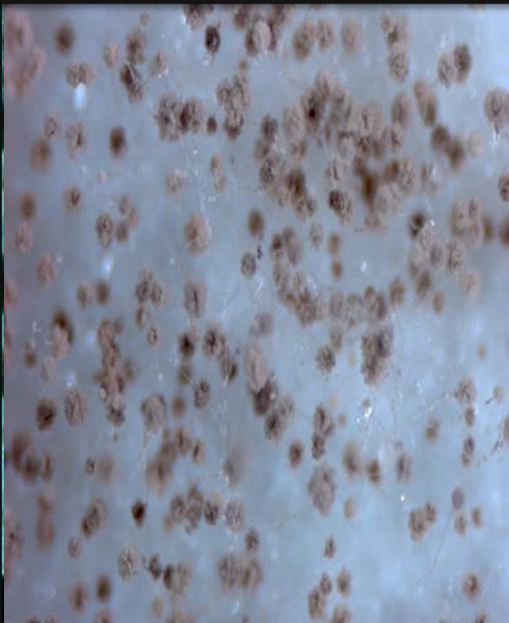


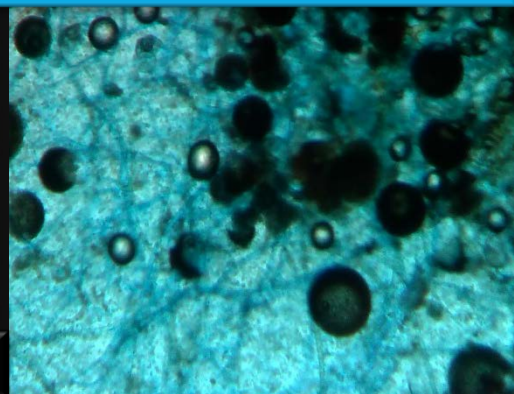
ESTUDI COMPARATIU DELS MICROORGANISMES EN DIFERENTS AMBIENTS



Autora: Valeria Colmena Rubil

Tutora: Marina Font

Institut Santa Eugènia



Treball de recerca 2013-2014

0. ÍNDEX

PÀGINA

| | |
|---|----|
| 1.INTRODUCCIÓ..... | 1 |
| 2.HIPÒTESIS..... | 3 |
| 4.METODOLOGIA EMPRADA..... | 5 |
| 5. RECERCA BIBLIOGRÀFICA: Característiques dels microorganismes | 10 |
| 5.1 Diversitat microbiana procariota..... | 10 |
| 5.1.1 Els proteobacteris..... | 10 |
| 5.1.2 Els bacteris gram positiu..... | 11 |
| 5.1.3 Els Arqueus..... | 11 |
| 5.2 Diversitat microbiana eucariota..... | 12 |
| 5.2.1 Els protozous..... | 12 |
| 5.2.2 Els fongs..... | 12 |
| 5.2.3 Les algues unicel·lulars..... | 14 |
| 5.3 Diversitat microbiana viral..... | 15 |
| 5.4 La vida sobre la terra a través del temps..... | 16 |
| 5.5 Microbiota normal del cos humà..... | 17 |
| 5.6 Malalties bacterianes..... | 18 |
| 5.7 Microorganismes utilitzats a la microbiologia industrial..... | 19 |
| 5.7.1 Els microorganismes i l'agricultura..... | 20 |
| 5.7.2 Els microorganismes i els aliments..... | 20 |
| 5.7.3 Els microorganismes, l'energia i el medi ambient..... | 20 |
| 5.8 .Afectació al medi ambient..... | 21 |
| 5.8.1 Distribució temporal i espacial dels aerobacteris..... | 22 |
| 5.8.2 Dispersió dels microorganismes..... | 23 |
| 6. ESTUDI DELS MICROORGANISMES A NIVELL MOLECULAR..... | 24 |
| 6.1.Estructura bacteriana..... | 24 |
| 6.2. Elements comuns..... | 24 |
| 6.2.1 Paret cel·lular..... | 24 |
| 6.2.2 Membrana plasmàtica..... | 24 |
| 6.2.3 El citoplasma..... | 25 |
| 6.2.4 Regió nuclear..... | 25 |
| 6.2.5 Ribosomes | 25 |

| | |
|---|----|
| 6.3 Elements facultatius | 25 |
| 6.3.1 Flagels..... | 25 |
| 6.3.2 Pèls..... | 26 |
| 6.3.3 Endòspores..... | 26 |
| 6.3.4 Càpsula..... | 26 |
| 6.4 Tinció de gram..... | 27 |
| 6.5 Morfologia..... | 28 |
| 6.6 Funcions..... | 29 |
| 7. TÈCNIQUES DE LABORATORI..... | 30 |
| 7.1 Material i equipament bàsic..... | 30 |
| 7.1.1 Material de vidre..... | 30 |
| 7.1.2 Material extra..... | 30 |
| 7.1.3 Aparells..... | 30 |
| 7.2 Tipus de medis de cultiu..... | 32 |
| 7.2.1 Medi de desenvolupament..... | 32 |
| 7.2.2 Medi selectiu..... | 32 |
| 7.2.3 Medi diferencial..... | 32 |
| 8. TREBAL AL LABORATORI..... | 34 |
| 8.1 PRÀCTICA 1: Preparació de medis de cultiu..... | 35 |
| 8.2 PRÀCTICA 2: Degradació de Manitol i Mc.Conkey..... | 36 |
| 8.3 PRÀCTICA 3: Mètode de recompte de microorganismes | 38 |
| 8.4 PRÀCTICA 4: Recompte directe de microorganismes | 42 |
| 8.5 Mètodes d'aïllament i de conservació de microorganismes | 44 |
| 8.5.1 Tècnica d'enriquiment del cultiu..... | 44 |
| 8.5.2 Tècnica de dilucions en sèrie..... | 44 |
| 8.5.3 Tècnica d'aïllament per estries a la placa..... | 44 |
| 8.5.4 Tècnica d'aïllament en forma de ziga-zaga..... | 44 |
| 8.6 PRÀCTICA 5: Observació de microorganismes a partir de tincions..... | 45 |

| | |
|---|----|
| 8.7 Identificació de microorganismes..... | 48 |
| 8.8 PRÀCTICA 6: Proves per identificar microorganismes | 49 |
| 8.8.1 Presència d'oxidasa..... | 49 |
| 8.8.2 Mètode miniaturitzat: API 10S..... | 50 |
| 9. TREBALL DE CAMP..... | 57 |
| 9.1 Procediment 1: Obtenció de mostres/ Àrees interior i exteriors..... | 59 |
| 9.2 Procediment 2: Funcionament de l'aparell MAS-100 Eco..... | 60 |
| 9.3 Reportatge gràfic del procediment realitzat..... | 61 |
| 9.4 Funcionament de la Taula de Feller..... | 65 |
| 9.5 Taula de mostrejos per sedimentació | 67 |
| 9.6 Càlculs del recompte de colònies que determinaran la realitzar taules que representin les dades obtingudes | 68 |
| 9.7 Taules gràfiques: medi LB i Sabouraud..... | 70 |
| 9.8 Representació de les dades mitjançant gràfics..... | 74 |
| 9.9 Identificació dels microorganismes obtinguts als mostrejos..... | 78 |
| 9.9.1 Estudi de les fotografies de bacteris | 80 |
| 9.9.2 Estudi de les fotografies de fongs | 81 |
| 10. ESTUDI DE LES DADES MICROBIOLÒGIQUES OBTINGUDES EN DIFERENTS AMBIENTS..... | 86 |
| 10.1 Estudi del control microbiològic la Facultat d'Enginyeria de la UAB | 86 |
| 10.1.1 TAULA 1: estudi de la influència que exerceix la presència i absència de persones sobre els microorganismes en tres moments concrets del dia | 87 |
| 10.1.2 TAULA 2: Gèneres de bacteris i fongs | 88 |
| 10.1.3 TAULA 3: Gènere i freqüència de bacteris i fongs..... | 88 |
| 10.1.4 Avaluació de les taules gràfiques i extracció de conclusions..... | 90 |
| 11.2 Estudi de la qualitat de l'aire d'edificis per l'agència de protecció del medi ambient dels Estats Units..... | 92 |

| | |
|---|------------|
| 11.3 SÍNDROME DE L'EDIFICI MALALT..... | 94 |
| 11.3.1 Primera fase: inspecció inicial..... | 94 |
| 11.3.2 Segona fase: avaluació inicial..... | 94 |
| 11.3.3 Tercera fase: determinació de compostos específics..... | 95 |
| 11.3.4 Conseqüències..... | 95 |
| 11.3.5 Risc que pot comportar | 95 |
| 11.3.6 Fonts de contaminació i contaminants biològics..... | 96 |
| 11.3.7 Malalties més freqüents dintre d'ambients amb mala qualitat..... | 97 |
| 12.CONCLUSIONS..... | 98 |
| 13.AGRAÏMENTS..... | 101 |
| 14. GLOSSARI..... | 102 |
| 15. BIBLIOGRAFIA..... | 104 |
| ANNEX I: ENTREVISTA A OLGA FERNÁNDEZ..... | 106 |
| ANNEX II: ANTIBIOGRAMA..... | 108 |
| ANNEX III: NOTICIES RELLEVANTS..... | 112 |
| ANNEX IV: SERVEI DE MICROSCÒPIA | 116 |

1. INTRODUCCIÓ

El següent treball de recerca està centrat en l'estudi dels microorganismes que habiten als espais exteriors i interiors. Principalment vaig formular-me una sèrie de preguntes: Convivim amb organismes vius? Poden ser patògens? Com ens afecten? Què poden produir?. Encara que no donem importància a allò que no es pot veure, hem de ser conscients que vivim en un món envoltats d'organismes que poden ser beneficiosos, però també patògens. Un cop vaig obtenir informació extreta de llibres, articles, enciclopèdies vaig decidir endinsar-me en el tema. A l'institut no disposava dels suficients estris per realitzar cada experiment, no m'ho podien subvencionar i vaig decidir inscriure'm al Programa Argó. Després d'una llarga espera vaig rebre la resposta; entre tantes sol·licituds vaig ser escollida per participar al campus de la Universitat Autònoma de Barcelona. Tres setmanes de treball intens, on vaig poder iniciar el meu treball de recerca i realitzar la part experimental gràcies al material que van facilitar-me.

Per què vaig escollir aquest tema? Llegint vaig veure una curiositat que em va cridar l'atenció: una gran varietat de microorganismes canvien la seva localització geogràfica durant el seu cicle de vida. Per què passa això? Els microorganismes estan sempre presents a l'atmosfera, encara que el seu nombre i viabilitat canviïn constantment durant les hores del dia. Les condicions del temps, les estacions de l'any i la ubicació geogràfica són factors que influeixen en aquest canvi. La mida de la biota que flueix a l'atmosfera varia des de micròmetres, com es el cas de virus, bacteris, espores.. fins a mil·límetres com els insectes sense ales i les llavors.

