatius. La resistència bacteriana és quasi nul·la amb aquest antibiòtic, per això és receptat en casos d'acné molt persistent. [23]



Imatge 3: Clindamicina en format tòpic. [3]

L'aigua, en canvi, és una substància que no afavoreix al creixement dels bacteris, però tampoc l'impedeix. El creixement dels bacteris en presència d'aquesta hauria de ser igual, per això s'utilitza com a variable de control negatiu.

A més a més, com l'aigua no és una substància antibacteriana, s'ha emprat per aconseguir les propietats de les plantes en un medi líquid. Així s'assegura que els efectes antimicrobians que puguin tenir les plantes són per les seves propietats i no per l'aigua.

2.5. Les plantes en la cosmètica

Quasi totes les plantes de què se'n fa ús en la part experimental del treball tenen una relació en la cosmètica amb l'acné.

Moltes cremes contenen una planta molt semblant i amb molta relació a la bufassa, la bardana. Aquesta es fa servir en productes hidratants per a pells amb acné, ja que és una planta antimicrobiana.

La calèndula també s'usa en cremes, però té aplicacions molt més generals. Es fa servir per a infeccions, inflamacions i fins i tot cremades menors.

La menta també és present en gels hidratants per a pells greixoses¹⁰ i l'herba sabonera s'ha fet servir per fer sabons i espumes facials des de fa diverses dècades.

L'única planta que no es té registre del seu ús a la cosmètica és la llimera, almenys les fulles, ja que l'extracte de llimona, sí que s'utilitza.



Imatge 4: Exemples de cosmètics que contenen bardana (esquerra) i calèndula (dreta). [4] [5]

2.6. Antibiograma

L'antibiograma és la situació on un microorganisme no pot desenvolupar-se per la presència d'un o diversos agents antimicrobians. També se'l coneix com a proves de sensibilitat o proves de resistència microbiana a fàrmacs. S'utilitzen fàrmacs o substàncies antibacterianes i s'analitza si aquests aturen el creixement i eliminen els microorganismes. El mètode més usat és el de "Kirby-Bauer" o el de difusió en agar. Consisteix a observar la sensibilitat dels microorganismes a fàrmacs en una placa de petri. Aquesta placa contindrà un medi d'agar ric en nutrients perquè els bacteris o fongs creixin i creïn colònies. Just després de la inoculació de tota la placa, es col·loquen sobre el medi papers d'antibiograma. Cadascun d'aquests conté un fàrmac. Passat el temps,

¹⁰ Un dels quatre tipus de pell segons la dermatologia. Es caracteritza per una sobreproducció de seu.

els bacteris hauran proliferat per tota la placa exceptuant els papers que continguin un fàrmac al qual siguin sensibles. Cada paper tindrà un radi de separació entre ell i les colònies. Mesurant aquesta distància es calcula quanta resistència tenen els microorganismes al fàrmac i l'eficàcia d'aquest inhibint el creixement dels microorganismes. [24]



Imatge 5: Exemple de antibiograma amb mètode de Kirby-Bauer. [6]

3. Part experimental

3.1. Hipòtesi

Com l'acné és causat per aquests bacteris, les substàncies que els eliminin es podran utilitzar per tractar la malaltia. En aquest cas, totes les plantes utilitzades en la part experimental d'aquest treball tenen propietats antibacterianes, per tant, totes es podran utilitzar en el tractament de l'acné. La bufassa serà la més eficaç de totes les plantes, a causa de la seva similitud amb la bardana. Tot i això, la saponària i la calèndula també seran molt eficaces, sobretot amb *S. epidermidis*. Finalment, la menta i la llimera també tindran propietats antibacterianes, però menys efectives que les de les altres tres esmentades.

3.2. Materials i mètodes

3.2.1. Preparació de 300 mL de medi:

- Agar-Agar a l'1,7%
- Midó al 0,15%
- Brou de pollastre a l'1,75%
- Aigua destil·lada
- Matràs Erlenmeyer
- Balança
- Agitador tèrmic
- Espàtula
- Proveta
- Vidre de rellotge
- Cotó
- Alcohol etílic 96

1. En un matràs Erlenmeyer es dissolen 5,1 g d'agar-agar, 5,25 g de brou de pollastre i 0,45 g de midó, en 300 mL d'aigua destil·lada. Per mesurar-los s'utilitza una balança, un vidre de rellotge i una proveta.
2. S'introdueix la barra magnètica o mosca al matràs i aquest es col·loca a sobre de l'agitador tèrmic. S'encén a una temperatura mitjana-alta i una velocitat elevada. Es deixa funcionar fins que la dissolució sigui força transparent i tingui un color groguenc. Aquest procés pot durar entre uns 20 i 30 minuts.
3. Es deixa refredar uns 5 o 10 minuts.

3.2.2. Inoculació dels bacteris i antibiogrames

- 6 plaques de petri
- Papers d'antibiograma o paper de filtre
- Tisores
- Pinces
- Xeringa

- Alcohol etílic al 96%
- Guants
- Cambra de cultiu
- Boli o retolador
- Medi de cultiu
- Bacteris (*Escherichia coli* i *Staphylococcus epidermidis*)
- Clindamicina
- Plantes que es volen provar i morter.
- Aigua destil·lada
- Comptagotes

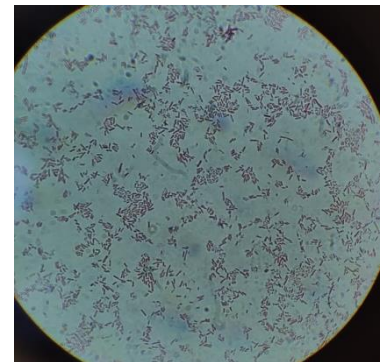
1. A sis plaques de petri i s'aboca l'agar fred per omplir-les fins a la meitat, ràpidament es tapen. L'agar a les plaques ha de quedar sòlid i fred. De mentre, s'encén la cambra de cultiu i es deixa a 37°.
2. Amb l'agar sòlid i a temperatura ambient s'inoculen 3 plaques amb *Escherichia coli* i 3 plaques amb *Staphylococcus epidermidis*. Per a fer-ho, s'agafa el tub d'assaig on hi ha cada bacteri i es remena. S'obre el tub i amb una xeringa estèril s'agafa un mil·lilitre de medi líquid, s'aboca dins de la placa que s'haurà de tancar ràpidament després de la inoculació. Es repeteix el procés en totes les plaques. Es marca amb una línia les plaques i les seves tapes i amb un número cada placa i la seva tapa.
3. Les plaques inoculades es deixen reposar una estona i es preparen les plantes que es volen provar. Per fer-ho, es xafen 5 grams de cada planta i 10 mil·lilitres d'aigua destil·lada amb un morter. Si no es tenen papers d'antibiograma, es poden realitzar amb paper de filtre i tisores. S'han de fer mínim tres per cada placa: dos pels controls i un més per cada planta que es vol provar.
4. S'agafa un paper amb una pinça (es necessita una pinça per cada substància que es col·locarà dins les plaques inoculades) i amb un comptagotes ple d'alcohol s'aboca una gota i s'espera que s'assequi. Quan s'ha assecat es mulla en la substància a la qual li pertanyi aquella pinça. S'obre la placa i es col·loca a dins. Aquest procés es repeteix en les sis plaques amb cada control i amb totes les plantes.
5. Es marca a la placa de sobre amb el retolador quina substància hi ha a cada paper i es porten totes les plaques a la cambra de cultiu. S'esperen d'uns tres fins a deu dies, fins que el creixement dels bacteris sigui evident.