Poca gent ha sentit parlar de l'aerobiologia, una disciplina relativament nova que va sorgir al 1930 i s'encarrega d'estudiar el transport passiu dels microorganismes, la seva identificació, comportament, moviment i supervivència. Aquest estudi està relacionat amb la microbiologia, la física i la química atmosfèrica.

L'atmosfera en general no es considera un hàbitat dels microorganismes, ja que no tots són capaços de reproduir-se allà. Durant el seu transport impacten sobre un organisme o un medi amb les condicions òptimes per créixer. Tot i així, l'atmosfera té una gran rellevància des del punt de vista ecològic, pel grau de dispersió que pot adquirir i que difícilment aconseguirien al seu hàbitat terrestre o aquàtic.

Els estudis aerobiològics es van iniciar com a resultat d'un interès epidemiològic, per tractar patògens d'animals, plantes o del ésser humà. Aquest tipus d'investigacions ha augmentat a l'àrea agrícola, incloent plaguicides microbians. A les zones urbanes s'ha registrat la introducció de microorganismes a l'atmosfera associats a la contaminació dels vehicles i la densitat de la població.

La majoria dels bacteris que entren a l'atmosfera provenen de fonts naturals com la vegetació, el sòl i els ambients aquàtics. Hem de tenir en compte que el grau de dispersió està condicionat per factors biològics i meteorològics com és el cas del vent, la radiació solar, la temperatura, la humitat...

La presència de microorganismes a l'atmosfera ha estat demostrada pel seu creixement en medis de cultiu, però això només es considera una petita fracció de la població bacteriana que arriba a l'atmosfera, de manera que la majoria podria estar morta o trobar-se en forma viable no cultivable.

Un cop vaig assimilar tota aquesta informació, em va semblar un tema molt interessant. Vaig decidir fer aquest estudi perquè m'agrada el treball al laboratori que estigui relacionat amb la natura.

Un dels requeriments que ha comportat el fet de treballar amb microorganismes, ha estat el seguiment continu per veure com evolucionaven i es comportaven els diversos fongs i bacteris cultivats obtinguts en diversos espais físics.

Per poder assolir tots els objectius del treball vaig realitzar molts experiments previs, amb la finalitat d'augmentar el grau de confiança a l'hora de realitzar el treball de camp específic. He après molts mètodes eficaços per determinar l'espècie de bacteri que s'obté d'un medi.

S'ha de dir que les fotografies són pròpies, vaig realitzar-les durant l'estada al campus, excepte aquelles que s'han inclòs a l'apartat bibliogràfic.

En definitiva, les ganes de treballar i la curiositat respecte el tema escollit van fer que aprofités al màxim aquesta oportunitat i extragués la suficient informació per enllestir el treball.

"Cal investigar més a l'àmbit de microbiologia, mitjançant diversos mètodes relacionats amb bacteris es poden arribar a extreure productes que poden millorar la nostra societat."

3. HIPÒTESI

Després de realitzar la recerca bibliogràfica i el treball de camp podré comprovar si les hipòtesis conegüents són certes o falses:

- 1. Hi ha més quantitat de bacteris presents a l'atmosfera a les ciutats que a les zones rurals.**
 - 2. Dins d'espais tancats la concentració de microorganismes ha de ser més petita que als espais exteriors.**
 - 3. La presència de bacteris a l'ambient pot comportar riscos per la salut.**
 - 4. En llocs tancats el desenvolupament de fongs és independent de la presència de persones.**
 - 5. El desenvolupament de determinats microorganismes pot arribar a provocar el tancament d'un edifici.**
- La primera hipòtesi vaig formular-la a partir d'un article dirigit als ciutadans amb la finalitat d'insistir en l'augment considerable de bacteris a les ciutats causat per la gran contaminació que produeixen els transports i la quantitat de residus que produïm. Tot aquest cúmul de factors influencien en l'augment de microorganismes. S'ha de dir que no tots són perjudicials, però si resulten ser patògens contagiosos poden arribar a produir efectes nocius sobre l'humà i l'economia del país, ja que s'hauria d'aplicar més mesures preventives i mètodes per eradicar aquelles espècies trobades als paràmetres de control. Mitjançant una recerca bibliogràfica al llarg d'aquest treball podré comprovar si aquesta hipòtesi és certa.
 - La confirmació de la segona hipòtesi serà la més complexa, així doncs, m'ocuparà la major part del treball. Hauré d'aprendre com es prenen les mostres, quines són les tècniques de laboratori més convenientes i com procedir per interpretar les dades. Mitjançant una anàlisi de diversos espais tancats i oberts podré concloure si la concentració de microorganismes és més gran en espais exteriors que interiors.

- La tercera hipòtesi vaig formular-la a partir d'informació extreta de la recerca bibliogràfica. Podré confirmar si és certa o falsa a partir de les diverses legislacions que delimitin el nombre de microorganismes i les malalties produïdes tant en ambients tancats com oberts.
- A partir dels cultius obtinguts durant el mostreig d'espais tancats i oberts, realitzaré una sèrie de taules i gràfics on es podrà comprovar la variació de fongs depenent de la presència o absència de persones i consegüentment, podré consolidar la quarta hipòtesi. Tot seguit examinaré els fongs que hauré obtingut a les plaques de Petri mitjançant el servei de lupes de la Universitat Autònoma de Barcelona i intentaré identificar algunes de les espècies. Adjuntaré fotografies on es podrà veure la textura i les diferents formes que tenen. Finalment, citaré els fongs més abundants i realitzaré una petita descripció de cadascun.
- La cinquena i última hipòtesi vaig plantejar-la en fer-me la següent pregunta: Els microorganismes poden produir tancaments d'edificis?. Mitjançant una recerca bibliogràfica, llegint i consultant diversos estudis arreu del món podré confirmar si la hipòtesi és certa o falsa.

2. OBJECTIU DEL TREBALL

L'objectiu principal és obtenir més coneixements sobre aquest tema ja que possiblement al futur em decanti cap a l'àmbit de microbiologia o biologia molecular. Per confirmar o rebutjar les hipòtesis em marcaré els següents objectius:

- Conèixer i utilitzar diferents eines existents en l'actualitat per cercar informació relacionada amb una temàtica científica de les Ciències de la Vida.
- Consultar d'informació sobre la diversitat microbiana i la seva història.
- Conèixer els elements i les característiques morfològiques que constitueixen els bacteris.
- Conèixer les funcions que realitzen els microorganismes.
- Determinar quines són les tècniques del laboratori: conèixer quin és l'equipament bàsic, el material i els aparells que s'utilitzen.
- Realitzar les tècniques microbiològiques indispensables pel cultiu de microorganismes: diversos mètodes eficaços per aïllar, identificar i analitzar bacteris.
- Fer un disseny experimental per tal d'analitzar diversos espais (oberts i tancats) mitjançant la manipulació d'eines de laboratori.
- Observar i identificar els resultats obtinguts.
- Interpretar els resultats elaborant gràfics i taules per aclarir tota la informació obtinguda.
- Realitzar una recerca bibliogràfica per estudiar les dades microbiològiques obtingudes en diferents ambients i relacionar-les amb el síndrome de l'edifici malalt.
- Documentar el treball amb fotografies fetes de primera mà.
- Redactar unes conclusions finals.

4. METODOLOGIA EMPRADA

1- Investigar, buscar, i seleccionar informació.

Extracció d'informació d'enciclopèdies, dossiers, estudis microbiològics.. Els diaris han sigut un gran recolzament ja que he pogut comparar diversos articles escrits actualment amb els de fa uns anys. Aquesta comparació m'ha permès apreciar les noves invocacions en l'àrea de microbiologia. La gran enciclopèdia, "Brock" ha sigut una eina molt útil, la qual m'ha permès extreure informació i imatges per concretar el treball bibliogràfic.

2- Realització de diversos mètodes per facilitar la manipulació de les eines a l'hora de realitzar el treball de camp

Mitjançant diversos mètodes microbiològics, com el mètode de recompte de microorganismes, l'observació de microorganismes a partir de tincions, han pres un paper molt important durant la realització del treball de camp. Aquests diversos mètodes han estat de gran ajuda per aprofundir el meu coneixement en l'àmbit de laboratori. Com encendre el Bunsen, com manipular els objectes mantenint la seva esterilització, normes de seguretat que limitaven la total mobilitat dels estris sobre la taula.. Per respondre a tots aquests dubtes, durant una setmana em vaig dedicar a realitzar tots els processos previs per facilitar la manipulació quan hagués d'obtenir microorganismes directament extrets del medi.

3- Observació dels cultius obtinguts als mètodes previs.

Durant les pràctiques prèvies al treball de camp, vàrem realitzar una senzilla pràctica per obtenir bacteris i fongs localitzats en llocs comuns com per exemple, l'interruptor de la llum, la barra de les escales o qualsevol mànec. Durant mitja hora vam recórrer la planta de la universitat de biociències (exclusivament en l'àmbit de microbiologia) observant i buscant els elements més manipulats per obtenir un major cultiu a les plaques de Petri . A la pràctica 3 es poden observar els resultats.

4- Mostreig de diverses àrees interiors i exteriors.

El treball de camp supervisat per la monitora microbiòloga al campus Argó, consistia en un mostreig de diverses àrees, tant exteriors com interiors, que posteriorment podrem veure al treball. Hem constatat una sèrie d'hipòtesis que podrem resoldre gràcies a les dades obtingudes als mostrejos i l'anàlisi directe. El principal avantatge va ser la supervisió d'una professional que va guiar-me durant el procés d'extracció de mostres. Un dels inconvenients va ser a l'hora de mesurar els espais tancats on havíem de controlar el moviment del personal, ja que per estudiar la influència que tenen les persones sobre la variació dels microorganismes havien de realitzar-se unes normes que prohibissin el pas als espais que havien de ser mostrejats per després comparar-los amb la quantitat de microorganismes obtinguts en espais públics. Tot i així, vam poder dur a terme l'experiment amb un marge d'error raonable.

5- Estudi i representació de les dades obtingudes al disseny experimental.

Mitjançant la variació de les dades obtingudes a partir de diversos marges d'horari i tipus de placa utilitzada per cada sector, vaig dur a terme diverses taules gràfiques. Utilitzant termes estadístics (mitjana, desviació típica, varianza..) vaig realitzar l'anàlisi dels valors . També vaig calcular l'error relatiu per comprovar la validesa dels resultats . Tenint en compte les observacions precedents, vaig constatar uns resultats òptims que van servir-me pel desenvolupament representatiu de gràfics visuals. Consegüentment, aquestes gràfiques van proporcionar-me ajuda per demostrar la certesa o la falsedat de cada hipòtesi.

6- Identificació dels microorganismes més rellevants durant els diversos mostrejos.

Aquest apartat exposa les fotografies extretes a través del microscopi òptic i el servei de lupes de la Facultat de Biociències de la Universitat Autònoma de Barcelona. Vaig recol·lectar les plaques de Petri amb un major nombre de colònies. Mitjançant la tinció especial per bacteris i fongs vaig observar l'estructura externa dels diversos microorganismes. A més a més, el servei de lupes em va proporcionar una millor visió dels fongs, la qual cosa va permetre'm identificar l'espècie.

No obstant, em van sorgir alguns inconvenients a l'hora de realitzar la identificació dels fongs basant-me en fotografies de llibres bibliogràfics. Tot i així, mitjançant les diverses característiques morfològiques recollides vaig aconseguir relacionar l'espècie amb la fotografia. Tot seguit, vaig descriure algunes de les imatges més representatives.

7- Estudi de les dades obtingudes de Departaments d'Investigació de Microbiologia de diferents llocs del món.

Vaig reunir una sèrie de treballs i estudis realitzats a diverses Universitats i Departaments microbiològics. Els més característics i dels quals vaig poder extreure taules per comparar els meus resultats van ser l'estudi realitzat a la UAB i als Estats Units (EPA). Les dades recollides sobre la variació de microorganismes en diferents ambients permeten preveure els microorganismes més comuns a cada espai. D'acord amb els experts, vaig poder reunir unes semblances entre els seus resultats i els meus, tot i que ells van dur a terme els seus experiments amb material precís i d'alt valor econòmic.

8- Elaboració d'un reportatge a la Universitat Autònoma de Barcelona.

Durant l'estada a la UAB, vaig tenir l'oportunitat de filmar diversos experiments, inclòs el treball de camp. Amb l'ajuda de la companya i la monitora amb les quals compartia majoritàriament el temps emprat en realitzar les pràctiques, vam realitzar un muntatge en el qual es pot veure i escoltar les explicacions referents als mètodes i l'experiència viscuda. En aquest treball adjunto un reportatge gràfic on es poden veure totes les fotografies extretes de primera mà que visualitzen el procediment d'extracció de mostres.

9- Redacció de les conclusions que donen resposta a les hipòtesis plantejades principalment.

Un cop finalitzat el treball, he analitzat els resultats obtinguts a partir de la informació extreta de la recerca bibliogràfica i la part experimental. Tot seguit he redactat unes conclusions que justifiquen l'afirmació o la falsedat de les hipòtesis plantejades principalment.

RECERCA BIBLIOGRÀFICA

5. CARACTERÍSTIQUES DELS MICROORGANISMES

5.1 DIVERSITAT MICROBIANA PROCARIOTA

5.1.1 Els proteobacteris

Els proteobacteris inclouen la majoria dels bacteris coneguts com importància mèdica, agrícola o industrial. Són gram negatiu i tenen una gran diversitat fisiològica, com per exemple espècies anaeròbiques, aeròbiques.. Morfològicament també mostren una gran varietat de formes cel·lulars, bacils rectes, cocos, espirals..

Gèneres principals:

| | |
|----------------|--|
| ALFA | Acetobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Brucella, Ehrlichia, Gluconobacter, Paracoccus, Rhizobium.. |
| BETA | Aquaspirillum, Chromobacterium, Gallionella, Neisseria, Polaromonas, Rhodocylus, Sphaerotilus, Thiobacillus.. |
| GAMMA | Acetobacter, Acinetobacter, Chromatium, Escherichia, Legionella, Pseudomonas, Methylococcus, Thermocromatium, Salmonella, Xanthomonas.. Dintre dels Gamma es forma un subgrup anomenat Enterobacteri , format per bacils gram negatiu anaeròbics que inclou aquest gèneres: Escherichia, Salmonella, Proteus i Enterobacter . |
| DELTA | Acinetobacter, Francisella, Geobacter, Moraxella, Mycrococcus.. |
| EPSILON | Campylobacter, Helicobacter, Thiovolum, Wolinella.. |

Taula 1. Gèneres principals bacterians.

Font: Elaborada a partir de les dades del llibre "Brock". Biología de los microorganismos. Unitat 3: La diversitat microbiana.

5.1.2 Els bacteris gram positiu

Els bacteris gram positiu són un grup molt gran i divers. Algunes de les espècies més significatives:

| | |
|---------------------------|--|
| MICROCOCCUS | Bacteri aeròbic. |
| STAPHYLOCOCCUS | Únic gènere del grup que conté àcid teicoic a la paret cel·lular. |
| STOMATOCOCCUS | Únic gènere del grup que té càpsula. |
| PLANOCOCCUS | Habita a ambient marins. |
| SARCINA | Extremadament tolerant a l'acidesa, té cel·lulosa a la paret cel·lular. |
| RUMINOCOCCUS | Bacteri anaeròbic, habita als intestins grossos de molts animals. |
| PEPTOCOCCUS | Bacteri anaeròbic, fermenta peptona però no sucres. |
| PEPTOSTREPTOCOCCUS | Bacteri anaeròbic, fermenta peptona, habita a la flora intestinal humana, a la pell, intestins.. |

Taula 2.

Font: Elaborada a partir de les dades del llibre "Brock". *Biología de los microorganismos. Unitat 3: La diversitat microbiana.*

5.1.3 Arqueus

Els arqueus constitueixen un dels tres dominis de la vida. Comparteixen moltes característiques amb els bacteris i eucariotes, però són evolutivament diferents. Per exemple, al igual que els bacteris, els arqueus tenen una estructura cel·lular procariota.



Figura 1. Microfotografia amb el microscopi electrònic de seccions fines del gènere *Halobacterium salinarum* (Arqueus).

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos. Unitat 3. Els arqueus.*

5.2 DIVERSITAT MICROBIANA EUCARIOTA

5.2.1 Els protozous

Els protozous van ser descoberts fa més de 325 anys per Van *Leeuwenhoeck*. Es caracteritzen per ser eucariotes unicel·lulars, sense paret cel·lular, mòbils i no pigmentats encara que hi ha moltes excepcions a aquesta descripció . Per exemple, molts són fotòtrofs i per tant pigmentats. Habiten en molts ambients diferents.

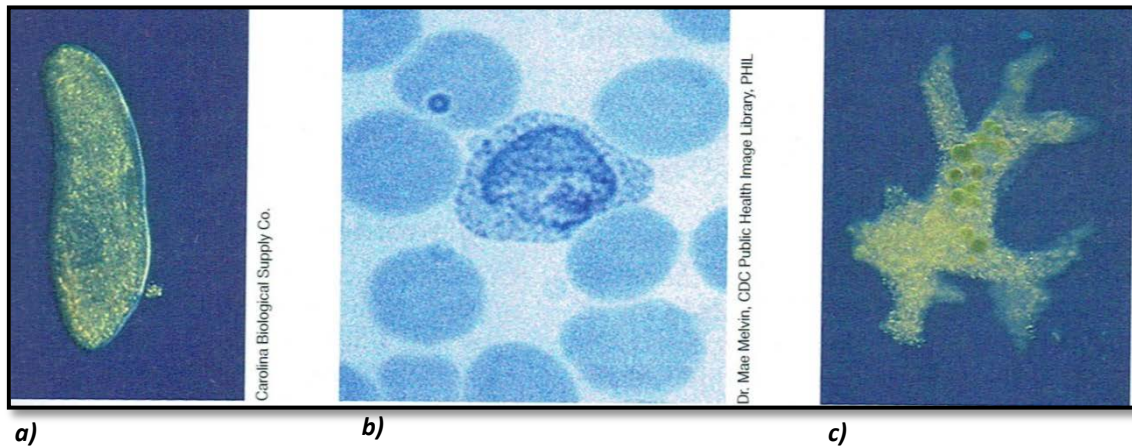


Figura 2. Protozous típics. (a) *Paramecium*. (b) *Plasmodium vivax*, desenvolupant-se a l'interior d'un glòbul vermell. (c) *Amoeba*.

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos*. Unitat 3.III Els protozous.

5.2.2 Els fongs

Els fongs constitueixen un gran grup d'organismes divers i molt extens, que inclou les **floridures, bolets i llevats**. S'han trobat 100.000 espècies de fongs i s'estima que podrien existir fins 1,5 milions d'espècies. Tenen hàbitats molt diferents, alguns fongs són aquàtics, fonamentalment d'aigua dolça , encara que es coneixen algunes espècies marines . Tot i així, la majoria dels fongs són terrestres. Habiten al terra o a la matèria vegetal morta i realitzen una important funció a la mineralització del carboni orgànic. Un gran número de fongs són paràsits de les plantes. Poden arribar a originar moltes malalties sobre plantes cultivades provocant una rellevància econòmica considerable. Alguns fongs causen malalties als animals i fins i tot als éssers humans, encara que hi ha altres organismes més patògens per la salut humana. Els fongs també poden establir associacions simbiòtiques amb moltes plantes, facilitant-los els minerals del sòl. Hem de tenir en compte, que també col·laboren de forma beneficiosa amb els homes, mitjançant la síntesi d'antibiòtics i processos fermentatius per realitzar productes alimentaris.

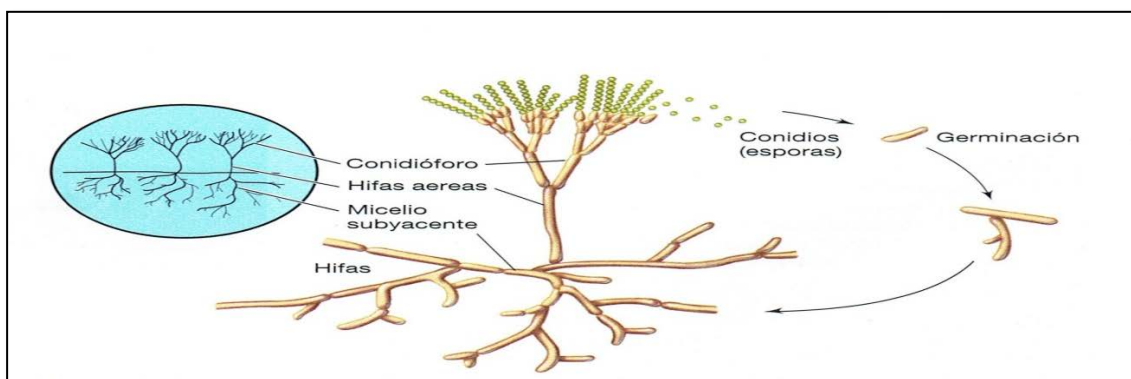


Figura 3. Diagrama del cicle d'una floridura.

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos. Unidad 3.IV Els fongs.*

La majoria dels fongs són multicel·lulars i formen filaments anomenats hifes. Les hifes estan formades per parets cel·lulars tubulars que envolten la membrana citoplasmàtica. Habitualment creixen juntes sobre una superfície i formen una estructura compacte, anomenat miceli o floridura i són fàcilment visibles. La presència d'espores dóna al miceli un aspecte polvorí.