3.2.3. Tinció de gram

- Hisops de cotó o nansa bacteriològica
- Medi amb bacteris per tenyir
- Portaobjectes

- Cobreobjectes
- Font de calor
- Cristall violeta 1 mL/ 5 mL
- Lugol 1 mL/2,5 mL
- Alcohol etílic al 96%
- Aigua destil·lada
- Safranina 1 mL/2,5 mL
- Tubs d'assaig
- Guants
- Diversos comptagotes

1. Amb un hisop de cotó estèril s'escura acuradament la placa o el medi on es trobin els bacteris i es freguen també curosament a un portaobjectes net. Seguidament, es fixa la mostra passant-la amb cura sobre la font de calor.
2. Els portaobjectes amb bacteris ara seran ruixats amb unes gotes de cristall violeta fent servir un comptagotes i es deixarà 30 segons. Seguidament, es llençarà per la pica o la brossa l'excés de tint.
3. Ara amb un altre comptagotes net, es tiraran unes gotes de la dissolució de lugol sobre els portaobjectes per a fixar el cristall violeta. S'esperarà un minut i es decoloraran els portaobjectes amb etanol durant aproximadament 20 segons. Es rentarà ara amb aigua destil·lada.
4. Finalment, es tenyirà un últim cop amb unes gotes de la dissolució de safranina. S'espera un altre minut i es renten els portaobjectes amb aigua destil·lada.



Imatge 6: *S. epidermidis* de la placa número 4. Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.

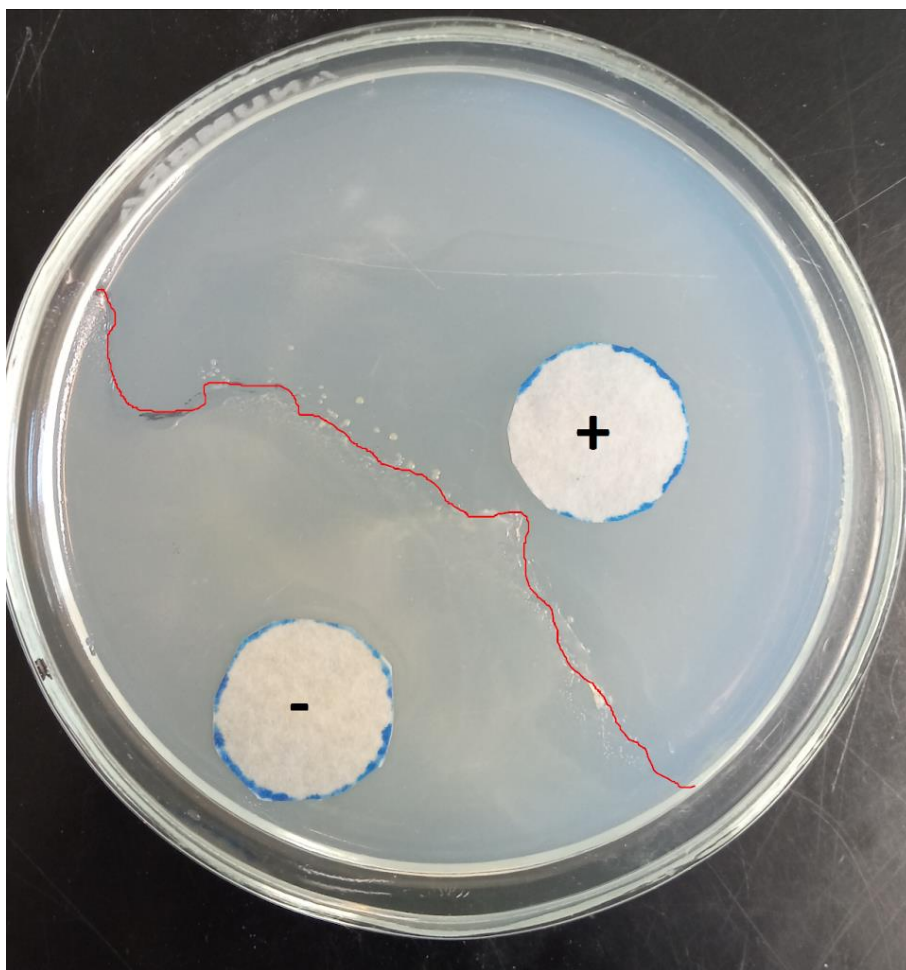
3.2.4. Per la tinció de les plaques amb blau de metilè

- Blau de metilè
 - Vas de precipitats
 - Aigua destil·lada
 - Guants
1. Amb guants ben col·locats, es dissol blau de metilè en un vas de precipitats o un altre recipient de vidre. Aquesta dissolució ha de contenir una tercera part de tint, i dues terceres parts d'aigua destil·lada.
 2. Quan la dissolució estigui preparada, s'aboca una petita quantitat sobre la placa i es deixa uns minuts.
 3. Ara s'extraurà la dissolució de blau abocant-la per la pica, d'aquesta manera, s'obtindran unes plaques inoculades on es veurà molt més clar el creixement dels microorganismes.

3.3. Resultats

Abans de començar amb l'experimentació, es van haver de fer diverses rèpliques per a provar tant l'efectivitat del medi, com la concentració de l'antibiòtic (variable de control positiu). Després de diversos intents, es va aconseguir efectuar un medi on els bacteris proliferaven i una concentració de l'antibiòtic apta per un espai tan reduït, ja que es va provar l'antibiòtic al 100%, però impedia la proliferació dels bacteris a tota la placa.

L'última rèplica (que conté l'antibiòtic en una dilució 1/100) és la que es mostra en la imatge següent del dia 15 de juny.