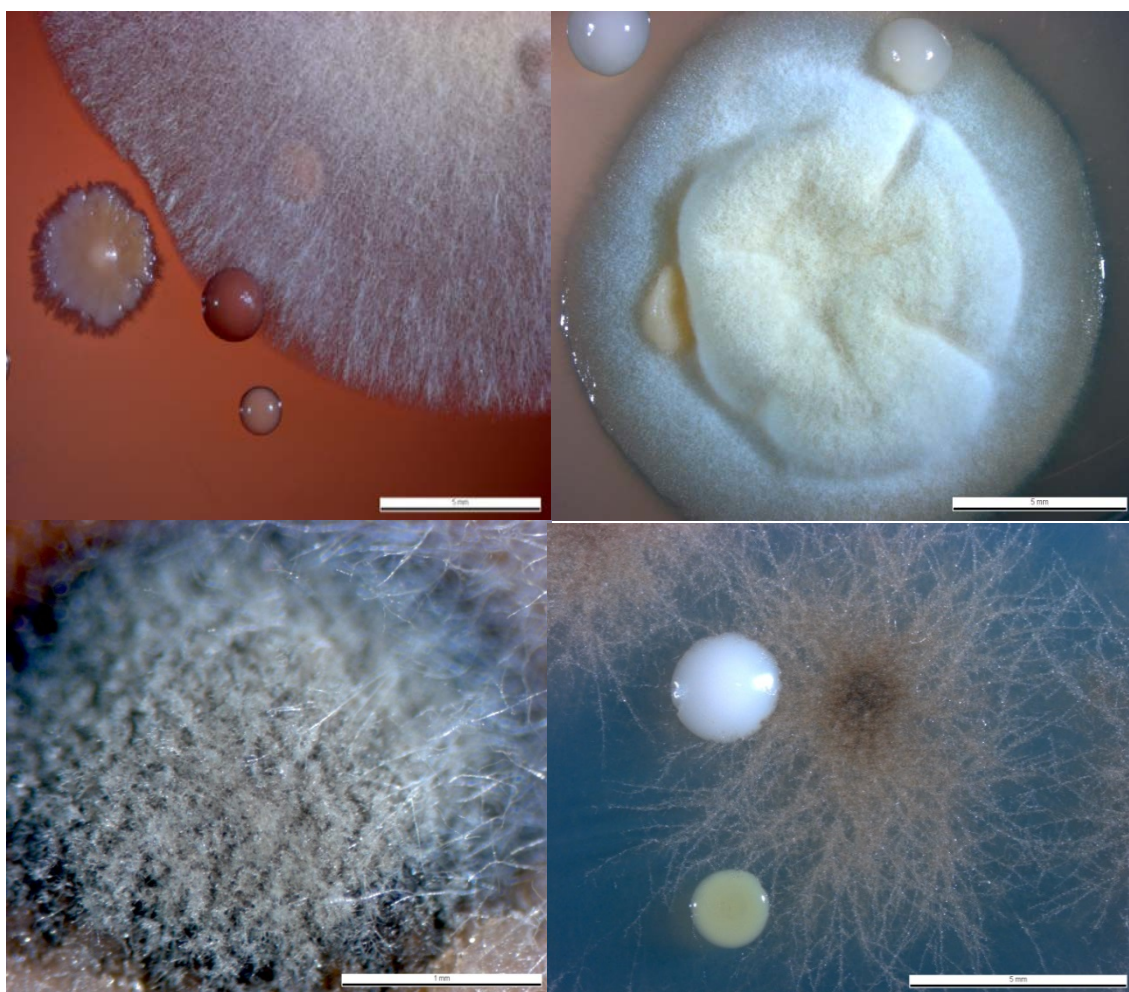


Figura 4. Fotografies pròpies, obtingudes dels cultius de l'anàlisi d'espais. Realitzades a la Universitat Autònoma de la UAB mitjançant el servei de lupes.

5.2.3 Les algues unicel·lulars

Les algues unicel·lulars són eucariotes fototròfies; es van originar a partir d'una endosimbiosis, el manteniment d'un cianobacteri per part d'una cèl·lula eucariota heteròtrofa. Els principals gèneres són les algues vermelles i verdes.

Les algues vermelles, es troben principalment als hàbitats marins, encara que algunes espècies viuen als hàbitats terrestres o aigua dolça. Són fototròfies i contenen clorofil·la.



Figura 5. Polysiphonia, alga vermella marina.

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos. Unitat 3. V Les algues.*

Les algues verdes, també anomenades cloròfits, normalment habiten a aigües dolces, encara que també viuen a ambients marins, terres humits o la neu. Presenten diverses morfologies, i poden ser unicel·lulars i filamentoses. Són totes fotosintetitzadores (autòtrofes). Són la base dels ecosistemes aquàtics. Les algues es classifiquen segons els pigments que contenen, existeixen algues verdes, brunes, vermelles Les algues lliures normalment són arrossegades pels corrents de l'aigua, o bé n'hi ha que es desplacen mitjançant cilis o flagels. Les algues unicel·lulars constitueixen el fitoplàncton.

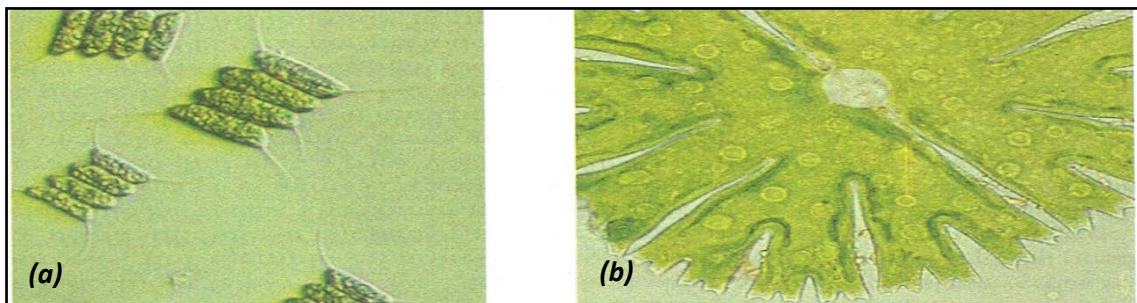


Figura 6. (a) Scenedesmus. Paquets de quatre cèl·lules. b) Micrasterias. Una cèl·lula té uns 100µ d'amplada.

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos. Unitat 3. V Les algues.*

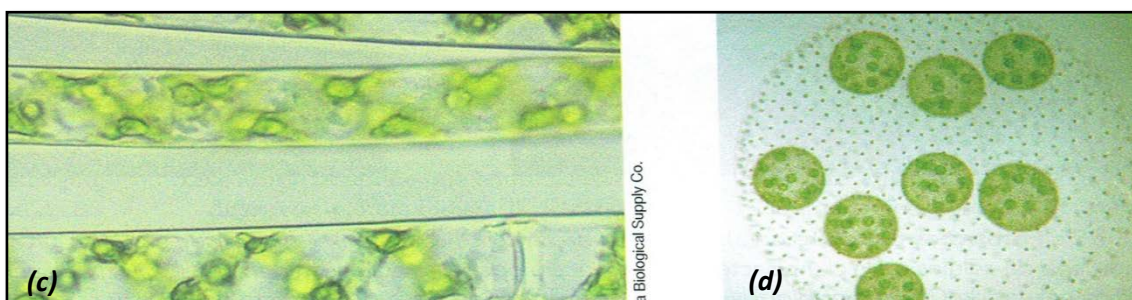


Figura 7. (c) *Spirogyra*, una alga filamentosa de cèl·lules d'uns 20 µm d'amplada. Es poden veure els cloroplasts verds. (d) Una colònia de *Volvox* amb vuit colònies filles. Cada colònia té uns 50µm d'amplada. La colònia està formada per centenars de cèl·lules somàtiques flagel·lades (els punts petits que s'observen a la superfície de la colònia).

Font: "Brock" *Biología de los microorganismos. Unitat 3. V Les algues.*

5.3 DIVERSITAT MICROBIANA VIRAL

Els virus són microorganismes que tan sols es poden observar amb el microscopi electrònic, no tenen estructura citoplasmàtica i cap orgànel·la cel·lular. Els virus només es reproduïxen dintre de les cèl·lules d'animals, vegetals i altres

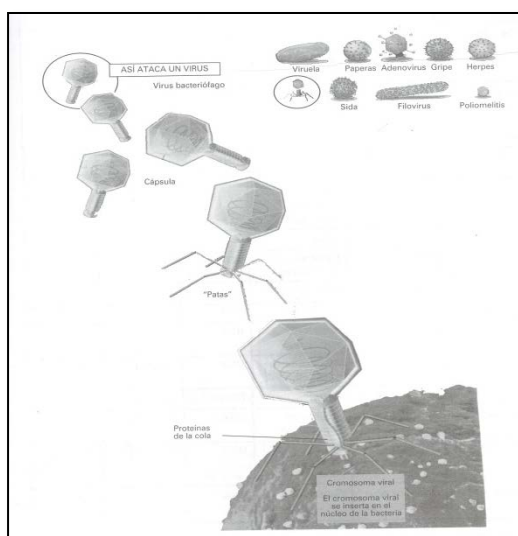


Figura 8. Procediment del virus que infecta un bacteri.

Font: "Microbiología. Características y clasificación bacteriana. Virología y técnicas"

microorganismes, per tant es consideren paràsits obligats. Són incapaços de generar energia o sintetitzar proteïnes. Els gens vírics posseeixen informació genètica per la reproducció i per apoderar-se dels sistemes generadors d'energia i de síntesi de proteïnes de la cèl·lula hoste. El material genètic està tancat per una coberta proteica molt especialitzada que protegeix el virus quan està fora de la cèl·lula hoste. Els virus provoquen moltes malalties infeccioses, algunes lleus però altres cròniques.

Un dels virus més estudiats són els bacteriòfags que proporcionen als microbiòlegs un model per l'estudi dels virus i de la biologia molecular. Els bacteriòfags són virus que infecten bacteris, es consideren entitats biològiques molts petites i senzilles. Tenen la capacitat d'auto replicar-se, és a dir, de fer-se còpies a si mateix. Són molt útils pels estudis sobre la interacció bacteri-bacteriòfag, per conèixer les relacions hoste-paràsit i per millorar el coneixement de les infeccions vegetals i animals.

5.4 LA VIDA SOBRE LA TERRA A TRAVÉS DEL TEMPS

L'edat de la Terra és d'uns 4,6 milions de milions d'anys. Els científics tenen evidències que la vida va aparèixer al nostre planeta fa 3,8-3,9 mils de milions d'anys i que aquests primers microorganismes eren exclusivament microbians. Els microorganismes han sigut l'única forma de vida a la Terra durant la major part de la seva història.

Durant els 2 primers milers de milions d'anys de la seva existència, l'atmosfera de la Terra no contenia oxigen, estaven presents el nitrogen, el diòxid de carboni i altres gasos. En aquestes condicions només podien viure microorganismes amb metabolisme anaeròbic (no utilitzaven oxigen en els seus processos metabòlics). Aquests estaven representats per molts tipus cel·lulars, els anomenats metanògens, productors de metà. L'aparició dels microorganismes fotòtrofs- organismes que obtenen energia de la llum solar- es va produir als primers mil milions d'anys de la història terrestre. Quasi mil milions d'anys després, els cianobacteris van evolucionar a partir d'aquests fotòtrofs i van començar a oxigenar l'atmosfera. Amb el temps els microorganismes es van diversificar i van arribar a colonitzar cada hàbitat terrestre capaç de mantenir vida.

Els càlculs sobre el número de cèl·lules microbianes existents a la Terra senyalen que el total és de 5×10^{30} cèl·lules.

Les cèl·lules microbianes encara que es considerin una subunitat de dimensions molts petites, constitueixen la major proporció de biomassa sobre la Terra i funcionen com a reserves importants de nutrients essencials per la vida. La majoria de les cèl·lules microbianes no es troben a la superfície terrestre sinó a les capes profundes dels oceans i l'escorça terrestres.

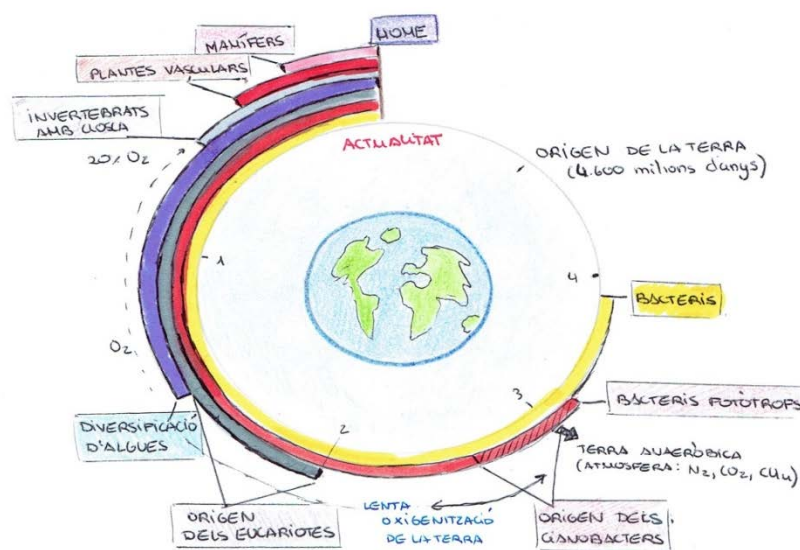


Figura 9. Evolució de la vida sobre la terra.

5.5 MICRO

Font: Elaboració pròpia.

Molts microorganismes viuen part de la seva vida en una relació ecològica especial: una part important del seu ambient és un membre d'una altra espècie. La **flora microbiana normal o microbiota** és el conjunt de microorganismes associats amb el cos humà. Les interaccions entre l'hoste (com per exemple el cos humà) i el microorganisme són dinàmiques, d'aquesta manera es crea un nínxol que origina beneficis pel microorganisme i en alguns casos per l'hoste. Aquest tipus de tolerància d'una flora normal, suggereix que l'hoste obtingui un benefici. Les variacions dels nínxols microbians, estan relacionats amb l'edat, el gènere, la dieta... En general, la flora microbiana normal d'un adult és relativament constant. La supervivència de l'hoste (ésser humà) depèn d'una sèrie de defenses que eviten que els microorganismes nocius i altres materials estranys entrin al cos. Si aconseguixen accedir-hi, s'activen les defenses de l'hoste per evitar que estableixin un altre tipus de relació, la **patogenicitat**.

La **patogenicitat** és la capacitat de produir canvis patològics o malalties. Un patògen és qualsevol microorganisme que produeix una malaltia. La microbiota normal humana, no funciona com a patògen, sinó com a simbiònt formant part de la primera línia de defensa de l'hoste davant d'agents infecciosos nocius.

El desenvolupament d'una relació simbiòtica per tota la vida amb els microorganismes comença durant el naixement. L'exposició del nadó al cabell, la pell, els aliments i altres objectes fa que es comenci a desenvolupar aquesta línia de microorganismes que actuaran com a defensa. El fetus quan està dintre de l'úter normalment està lliure de microorganismes. A mesura que creix, comença a adquirir una microbiota normal, la població microbiana s'estabilitza durant la primera o segona setmana de vida. El nadó acabat de néixer probablement adquireix una flora externa d'aquells que s'encarreguen de la seva manutenció. La flora interna l'adquireix a través de la seva dieta.

Els teixits interns (cervell, músculs..) d'un ésser humà adult estan lliures de microorganismes. Inversament els teixits de la superfície (pell i les membranes de mucoses) estan constantment en contacte amb microorganismes ambientals i ràpidament són colonitzades per varies espècies microbianes.

L'ésser humà adult està cobert aproximadament de dos metres quadrats de pell. Aquesta àrea de superfície conté a prop de 10^{12} bacteris. Els microorganismes que viuen a la pell o dintre d'ella poden ser de la microbiota resident (normal). Aquells microorganismes que estan temporalment presents són els transitoris. Aquests són incapaços de multiplicar-se. La pell és una barrera forta contra la invasió microbiana. Pocs microorganismes penetren a la pell perquè la seva capa externa consta de cèl·lules que impedeixen el seu pas.

A més de la resistència directa a la penetració, el canvi constant de les cèl·lules epitelials externes elimina molts d'aquests microorganismes que s'adhereixen a la superfície.

5.6 MALATIES BACTERIANES

La majoria de les malalties bacterianes transmeses per aire afecten el sistema respiratori. Exemple com la diftèria, la malaltia dels legionaris i la febre de Pontiac, són infeccions provocades per *Mycobacterium avium* i *M. Tuberculosis*.

| <u>Any</u> | <u>Bacteri</u> | <u>Malaltia</u> |
|------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1977 | <i>Legionella pneumophila</i> | Malaltia dels legionaris |
| 1981 | <i>Staphylococcus aureus</i> | Síndrome del xoc tòxic |
| 1982 | <i>Escherichia coli</i> | Colitis hemorràgica |
| 1982 | <i>Helicobacteri pytori</i> | Malaltia de l'úlcera pèptica |
| 1984 | <i>Staphylococcus aureus</i> | Infeccions epidèrmiques |
| 1988 | <i>Salmonella</i> | Salmonel·losis transmesa pels ous |
| 1989 | <i>Enterococcus faecium</i> | Colitis |
| 1990 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | Xoc tòxic |
| 1992 | <i>Bartonella</i> | Malaltia per esgarrapada de gat |
| 1997 | <i>Kingella kingae</i> | Infeccions pediàtriques |
| 2000 | <i>Tropheryma whipplei</i> | Malaltia de Whipple |

Taula 1. Malalties bacterianes que van marcar la història.

Font: Elaborada a partir de diverses dades extretes de l'Enciclopèdia de ciències de la salut.

En aquest requadre tenim algunes de les malalties provocades per bacteris que van marcar a la història. Al 1977 va aparèixer la malaltia dels legionaris, a *Pennsylvania State American Legion Convention*. Els bacteris responsable de l'epidèmia era *Legionella pneumophila*, un bacil gram negatiu aeròbic. Actualment res sap que aquest bacteri forma part de la comunitat microbiana natural del sòl i els ecosistemes aquàtics d'aigua dolça. La infecció amb *Legionella pneumophila* és el resultat de la propagació dels bacteris al sistema respiratori humà. Les persones més grans de 50 anys tenen més risc de patir aquesta malaltia, especialment si el seu sistema immunitari està debilitat a causa del tabac, l'alcohol o una malaltia crònica. El bacteri resideix a l'interior dels alvèols, on es multiplica i produeix una destrucció dels teixits interns. Els símptomes són febre elevada, tos, manifestacions neurològiques.. Des de 1976 s'han identificat molts tipus de casos diferents produïts per *L.pneumophila*. Aquest tipus de bacteri també pot produir una malaltia més lleugera, **febre de Pontiac**. Aquesta provoca símptomes semblants a una malaltia al·lèrgica, apareix febre, marejos i dolors musculars. Es resol espontàniament entre 2 i 5 dies.

Una altra malaltia que va marcar la història va ser la **meningitis**, causada per diferents agents: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Estreptococos grup B*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*.. Els símptomes habituals són febre, mal de coll, vòmits, confusió, mal de cap i de nuca.

Unes altres infeccions pulmonars causades per *M.intracellulare* i *M.tuberculosis*. Un númbre extremadament ampli de micobacteris són residents del sòl, aigua i pols domèstic. Dos d'aquestes, *Mycobacterium avium* i *Mycobacterium intracellulare* es troben en tot el món infectant insectes, ocells i altres animals.

M. tuberculosis continua sent un problema mundial. Un terç de la població mundial esta infectada, 9 milions pertanyen a nous casos i provoca 2 milions de morts anuament.

5.7 MICROORGASNISMES UTILITZATS A LA MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL

5.7.1 Els microorganismes i la agricultura

Molts aspectes importants del nostre sistema d'agricultura depenen d'activitats microbianes. Moltes collites depenen del cultiu de plantes lleguminoses, que viuen formant associació amb bacteris específics. S'encarreguen de crear estructures a les seves arrels, anomenades nòduls on els bacteris duen a terme la transformació del nitrogen atmosfèric (N_2) en nitrogen fix (NH_3). Aquest nitrogen és el responsable del creixement de les plantes. Gràcies a l'activitat d'aquests bacteris fixadors de nitrogen es redueix la necessitat de fertilitzants nitrogenats que poden ser contaminants.

També tenen molta importància els microorganismes que ajuden als animals rumiants com les vaques i ovelles durant el procés digestiu.

Aquests animals tenen un òrgan digestiu especial on s'acumula una densa població de microorganismes que realitzen la digestió de cel·lulosa. Sense aquests microorganismes les vaques i ovelles no podrien digerir aquest nutrient i, per tant, no podrien alimentar-se d'herba.

Els microorganismes també desenvolupen un paper molt important durant el reciclatge dels elements, ja que són essencials per la nutrició vegetal, com el carboni, nitrogen i sofre. Al terra i a l'aigua, les activitats microbianes transformen aquests elements en formes fàcilment assimilables per les plantes.