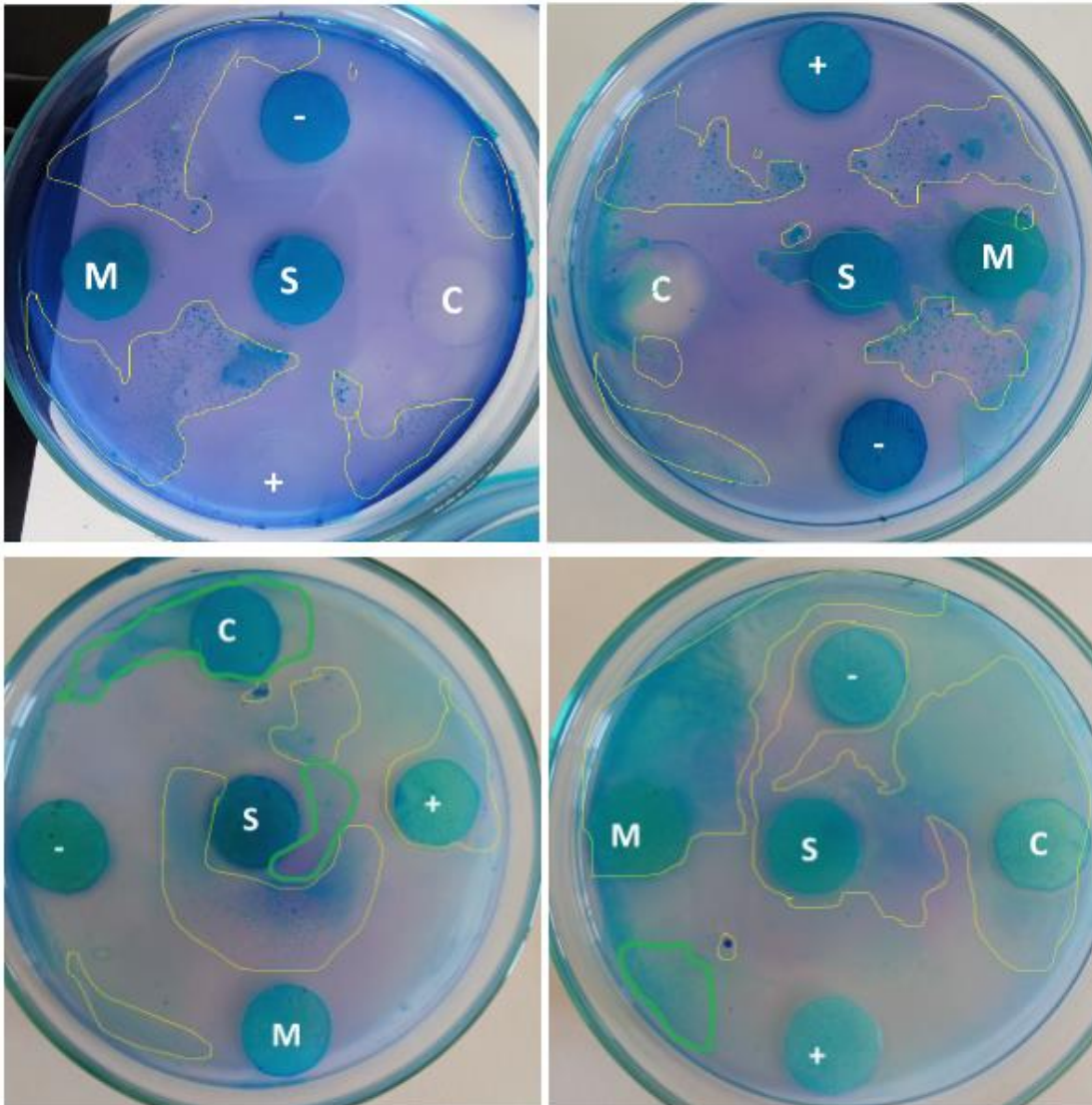


Imatge 7: **Placa inoculada amb *E. coli***. La clindamicina diluïda amb 1/100 és representada amb un "+", mentre que el "-" representa l'aigua destil·lada. Registre de dades 15/06/2022. Font pròpia.

Després d'haver obtingut un medi òptim, es va començar amb l'experiment en si. Es van provar tres de les cinc plantes (la menta, el boixac i l'herba sabonera) en tres plaques inoculades amb *E. coli* i tres plaques amb *S. epidermidis*.

Cada planta està representada amb la seva inicial. El control negatiu és representat amb un "-" (paper amb aigua), mentre que el control positiu és representat amb un "+" (paper amb

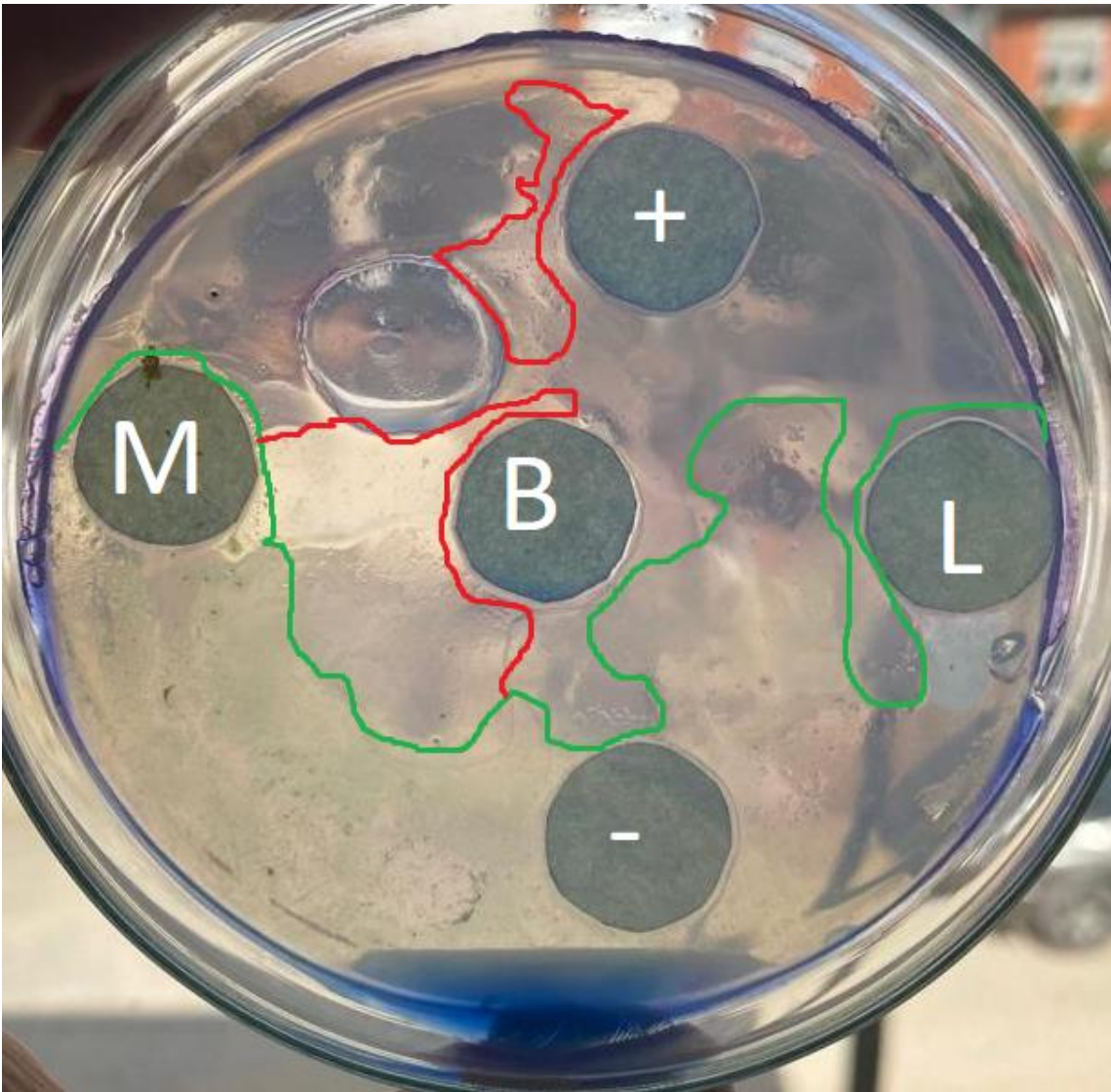
clindamicina 1/100). Les àrees que delimita una línia verda són les zones on el creixement dels bacteris ha sigut molt pronunciat, les línies vermelles delimiten les zones on han crescut bacteris però en colònies concretes. Les línies grogues delimiten els espais on hi ha hagut contaminació d'altres microorganismes, molt probablement, fongs. Les imatges són després de quatre dies de la inoculació, el 5 de juliol.



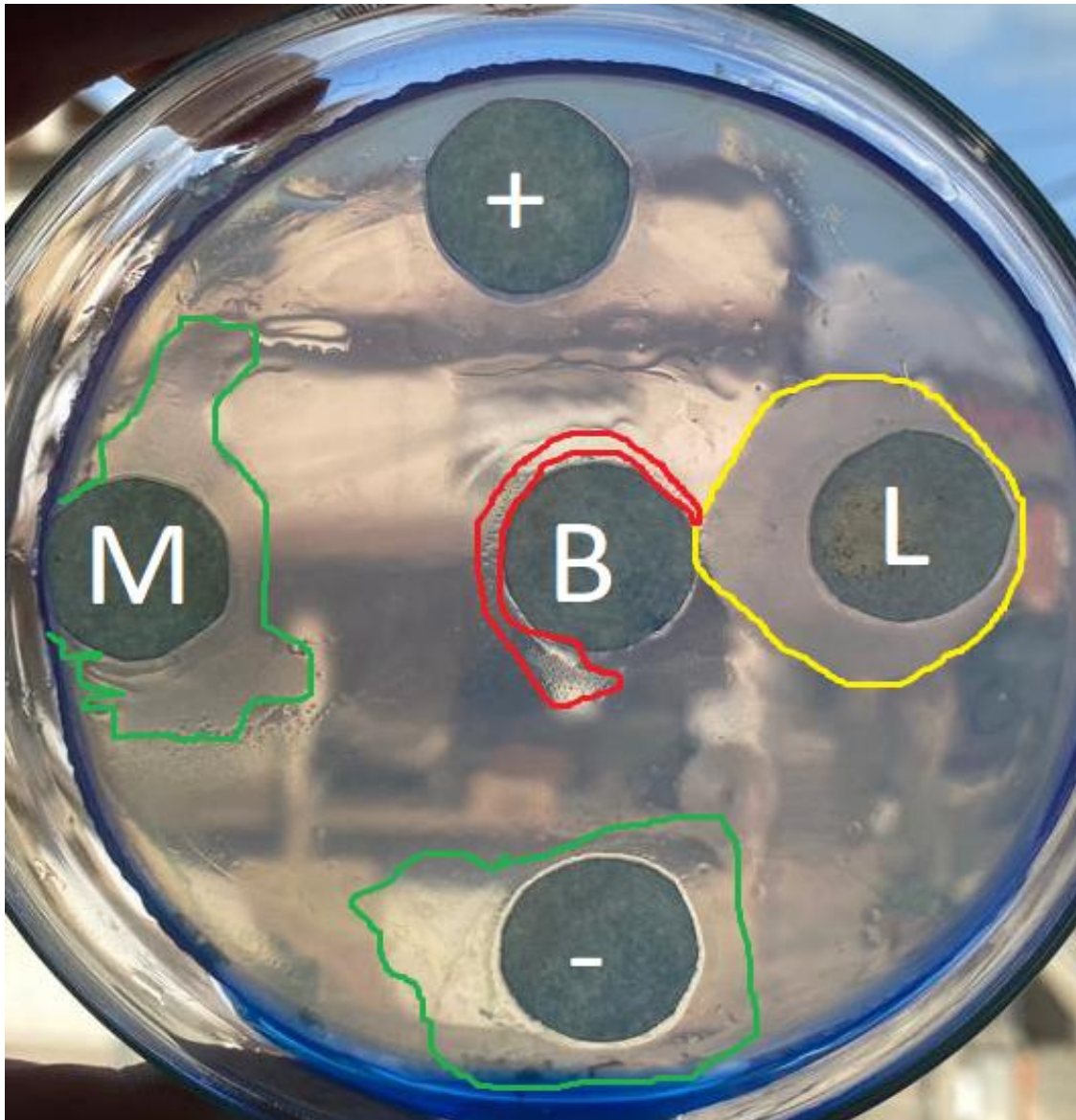
Imatge 8: **Plaques inoculades amb *E. coli* i *S. epidermidis*.** Menta (M), saponària (S), calèndula (C), control positiu (+) i control negatiu (-). Registre de dades 05/07/2022. Font pròpia.