5.7.2 Els microorganismes i els aliments

Els microorganismes tenen funcions rellevants a la indústria alimentària. Les indústries de llaunes, aliments congelats o aliments dessecats s'han desenvolupat per la conservació d'aquests, ja que d'un altre mode acabarien deteriorats. Les malalties transmeses per aliments també han de tenir-se en compte, l'aliment adequat pel consum humà pot servir per afavorir el creixement de molts microorganismes, i també dels patògens. Tot i així, no tots els microorganismes presents als aliments tenen efectes perjudicials sobre els productes alimentaris. Per exemple, molts productes làctics depenen de transformacions microbianes, com les fermentacions que originen formatges, iogurts o mantegues. Els cogombres i algunes varietats de salsitxes també depenen de fermentacions microbianes. El pa i altres pastes, i les begudes alcohòliques s'originen per les activitats fermentatives dels llevats.

5.7.3 Els microorganismes, l'energia i el medi ambient

Els microorganismes són molt importants per la producció d'energia. El gas natural (metà) és un resultat de l'activitat microbiana. Els microorganismes fotòtrofs poden utilitzar l'energia de la llum per la producció de biomassa, que és l'energia acumulada en forma d'organismes vius. Les escombraries domèstiques, excedents de collites, i residus d'animals poden convertir-se en biocombustibles, com el metanol i l'etanol.



Figura 10. Microorganismes utilitzats pel procés de fermentació.

Font: Fotografia extreta d'internet.



Figura 11. Microorganismes utilitzats en l'àmbit alimentari.

Font: Fotografia extreta d'internet.

5.8 AFECTACIÓ AL MEDI AMBIENT

A l'atmosfera es pot introduir una gran varietat de partícules, com pol·len, espores, bacteris, algues, protozous, insectes i fins i tot virus. Les partícules predominen a les parts baixes de l'atmosfera a prop de les fonts de generació. Alguns fongs i bacteris es troben a 48-77 km d'altura.

Els bacteris constitueixen un dels grups més abundants a l'ambient. En condicions naturals es troben al terra, a l'aigua, a les plantes.. Les activitats antropogèniques, com el tràfic, les plantes de tractament residual, el moviment dels animals, pràctiques agrícoles i la manipulació de material biològic, provoquen una gran alliberació de bacteris que produeixen contaminació.

Els bacteris suspesos a l'atmosfera es troben associats a partícules; per tant la seva concentració augmenta durant l'època seca (els arbres canvien de fulles..). Durant l'època humida el seu nombre disminueix degut a la freqüència de les pluges que netegen l'atmosfera.

FONTS ANTROPOGÈNIQUES I NATURALS QUE CONTRIBUEIXEN A L'AUGMENT DE BACTERIS A L'ATMOSFERA.

| FONT | CONCENTRACIÓ (UFC/m ³) |
|---|--|
| NATURALS | |
| Costa | 560 |
| Bosc | 385-1.2x10 ³ |
| Pastures | 127-587 |
| Matolls desèrtics | 2-283 |
| ANTROPOGÈNIQUES | |
| Zona urbana | 539-7.2x10 ³ |
| Carreteres transitades | 100-13x10 ³ |
| Parcs | 100-2.5x10 ³ |
| Estació de transferència d'escombraries | 350-14x10 ³ |
| Planta de reciclatge d'escombraries | 1.1x10 ³ -2.8x10 ⁷ |
| Planta de tractament d'aigües residuals | 1x10 ² -2x10 ⁵ |
| Zona rural | 202-3.4x10 ³ |
| Camp agrícola | 46-6.5x10 ³ |

UFC :Unitats formadores de colònies

Taula 2. Fonts naturals i antropogèniques que incrementen la concentració de bacteris a l'atmosfera.

Font: Elaborada a partir de les dades de l'estudi: Bacteris en l'atmosfera d' Irma Rosas.

D'altra banda, els animals i els homes constitueixen una font important de bacteris patògens. Els bacteris continguts a la saliva s'alliberen a l'atmosfera en parlar, tossir i esternudar; la descamació de la pell i el cabell comporten una font constant de virus, bacteris i fongs; els excrements dels animals i humans poden contaminar el terra amb microorganismes potencialment patògens.



5.8.1 Distribució temporal i espacial dels aerobacteris

Els bacteris són menys nombrosos a l'atmosfera que els fongs, encara que alguns cops poden trobar-se a l'atmosfera associats a partícules que varien en mida de $<0,6$ a $>0,7\mu\text{m}$. Aquestes partícules es troben a l'atmosfera, al terra, als cossos de l'aigua, al material d'edificis o diferents tipus de vegetació. Estan influenciats pel vent, és a dir, pels corrents de convecció, grau d'humitat.. Aquests factors són molt importants per la distribució dels aerobacteris ja que causen una variació considerable.



Figura 11. Vall d'una muntanya.

Font: Fotografia extreta de internet.

Els resultats obtinguts sobre la quantitat de bacteris a una vall localitzada entres dues muntanyes va ser: durant la nit es va registrar una mínima concentració i a l'alba la màxima. Això és degut a què l'escalfament promou la dispersió de bacteris a grans altures, i quan s'estabilitza l'atmosfera, els bacteris s'acumulen a prop de la superfície del terra. Durant la tarda la brisa neteja la vall i finalment durant la nit l'aire que baixa pel pendent de les muntanyes desplaça totalment l'acumulació de bacteris durant el dia. El procés que s'origina durant les primeres hores del matí s'anomena dilució i el de la tarda acumulació. Es donen a terme a zones de bosc urbà i rural, en canvi, si parlem de zones properes a la costa el sistema canvia.

El tipus d'aerobacteris varia segons passen les hores del dia. Durant la nit predominen els Gram negatiu (22%) i els Gram positiu disminueixen la seva concentració (17%). Durant el dia s'inverteix el procés, els Gram positiu amb un 35% i els Gram negatiu amb un 12%.

Tenint en compte les observacions precedents podem constatar que els factors que produeixen la variació de la distribució dels aerobacteris són:

- 1) La concentració dels aerobacteris canvia depenent de les característiques de la superfície on travessa la massa d'aire.
- 2) Vents en ràfega poden incrementar la concentració, mentre que la pluja fa que disminueixi.
- 3) Les activitats a zones urbanes i rurals poden augmentar l'entrada de bacteris a l'atmosfera.

5.8.2 Dispersió dels microorganismes

Un dels mecanismes utilitzats consisteix en l'alliberació de quantitats considerables d'espores, així s'incrementa la colonització d'un hàbitat. Com és el cas d'un fong anomenat *Puccinia graminis* que té la capacitat d'alliberar milions d'espores per m^3 dins d'un camp de blat. La dispersió dels bacteris augmenta durant les primeres hores de matins assolellats, quan les fulles estan seques i la velocitat del vent supera 1 m/s. Tot i que aquestes característiques ambientals augmenten la dispersió de bacteris, la concentració pot ser molt variable. Durant els dies de pluja, les gotes impacten sobre la superfície de les fulles infectades i pot arribar a exercir un efecte de neteja sobre els bacteris, de manera que redueix la concentració.

Un altre mecanisme de dispersió és a través de vectors, com alguns insectes i aus, que s'encarreguen de transportar fongs i bacteris a través de les seves extremitats.

Els bacteris han de tolerar unes certes condicions si volen arribar a propagar-se a través de l'aire, ja que estan exposades a radiacions UV, dessecació i altes temperatures.

6. ESTUDI DELS MICROORGANISMES A NIVELL MOLECULAR

Els bacteris són organismes unicel·lulars molt petits i relativament senzills; el seu material genètic està envoltat per una membrana nuclear especial; per això els anomenem procariotes.

6.1 ESTRUCTURA BACTERIANA:

Els bacteris, com hem dit, formen part dels éssers unicel·lulars procariotes. Estructuralment estan constituïts per:

- Elements comuns: estan presents en tots els bacteris i són indispensables per la vida del propi bacteri. La paret cel·lular, la membrana plasmàtica, el citoplasma, els ribosomes i la regió nuclear formen part d'aquest grup.
- Elements facultatius: poden estar o no presents al bacteri, com la càpsula, els flagels, els pèls, les endòspores i les inclusions citoplasmàtiques.

6.2 ELEMENTS COMUNS:

6.2.1 La paret cel·lular

La paret cel·lular s'encarrega de dur a terme les següents funcions:

- 1- Protegir al bacteri de canvis externs.
- 2- Ajudar a mantenir la morfologia de la cèl·lula.
- 3- Proporcionar al bacteri resistència als antibiòtics.
- 4- Admetre el pas selectiu d'algunes substàncies.
- 5- Proporcionar l'especificitat del grup de bacteris.
- 6- Estar implicat a la patogenicitat del bacteri, és a dir, tenir la capacitat per produir malaltia en hostes susceptibles.

6.2.2 La membrana plasmàtica

És una fina estructura que s'expandeix dintre de la paret cel·lular, tancant el citoplasma dintre de la cèl·lula.

Actua com una barrera selectiva, intervé durant els processos de degradació de nutrients i producció d'energia. En alguns bacteris es troben pigments i enzims implicats a la fotosíntesi.

Està composta per fosfolípids i proteïnes, encara que també presenta glicolípid. Els fosfolípids formen una doble capa que engloba les proteïnes globulars que es disposen plegades de forma irregular. Els mesosomes són els plegaments de la membrana

plasmàtica. Formen estructures grans i irregulars i no existeixen a les cèl·lules eucariotes. S'encarreguen de dirigir la duplicació del ADN bacterià i de realitzar la respiració.

6.2.3 El citoplasma

És tot el que hi ha a l'interior de la membrana plasmàtica.

S'encarrega d'englobar els orgànuls cel·lulars, incloent el nucli, ribosomes i depòsits de reserva (vacúols..). Està format per un 80% d'aigua, enzims, ions..

6.2.4 La regió nuclear

Es tracta d'una zona a l'interior del citoplasma bacterià, on es resguarda l'àcid nucleic. L'àcid nucleic transmet l'informació genètica de la cèl·lula sobre estructures i funcions cel·lulars. És un nucli difús, no està envoltat per cap membrana. Conté una única molècula de DNA. A més del DNA cromosòmic existeixen unes estructures anomenades plasmidis que estan formades per ADN circular extra cromosòmic. Gràcies a aquest factor tenen la capacitat de replicar-se independentment i poden transmetre's d'un bacteri a l'altre. Contenen gens molt importants que determinen activitats **com la resistència a antibiòtics**, la tolerància a metalls tòxics, la síntesi d'enzims..

6.2.5 Els ribosomes

Orgànuls cel·lulars presents a eucariotes i procariotes, en els bacteris són molt abundants, i donen un aspecte granulós al citoplasma. S'encarreguen de la síntesi de proteïnes.

6.3 ELEMENTS FACULTATIUS

Són elements que apareixen al citoplasma dels bacteris i no tenen una estructura definida. S'utilitzen com a depòsits de reserva. N'hi ha de dues classes:

-Grànuls de reserva: acumulen lípids, fosfats, midó, glucogen..

-Vacuols: estan constituïts per cúmuls de gasos i líquids envoltats per una membrana.