Per tancar amb la part experimental, es va fer una última rèplica. En aquesta se'n van provar també tres de les cinc plantes, però en aquest cas van ser la menta, la bufassa i la llimera. Deu dies després de la inoculació es va observar el creixement dels bacteris. S'utilitza la mateixa simbologia que en les imatges anteriors.

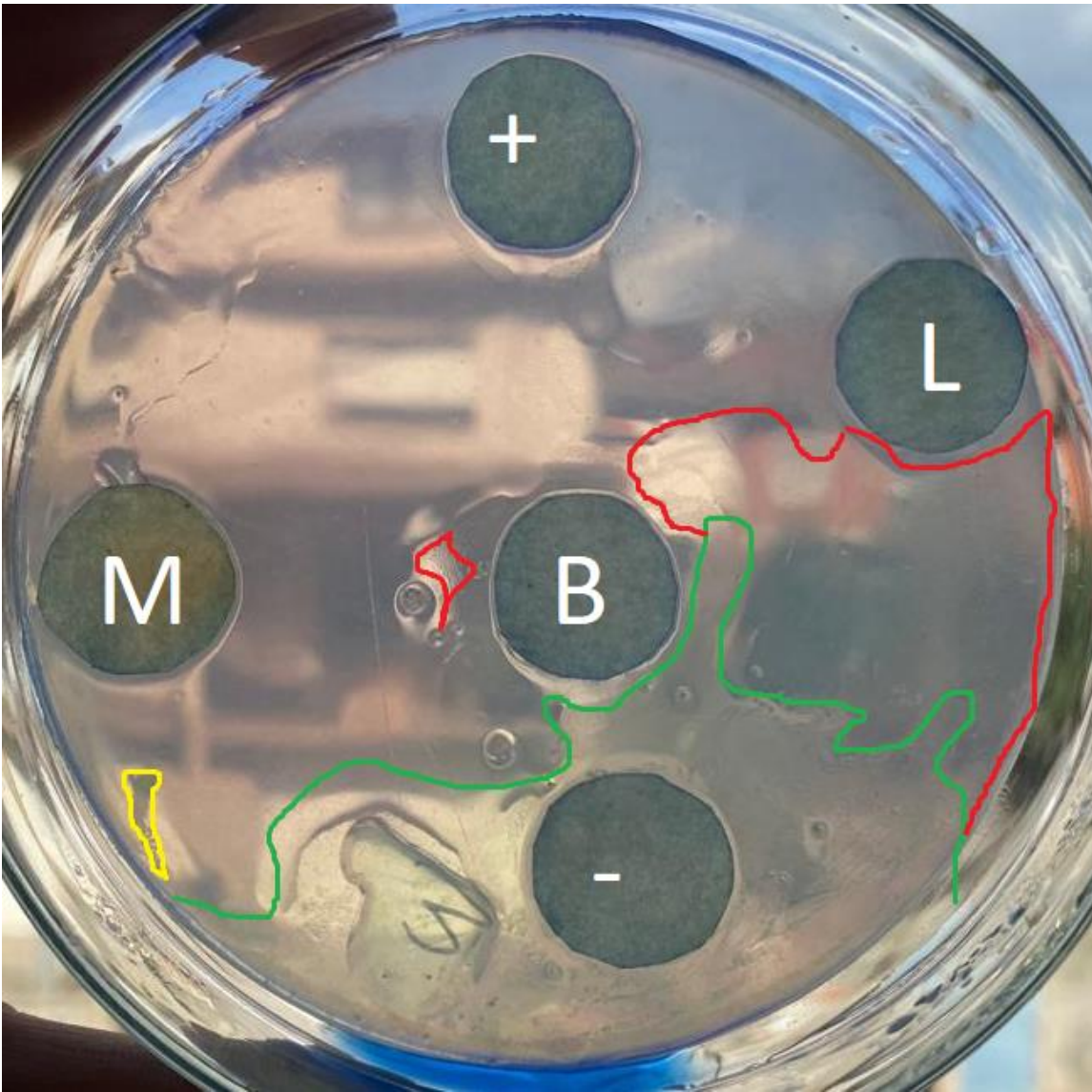
Les imatges a continuació són les sis plaques inoculades el 13 de setembre amb *E. coli* i *S. epidermidis*.