6.3.1 Els flagels

Són llargs filaments. Responsables de la mobilitat bacteriana. Tenen tres parts concretes: filament, codó i corpuscle basal. Hi ha diferents tipus de bacteris segons els flagels: Monòtrics (un sol flagel), lofòtrica (dos o més flagels).

6.3.2 Pèls

Constitueixen elements rígids constituïts per una proteïna, són relativament curts i molt nombrosos. Estan distribuïts sobre tota la superfície. Tenen la capacitat de fixar-se sobre superfícies. Serveixen com un sistema d'intercanvi d'informació genètica per conjugació.

6.3.3 Endòspores

Són una forma de resistència que adopten alguns bacteris davant de situacions adverses, com la deficiència nutricional, dessecació, fred i temperatures elevades. Podem localitzar-se a la zona central del bacteri.

6.3.4 La càpsula

Estructura que envolta la paret bacteriana. S'encarrega de regular l'intercanvi d'aigua, ions i nutrients. Serveix com a magatzem extern de nutrients. També actua com a defensa davant dels anticossos. Protegeix el bacteri de la dessecació i permet la formació de colònies, ja que habitualment una càpsula engloba més d'un bacteri.

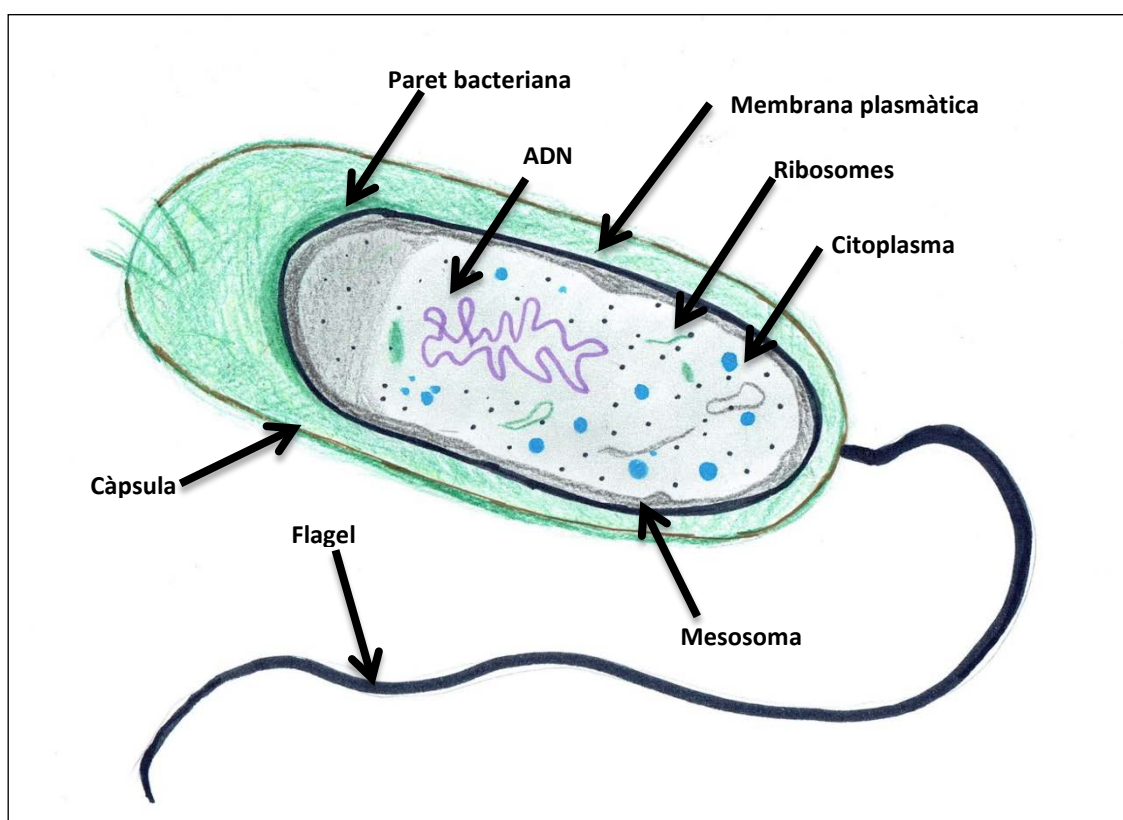


Figura 12. Estructura d'un bacteri.

Font: Elaboració pròpia.

6.4 TINCIÓ DE GRAM

Es classifiquen en dos grups concrets en funció del seu comportament davant la tinció de Gram.

- Bacteris Gram + (es tenyeixen de color blavós).
- Bacteris Gram- (es tenyeixen de color vermellós).

La paret cel·lular dels Gram+ esta composta per polisacàrids, proteïnes i àcids nucleics. La quantitat de lípids i peptidoglicans (format per monosacàrids i aminoàcids) és baixa i la seva funció principal és formar una monocapa, un component que constitueix el 50% del pes sec de les cèl·lules bacterianes. En canvi, la primera capa de la paret dels Gram - està constituïda per mureïna i la segona capa esta formada per polisacàrids, proteïnes, fosfolípids i lípids. No hi ha àcids teicoïcs. (polímers de glicerol).

La mureïna està composta per cadenes d'àcid N-acetil i glucosamina. La paret cel·lular de les Gram+ és més rica en mureïna que les de Gram-. Existeixen altres bacteris que no són sensibles a la tinció de Gram, ja que presenten una paret bacteriana diferent. També podem veure que hi ha altres bacteris que no presenten paret cel·lular , pertanyen al gènere micoplasma (bacteris patògens).

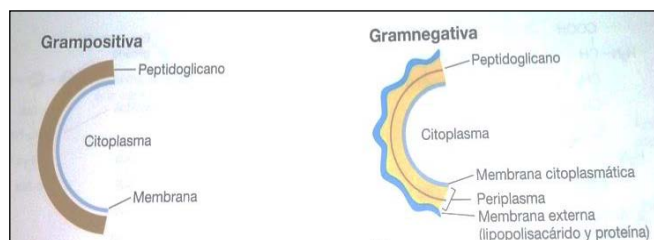


Figura 13. Diferències de la composició de la paret dels gram positiu i negatiu.

Font: 'Brock' Biología de los microorganismos.

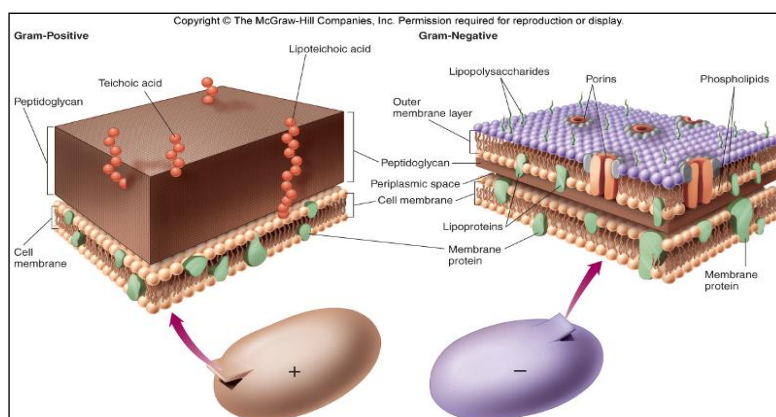


Figura 14. Esquema que mostra la composició dels gram negatiu i positiu.

Font: Fotografia extreta d'internet.

6.5 MORFOLOGIA

Els bacteris constitueixen un grup d'estructures de mida molt petita, per tant, es requereix un microscopi òptic per la seva observació. Cal utilitzar les mesures: (micro) (0,000001 m) oscil·lant entre 0,2 i 2 (micro) .

Les formes bàsiques són les següents: esfèrica (coco), bastonet o cilíndrica, helicoïdal, en forma de coma (cibrio) espiral (espiropeta).

La forma dels bacteris, depèn de la rigidesa de la seva paret. Hi ha tres tipus morfològicament fonamentals:

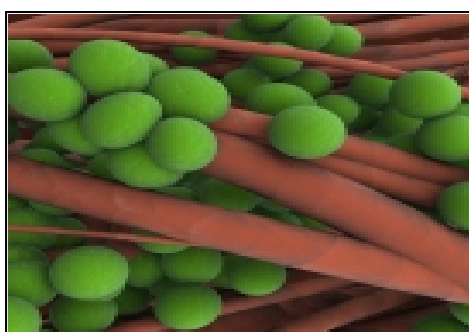


Figura 15. Cocos: forma esfèrica.

Font: Fotografia extreta d'internet.



Figura 16. Bacils, tenen forma allargada.

Font: Fotografia extreta d'internet.



Figura 17. Espiropeta amb forma espiral.

Font: Fotografia extreta d'internet.

6.6 FUNCIONS DELS MICROORGANISMES

Els bacteris desenvolupen un paper molt important durant el reciclatge de molts elements i compostos químics de la naturalesa. Moltes indústries depenen de l'acció bacteriana. Gran quantitat de substàncies químiques com l'alcohol etílic i l'acetona són produïdes per bacteris específics. També s'utilitzen bacteris pel tabac, el cuir, el cautxú, el cotó.. Els bacteris, juntament amb llevats i floridures, s'han utilitzat per la preparació d'aliments fermentats, com el formatge, salses de soja, vinagre, vi, iogurts, mantega..

Els bacteris tenen una capacitat de degradar que s'utilitza pel reciclatge d'escombraries. Són capaços de degradar hidrocarburs; per tant, s'utilitzen per la neteja d'abocaments de petroli.

També s'utilitzen per la bioremediació d'escombraries tòxiques industrials. A la indústria química, s'utilitzen per la síntesi de productes químics, per a l'ús farmacèutic, etc.

Poden ser requerits pel control biològic de paràsits o per la substitució de pesticides.

En el seu conjunt, considerem positivament els efectes dels bacteris dintre del camp de la biologia, la genètica i la bioquímica molecular degut a la seva capacitat de créixer ràpidament i la facilitat de manipulació per realitzar experiments, com per exemple modificar l'ADN bacterià, determinar la funció de gens, enzims..

Per tant, les principals funcions són:

1. **Reciclatge**
2. **Bioremediació**
3. **Indústria alimentària (formatges, iogurts..)**
4. **Indústria agrícola (creació de pesticides..)**
5. **Indústria farmacèutica (antibiòtics..)**
6. **Indústria tèxtil (cuir, cautxú..)**
7. **Indústria química (acetona, alcohol..)**

7. TÈCNiques DE LABORATORI

7.1 MATERIAL I EQUIPAMENT BÀSIC

Material emprat als laboratoris de biociències:

7.1.1 Material de vidre o de plàstic esterilitza ble:

- Tubs d'assaig de diferents mides
- Plaques de Petri
- Pipetes graduades
- Pipetes Pasteur
- Nanses de Digrafski
- Matràs
- Erlenmeyers
- Provetes
- Ampolles amb tap de rosca
- Portaobjectes
- Cobreobjectes

7.1.2 Material extra:

- Nanses de Kolle
- Gradetes
- Cistelles metàl·liques
- Termòmetres
- Cotó
- Paper d'embalatge

7.1.3 Aparells

-Balances: disposar de balances amb bona precisió fins a dècimes de grams i fins a dècimes de mil·ligram.