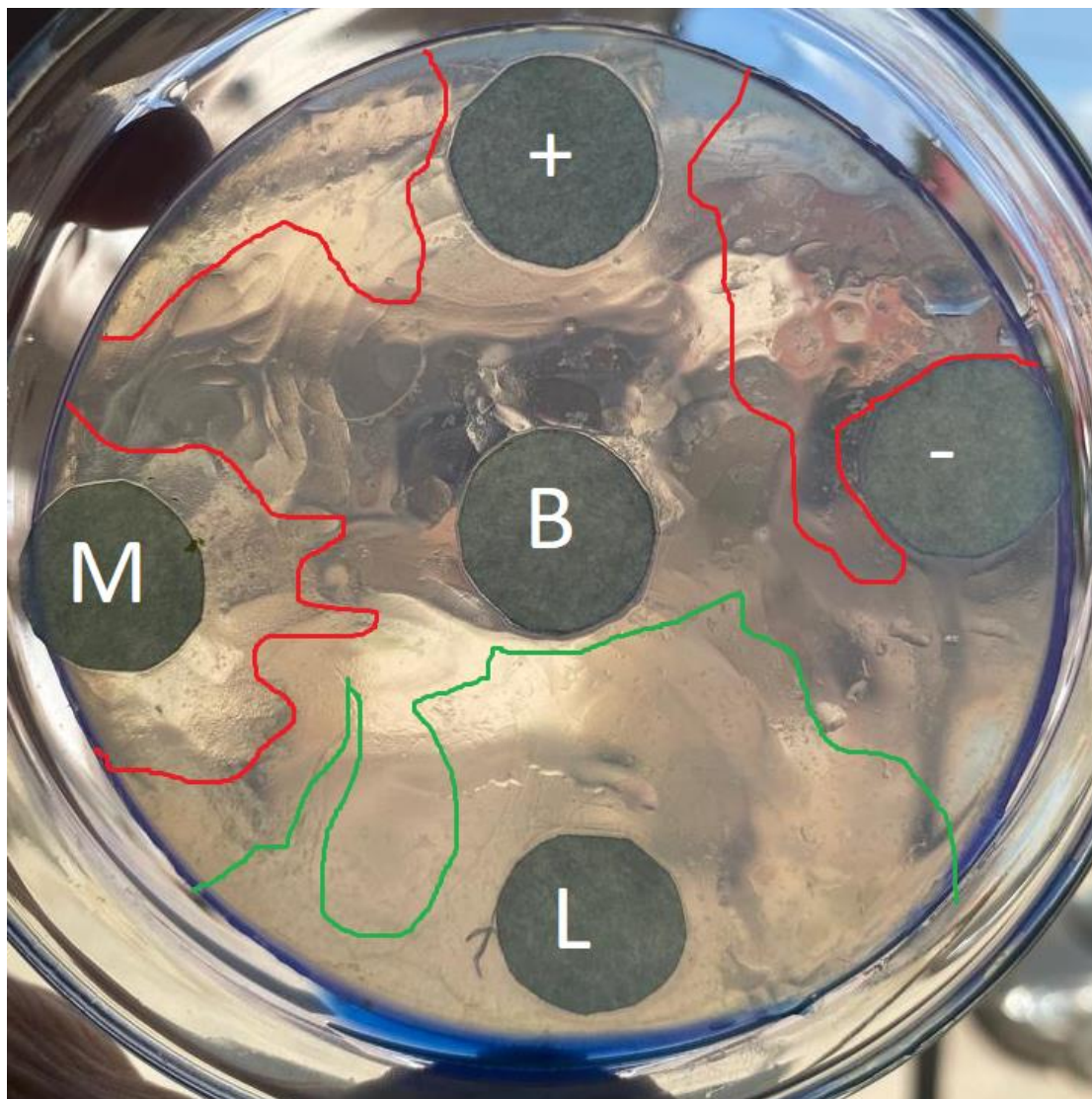
Imatge 9: **Placa 1 inoculada amb *E. coli***. Menta (M), bufassa (B), lilimera (L), control positiu (+) i control negatiu (-).
Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.



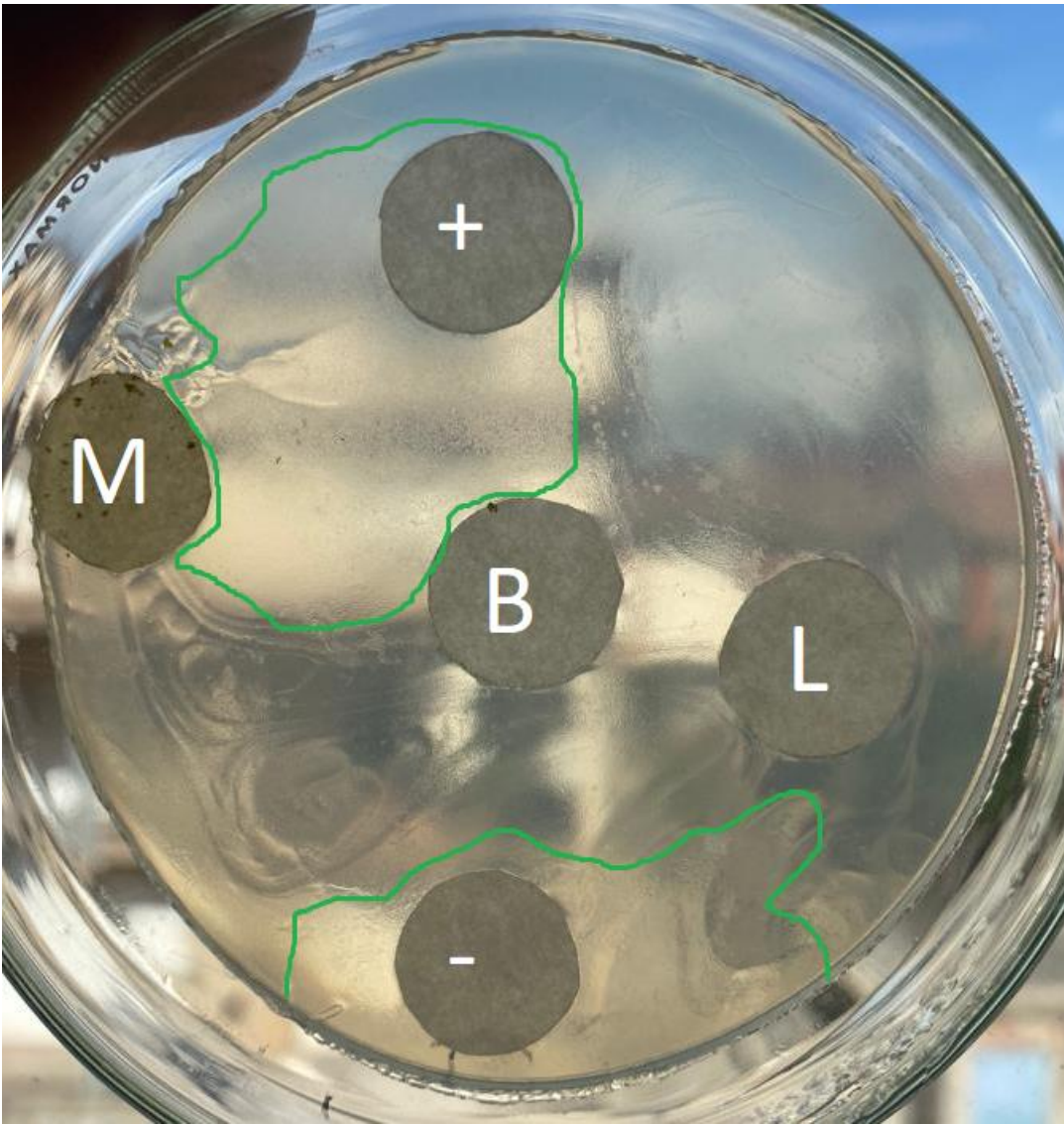
Imatge 10: **Placa 2 inoculada amb *E. coli***. Menta (M), bufassa (B), Ilimera (L), control positiu (+) i control negatiu (-).
Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.



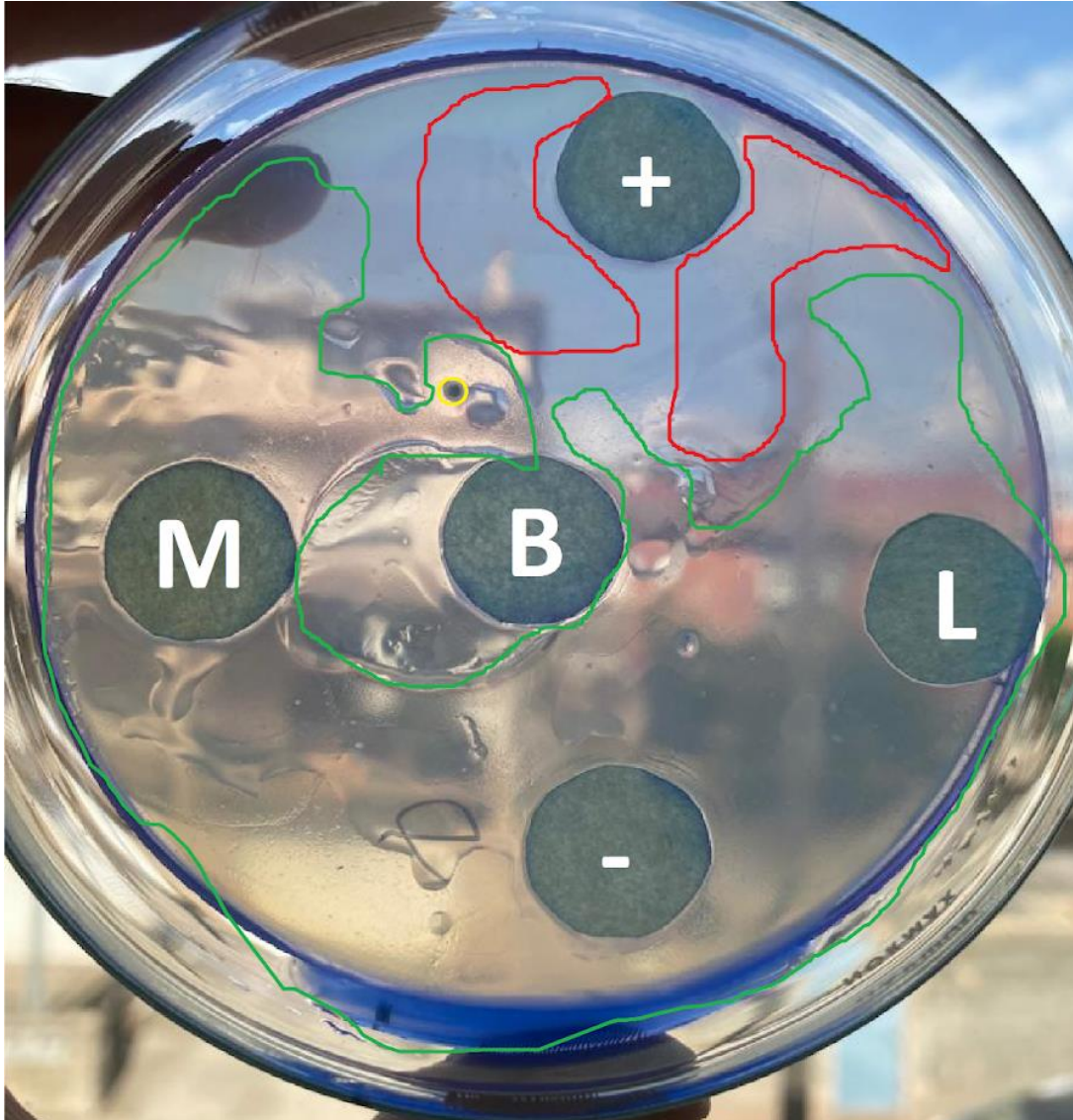
Imatge 11: **Placa 3 inoculada amb *E. coli***. Menta (M), bufassa (B), llimera (L), control positiu (+) i control negatiu (-).
Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.



Imatge 12: **Placa 4 inoculada amb *S. epidermidis***. Menta (M), bufassa (B), llimera (L), control positiu (+) i control negatiu (-). Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.



Imatge 13: Placa 5 inoculada amb *S. epidermidis*. Menta (M), bufassa (B), lilmera (L), control positiu (+) i control negatiu (-). Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.



Imatge 14: Placa 6 inoculada amb *S. epidermidis*. Menta (M), bufassa (B), llimera (L), control positiu (+) i control negatiu (-). Registre de dades 23/09/2022. Font pròpia.

Per a facilitar l'enteniment dels resultats, s'han realitzat les següents taules de les diferents rèpliques on es representa l'aparició de bacteris i la contaminació d'altres microorganismes en cada paper.

05/07/2022	PLAQUES			
Discs	1	2	3	4
Control positiu	-	-	C	-
Calèndula	-	X	X	C
Saponària	-	X	x	C
Menta	-	X	-	C
Control negatiu	-	-	-	C

23/09/2022	PLAQUES					
Discs	1	2	3	4	5	6
Control positiu	x	-	-	-	X	x
Menta	X	X	-	X	-	X
Bufassa	x	x	-	-	x	x
Llimera	X	C	-	X	-	X
Control negatiu	X	X	X	-	X	X

Taula 2: **Resultats de les inoculacions fetes amb *E. coli* i *S. epidermidis*.** Llegenda: amb un "-" es representen les plantes on no ho ha proliferat cap bacteri, amb un "X" els papers on si que han proliferat, amb una "x" els papers on hi ha molt poca proliferació i amb un "C" els papers que han patit contaminacions.

3.4. Interpretació dels resultats

Després d'obtenir els resultats de l'experiment s'ha analitzat cadascun detingudament.

La imatge del 15 de juny mostra l'efectivitat del medi de cultiu perquè els bacteris proliferin. Tot i ser aquest l'objectiu principal d'aquesta rèplica també es va fer servir per demostrar l'eficàcia de l'antibiòtic en una dilució 1/100 davant d'una placa inoculada amb *E. coli*. En últim lloc, també mostra com l'aigua destil·lada és una bona variable de control negatiu, ja que la proliferació dels microorganismes en el paper que conté aquesta substància, i arreu seu, és evident.

Seguidament, l'1 de juliol, es va realitzar la primera rèplica de l'experiment. En aquest, com s'ha explicat prèviament, es van inocular sis plaques, la meitat amb una espècie i les altres tres amb l'altra. Tot i haver seguit una metodologia molt estricta i rigorosa i, respectant en tot el possible les mesures d'higiene facilitades pel centre, sembla que les sis plaques van patir contaminacions d'altres microorganismes. A part com segurament ens indica les poques zones de cada placa on els bacteris van proliferar, la inoculació no es va dur a terme correctament.

En la placa número 1 la contaminació ha estat total, fins a un punt on els bacteris no han proliferat a cap zona. Tot i això, s'observa com als papers i per les seves vores, els microorganismes contaminants (segurament fongs) no han proliferat, exceptuant el paper del control negatiu. Les zones de creixement dels fongs es concentren en quatre vores de la placa.

En la placa número 2 el creixement dels fongs és encara molt més clar, colònies grans i molt separades entre si. Encara que la contaminació en aquesta placa és evident, hi ha un altre tipus de colònies molt més regulars i petites que sí que podrien ser bacteris (zona del paper de la menta i el de la saponària delimitada amb verd).

La placa número 3 presenta les mateixes condicions que abans. Colònies grans i espaiades entre si tant en el control positiu, com pel centre de la placa. En aquesta també es veuen unes colònies en el paper de la calèndula (boixac de jardí) com les de la placa 2, que probablement són els bacteris inoculats. En la saponària, la proliferació és molt reduïda tant de bacteris, com de les contaminacions.

Per acabar amb la primera rèplica, la placa 4 és on més zones contaminades es poden trobar. S'observen contaminacions d'un microorganisme molt més regular, però que en ser mirades amb deteniment es veuen colònies individuals. Tots els papers excepte el del control positiu estan contaminats. A l'esquerra del control positiu, tanmateix, es veu una zona amb una proliferació molt més regular que la que es troba al costat contrari de la placa que es podria tractar de bacteris inoculats.

Finalment, es va realitzar la segona i última rèplica de l'experiment. En aquesta es va seguir la mateixa metodologia, però es van provar dues plantes diferents. La bufassa i la llimera van substituir a la calèndula i la saponària. La inoculació en aquesta rèplica sí que es va dur a terme correctament, ja que en totes les plaques han proliferat els bacteris, com s'esperava, i es poden trobar molt poques contaminacions. Es van esperar més dies en aquesta rèplica, ja que amb el temps, l'aigua del medi s'evapora, el volum de l'agar redueix i així es veu molt més clarament on hi ha colònies i a on no. A més, si es deixen més dies, hi ha més proliferació de bacteris.

A la placa 1 inoculada amb *E. coli* la proliferació dels bacteris ha sigut molt regular, per tant, no sembla que hi hagi contaminacions. La majoria de colònies es concentren a la part inferior de la placa (control negatiu, menta i llimera), evitant el paper que contenia bufassa. Tot i això, al costat esquerre d'aquest, hi ha colònies molt menys nombroses i concentrades. A partir d'aquesta zona, no han crescut més bacteris exceptuant una petita zona al costat esquerre també del control positiu. Aquestes colònies tenen les mateixes característiques que les del costat de la bufassa. Al control positiu, però, no ha proliferat cap bacteri.

A la placa número 2 també han proliferat els bacteris. En aquesta placa, però, el creixement ha estat molt més reduït. Trobem dues zones principals amb colònies grans i concentrades: en el control negatiu i a la menta. En la bufassa s'observa una colònia igual que la de la placa anterior que la rodeja, però no la cobreix. En aquesta placa, més específicament, en la llimera, sí que hi ha hagut contaminació del que semblen fongs. Aquesta petita contaminació (en comparació a les contaminacions de la rèplica anterior) ha estat molt reduïda i només es veu en el paper de la llimera. A part d'aquestes tres zones de proliferació i aquesta aïllada de contaminació, no hi ha hagut més creixement de microorganismes. Ni en el control positiu ni al seu voltant han proliferat els bacteris.

La placa número 3 també es podrà tenir en consideració (en el control negatiu els bacteris han proliferat, mentre que en el control positiu no). Cap dels papers que contenien plantes han estat coberts per colònies de *E. coli*, tot i això, a prop de la llimera i la bufassa es troba una zona bastant ampla de molt creixement i és on es concentra la gran majoria d'aquest. A part d'aquesta gran colònia, s'observa una petita taca fosca a la part inferior de la placa, entre el control negatiu i la menta, que podria tractar-se de contaminació per fongs. També es pot veure una petita zona de poc creixement al costat esquerre de la bufassa com a les dues altres plaques.

La placa número 4, inoculada amb *S. epidermidis*, no es podrà tenir en consideració a l'hora d'extreure conclusions perquè, com bé s'ha esmentat prèviament, no compleix una de les dues condicions, en el control negatiu no han proliferat els bacteris. Tot i això, la proliferació en la resta de la placa és molt semblant a la de les altres plaques. El creixement dels bacteris es concentra en quatre zones. Una d'aquestes, la més gran, cobreix el paper de la llimera, mentre que una altra zona, menys concentrada quant a colònies, cobreix la menta. La bufassa no ha estat coberta per cap colònia, tot i estar a prop de la zona que ha cobert a la llimera. En el control positiu, a la vegada que al negatiu, no ha proliferat cap microorganisme.

La placa número 5, també inoculada amb el bacteri gram positiu, mostra una proliferació dels bacteris molt regular en totes les zones on aquesta s'ha donat. Malgrat això, aquesta placa tampoc es podrà tenir en compte a l'hora d'extreure conclusions, ja que, en aquesta, a l'inrevés

que l'anterior, han proliferat els bacteris tant en el control positiu com en el control negatiu. La proliferació es concentra en dues zones. La primera, a l'inferior de la placa, cobreix el control negatiu, mentre que la segona que es troba a la part superior, cobreix el control positiu. La segona zona de creixement, cobreix una molt petita part de la menta i la bufassa. La llimera en aquesta placa no ha estat coberta ni es troba gaire a prop de cap colònia de *S. epidermidis*.

Finalment, en la placa 6, és on s'observa més creixement bacterià. S'observa com en tota la placa, excepte en el control positiu i en la bufassa, els bacteris han proliferat. On es poden veure més colònies és a la part inferior, ja que la concentració d'aquestes disminueix a mesura que més s'acosten al control positiu. Dins de la gran zona de creixement, es pot veure una petita taca més fosca que les colònies bacterianes que podria indicar contaminació. La bufassa tot i trobar-se al mig de la gran zona de creixement bacterià, no ha estat coberta per aquest

4. Conclusions

En la hipòtesi d'aquest treball s'esmentava com totes les plantes que s'han utilitzat en la part experimental tenen propietats antibacterianes. Aquesta hipòtesi no s'ha complert.

De les cinc plantes, només d'una se'n poden assegurar aquestes propietats i és la bufassa. El paper de la bufassa no ha estat cobert totalment en cap de les sis plaques de la segona rèplica, inhibint així el creixement de bacteris tant gramnegatius com grampositius. Ara bé, tot i que la bufassa hagi estat la planta que ha inhibit més el creixement dels bacteris, no vol dir que sigui l'única antibacteriana. La menta ha estat coberta en tres de les quatre plaques. La llimera en dues de les quatre, ja que en una ha estat coberta per fongs. Probablement, tant la menta com la llimera són antibacterianes, però per assegurar-ho caldria fer més rèpliques. El que sí que es pot afirmar amb certesa és que la llimera no és antifúngica, ja que ha estat contaminada segurament per fongs.

Les propietats del boixac de jardí i l'herba sabonera no han pogut estar comprovades, ja que la rèplica en què es van provar, va patir grans contaminacions. Haver obtingut aquest inesperat resultat no vol dir que no es pugui fer servir per a concloure que, ni l'herba sabonera ni la calèndula, tenen propietats antifúngiques, almenys, amb els segurament llevats, que varen contaminar les plaques de la primera rèplica. Tot i això, en diverses plaques de la primera rèplica, les poques colònies de bacteris que han proliferat, han evitat tant la calèndula com la saponària. Per tant, es planteja la mateixa situació que amb les dues plantes anteriors. Segurament són antibacterianes, però per poder-ho afirmar serien necessàries més rèpliques.

Seguint amb la bufassa, en ser l'única planta que es pot assegurar la seva propietat antibacteriana, alhora, és l'única que sí que es podria emprar en el tractament de l'acné. Tot i això, abans que aquest procés s'arribés a realitzar, s'haurien d'executar diversos controls i testos. Un d'ells per exemple per esbrinar quina és la molècula que conté l'arrel d'aquesta planta que ha inhibit el creixement bacterià. A més, la bufassa seria una bona alternativa per tractar l'acné, ja que és una planta que creix en moltes zones de Catalunya, per tant, molt accessible. A més, com que està modificada al laboratori no es tractaria d'un antibiòtic, per tant, en seria una bona alternativa.

Si es pogués seguir amb aquesta experimentació, m'agradaria poder fer moltes més rèpliques però només provant el boixac i la saponària, ja que segurament aquestes tenen propietats antibacterianes, però no es van poder determinar, com s'ha esmentat prèviament, a causa de les contaminacions que van patir les plaques de la primera rèplica.

Finalment, penso que sí que he complert la gran majoria dels objectius del treball. Gràcies als articles científics i les pàgines web he pogut entendre que és l'acné i quines en són les verdaderes causes.

Amb l'experimentació, no només he pogut conèixer la metodologia de treball en el camp de la microbiologia, sinó també, gràcies als recursos (materials del centre) i els bacteris (demanats al CESIRE), he pogut estudiar quines de les cinc plantes inhibeix el creixement bacterià de dues espècies.

Com una de les espècies és una de les causants de l'acné, he pogut determinar també que una de les cinc plantes es podria utilitzar per tractar aquesta malaltia.

5. Referències

5.1. Referències dels continguts

1. Grande, B. C., Falcón, M. G., & Gándara, J. S. (2000). *El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual* [Internet]. [consulta 08/12/2022]. Disponible a: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/11358120009487647>
2. NIH MedlinePlus Magazine. *Principales enfermedades resistentes a los medicamentos antimicrobianos* [Internet]. [consulta 25/11/2022]. Disponible a: <https://magazine.medlineplus.gov/es/art%C3%ADculo/principales-enfermedades-resistentes-a-los-medicamentos-antimicrobianos>
3. Colaboradores de Wikipedia. *Acné*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 02/08/2022]. Disponible a: <https://es.wikipedia.org/wiki/Acn%C3%A9>
4. Montoya de Bayona, L. S. *La importancia de los andrógenos en el acné*. MedUNAB [Internet]. [consulta 04/08/2022]. Disponible a: <https://revistas.unab.edu.co/index.php/medunab/article/view/282>
5. Pena, N. I. *Hablemos sobre acné*. Letrame Grupo Editorial [Internet]. [consulta 02/08/2022]. Disponible a: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=7sohEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT11&dq=causa+del+acne&ots=VuJrYqFhIG&sig=O4240V9fjVS3MRQDIRTJidQtblw#v=onepage&q&f=false>
6. Pena, N. I. *Acné en la adolescencia* [Internet]. [consulta 02/08/2022]. Disponible a: https://www.adolescere.es/revista/pdf/volumen-X-n1-2022/2022-n1-05-14_Tema-de-revision-Acne-en-la-adolescencia.pdf
7. Wikipedia contributors. *Hydroxy acid*. Wikipedia [Internet]. [Consulta 04/08/2022]. Disponible a: https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxy_acid
8. Martín, Á. H. *Acné vulgar* [Internet]. [consulta 2/8/2022]. Disponible a: https://eventos.aymon.es/wp-content/uploads/2015/06/02_Acne-vulgar_Dra-Hernandez.pdf
9. Fernández Vozmediano, J., & Armario Hita, J. v. *Retinoides en dermatología*. Med. cután [Internet]. [consulta 04/08/2022]. Disponible a : <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-28996>
10. Gómez F.G., Molina M.W. *Tratamiento del acné*. Rev Med Cos Cen [Internet]. [Consulta 04/08/2022]. Disponible a: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2012/rmc121q.pdf>
11. Colaboradores de Wikipedia, (2022, 11 agost). *Tinción de Gram*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 24/09/2022]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n_de_Gram

12. Patiño, L. A., & Morales, C. A. *Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo*. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica [Internet]. [consulta 03/08/2022]. Disponible a: [https://revistasocolderma.org/sites/default/files/microbiota de la piel el ecosistema cutaneo.pdf](https://revistasocolderma.org/sites/default/files/microbiota_de_la_piel_el_ecosistema_cutaneo.pdf)
13. Colaboradores de Wikipedia, (2022, 28 setembre). *Staphylococcus epidermidis*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 24/09/2022]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis
14. OMS, (2018, 7 febrer). *E. coli* [Internet]. [consulta 24/09/2022]. Disponible a: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
15. *Antibacteriano vs. antimicrobiano*, (2022, 4 novembre). Microban [Internet]. [consulta 25/09/2022]. Disponible a: <https://www.microban.com/es/antimicrobial-solutions/overview/antibacterial-vs-antimicrobial>
16. Colaboradores de Wikipedia, (2022, 10 juny). *Antibiótico*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 25/09/2022]. Disponible a: <https://es.wikipedia.org/wiki/Antibi%C3%B3tico>
17. Colaboradores de Wikipedia, (2022, 24 febrer). *Antiséptico*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 29/09/2022]. Disponible a: <https://es.wikipedia.org/wiki/Antis%C3%A9ptico>
18. Col·laboradors de Viquipèdia, (2022, 17 octubre). *Menta pebrera*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 29/09/2022]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Menta_pebrera
19. Col·laboradors de Viquipèdia, (2022, 13 octubre). *Llimoner*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 30/09/2022]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Llimoner>
20. Col·laboradors de Viquipèdia, (2022, 4 abril). *Bufassa*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 30/09/2022]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Bufassa>
21. Col·laboradors de Viquipèdia, (2022, 27 agost). *Boixac de jardí*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 05/10/2022]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Boixac_de_jard%C3%AD
22. Col·laboradors de Viquipèdia, (2022, juny 13). *Herba sabonera*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 05/10/2022]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Herba_sabonera
23. Colaboradores de Wikipedia. (2022, 19 febrer). *Clindamicina*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 06/10/2022]. Disponible a: <https://es.wikipedia.org/wiki/Clindamicina>
24. SEQCML, (2019, 3 novembre). *Antibiograma*. Labtestsonline [Internet]. [consulta 06/10/2022]. Disponible a: <https://www.labtestsonline.es/tests/antibiograma>

5.2. Referències de figures

1. *Glándulas sebàcies*. AdviHair [Internet]. [consulta 04/08/2022]. Disponible a: <https://www.cesareraqazzi.com/es/glaacutendulas-sebaacuteceas>
2. Mohiuddin, A. K. (2019, 17 juny). *A Comprehensive Review of Acne Vulgaris* [Internet]. [consulta 04/08/2022]. Disponible a: <https://symbiosisonlinepublishing.com/dermatology/dermatology86.php>
3. Colaboradores de Wikipedia. (2022, 28 setembre). *Ácido mandélico*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 06/08/2022]. Disponible a : https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_mand%C3%A9lico
4. Colaboradores de Wikipedia. (2022, 1 juliol). *Ácido salicílico*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 06/08/2022]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_salic%C3%ADlico
5. Tinción de gram [Internet]. [consulta 08/08/2022]. Disponible a: <https://drive.google.com/file/d/1dKoV94PahGUikj5F5facvHRg4SjWZ1e/view>
6. Colaboradores de Wikipedia (2022, 26 novembre). *Penicil·lina*. Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [consulta 10/12/2022]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Penicil%C2%B7lina>

5.3. Referències d'imatges

1. Col·laboradors de Viquipèdia (2022, 7 novembre). *Bufassa*. Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure [Internet]. [consulta 10/12/2022]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Bufassa>
2. Plantas y flores. *Saponaria officinalis* [Internet]. [consulta 10/12/2022]. Disponible a: <https://plantasflores.com/?s=saponaria>
3. Nomenclator.org (2022, 9 desembre). *Clinwas gel tópic* [Internet]. [consulta 20/12/2022]. Disponible a: <https://nomenclator.org/med/clinwas-gel-topico-1-tubo>
4. Hedra. *Crema de bardana de argital* [Internet]. [consulta 09/08/2022]. Disponible a: <https://www.hedra.org/herbolario/crema-de-bardana-rostro-50-ml---argital-p8018968030511>
5. Misohi Cosmètica. *Crema en gel de calèndula* [Internet]. [consulta 09/08/2022]. Disponible a: <https://www.misohicosmetica.com/comprar-crema-calendula-y-aloe-bio-flora.html>
6. Evidencia, U. B. E. (2020, 27 agost). *¿Cómo interpretar un antibiograma?* Urología Basada en Evidencia [Internet]. [consulta 06/10/2022]. Disponible a: <https://urologiabe.com/2020/08/24/como-interpretar-un-antibiograma/>

5.4. Referències de taules

1. Patiño, L. A., & Morales, C. A. *Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo*. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica [Internet]. [consulta 3/8/2022]. Disponible a: https://revistasocolderma.org/sites/default/files/microbiota_de_la_piel_el_ecosistema_cutaneo.pdf

6. Índex de figures

Figura 1: Unitat pilosebàcia, es senyalen el sèu i la glàndula sebàcia.	5
Figura 2: Via de senyalització dels andrògens a la pell i els seus efectes.	7
Figura 3: Molècula d'àcid mandèlic, un AHA i molècula d'àcid salicílic, un BHA	9
Figura 4: Diferències entre els bacteris grampositius i les gramnegatius.	12
Figura 5: Molècula de penicil·lina, un antibiòtic amb acció bactericida.	13

7. Índex d'imatges

Imatge 1: Planta i flor de bufassa.	15
Imatge 2: Plantes de saponària.	15
Imatge 3: Clindamicina en format tòpic.	16
Imatge 4: Exemples de cosmètics que contenen bardana i calèndula.	17
Imatge 5: Exemple de antibiograma amb mètode de Kirby-Bauer.	18
Imatge 6: <i>S. epidermidis</i> de la placa número 4.	21
Imatge 7: Placa inoculada amb <i>E. coli</i>	22
Imatge 8: Plaques inoculades amb <i>E. coli</i> i <i>S. epidermidis</i>	23
Imatge 9: Placa 1 inoculada amb <i>E. coli</i>	24
Imatge 10: Placa 2 inoculada amb <i>E. coli</i>	25
Imatge 11: Placa 3 inoculada amb <i>E. coli</i>	26
Imatge 12: Placa 4 inoculada amb <i>S. epidermidis</i>	27
Imatge 13: Placa 5 inoculada amb <i>S. epidermidis</i>	28
Imatge 14: Placa 6 inoculada amb <i>S. epidermidis</i>	29

8. Índex de taules

Taula 1: Relació entre les disbiosis de les espècies de la microbiota cutània i les malalties que aquestes causen.	8
Taula 2: Resultats de les inoculacions fetes amb <i>E. coli</i> i <i>S. epidermidis</i>	30