-Microscopis: Microscopi òptic amb objectiu d'immersió

-Refrigerador comercial a 4°, així com congelador de -20°C.



Figura 18. Observació de microorganismes a partir del microscopi

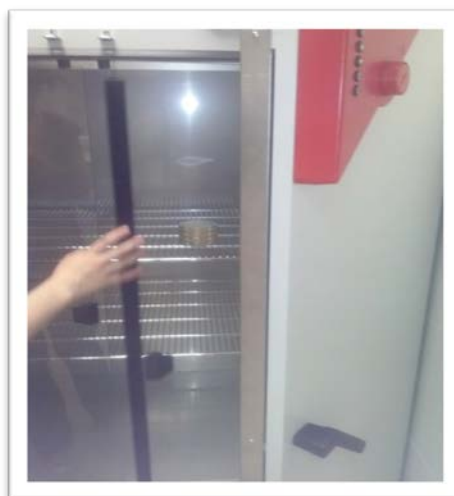


Figura 19. Cambra refrigeradora de la UAB.

-Estufes o cambres d'incubació: Estufes o cambres graduades amb les temperatures d'incubació més habituals: 20 °C, 30°C i 37°C.



Figura 20. Cambres d'incubació de la UAB.



-Centrifugadores: fins a 5000 rpm (revolucions per minut) i centrifugadores refrigerades d'alta velocitat.

-Espectrofotòmetre: La terbolesa d'un brou de cultiu és un paràmetre per estimar la biomassa d'una població bacteriana i seguir el seu desenvolupament al llarg del temps. En un espectrofotòmetre, un raig de llum es transmet a través d'una suspensió bacteriana fins arribar a una cèl·lula fotoelèctrica. A mesura que el nombre de bacteris augmenta el brou es torna més tèrbol, absorbeix més llum i per tant n'arriba menys a la cèl·lula. El canvi de llum és enregistrat a l'aparell com a percentatge de **transmitància** (quantitat de llum que passa a través de la suspensió) i com a **absorbància o densitat òptica (DO)** (valor derivat del percentatge de transmitància).



Figura 21. Centrifugadora de la UAB.



Figura 22. Espectrofotòmetre de la UAB.

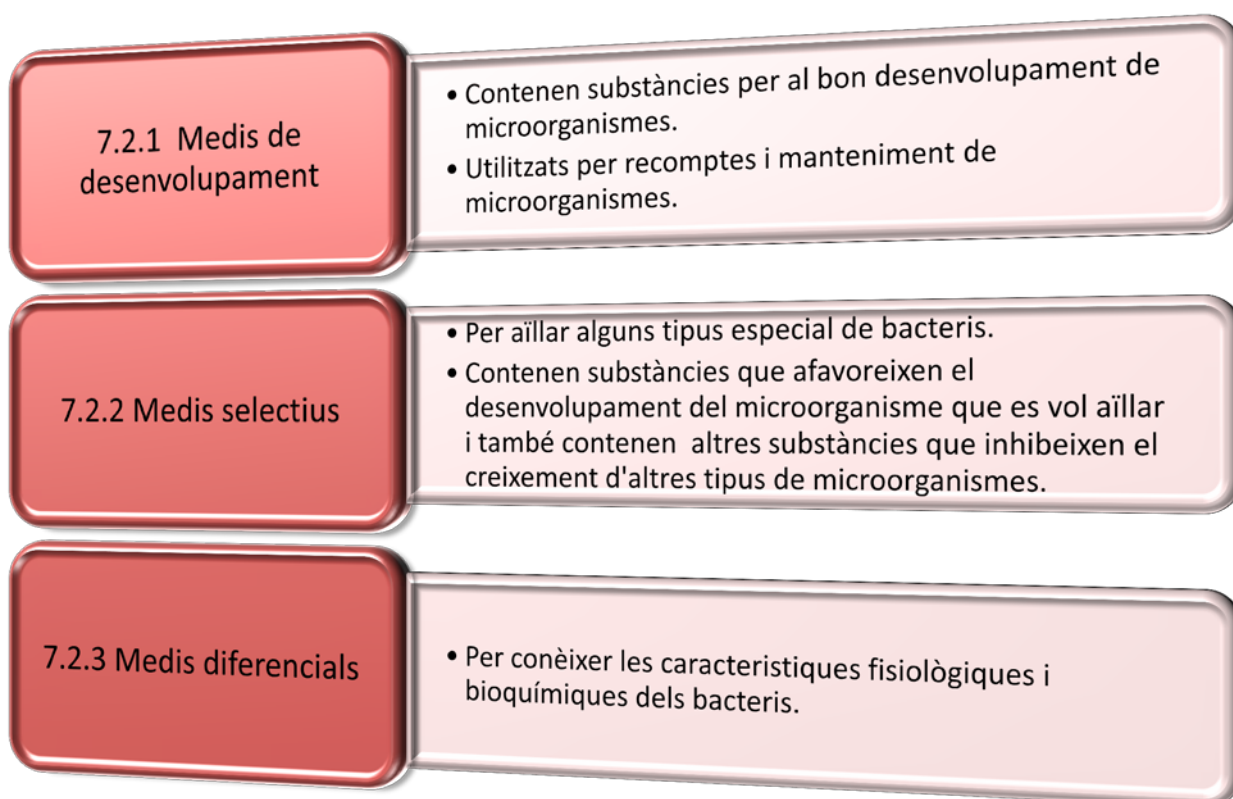
7.2 TIPUS DE MEDIS DE CULTIU

Els medis de cultius han de reunir totes les característiques i requeriments nutritius correctes si es vol obtenir un bon resultat en els experiments. Contenen fonts de carboni, nitrogen, sofre, fòsfor i en poca quantitat altres elements indispensables com el ferro, magnesi, cobalt i manganès. També ha de constar una font per obtenir energia i una font de poder reductor, és a dir, la capacitat de certes biomolècules d'actuar com a donadors d'electrons i protons en reaccions metabòliques.

En medis mínims o sintètics, coneixem la seva composició exacte.

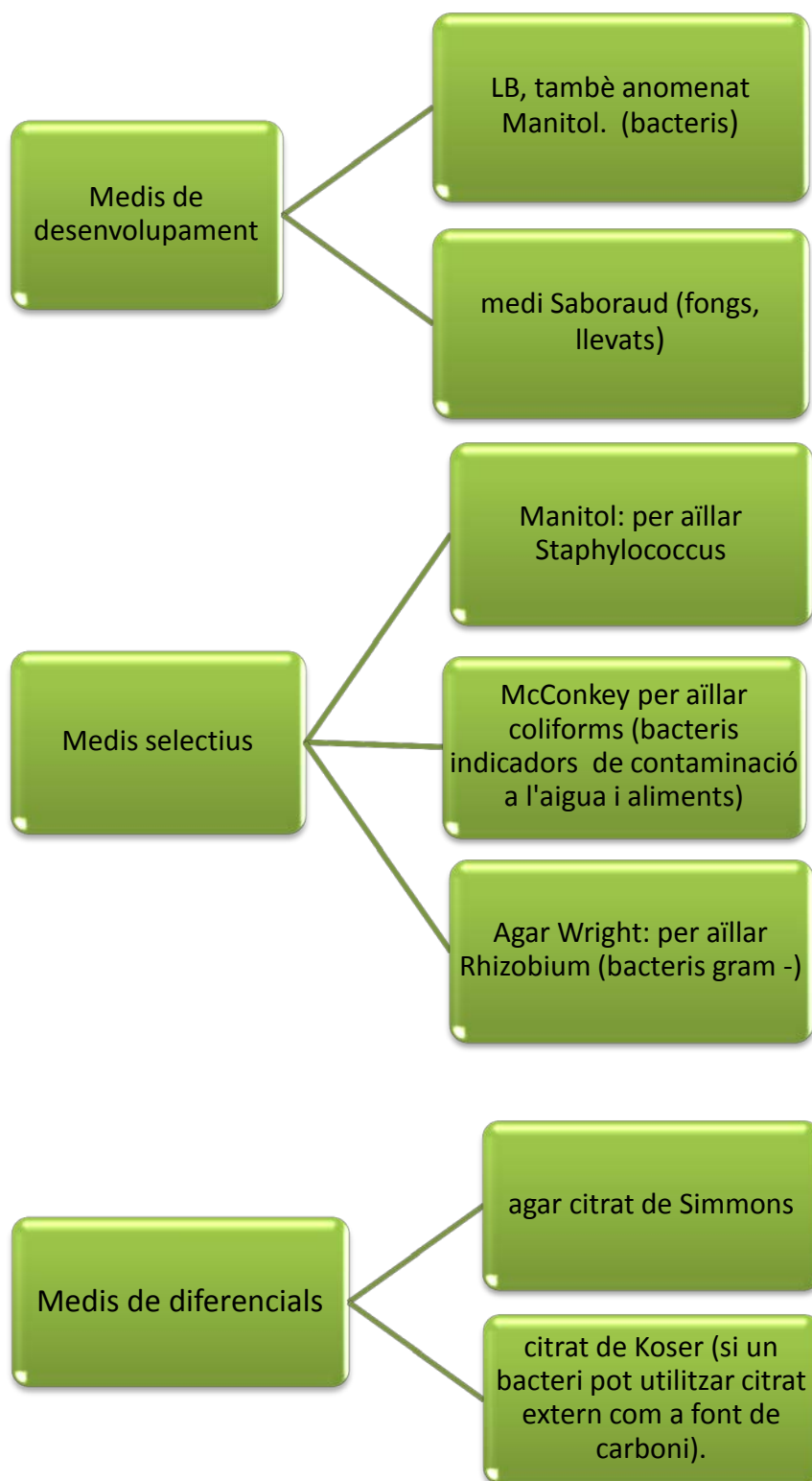
En medis rics o complexes s'utilitzen components com extracte de llevat, triptona o peptona. Han de contenir tots els elements que el bacteri necessiti per desenvolupar-se.

Un medi de cultiu líquid, se'l denomina brou.



Esquema 1. Tipus de medis.

*Font: Elaborat a partir de la informació obtinguda del dossier de Microbiologia.
Dept. De genètica de microbiologia de la UAB.*

EXEMPLES:**Esquema 2. Exemples característics de cada medi.**

Font: Elaborat a partir de la informació obtinguda del dossier de Microbiologia.
Dept. De genètica de microbiologia de la UAB.

TREBALL DE LABORATORI

8.1. PRÀCTICA 1: PREPARACIÓ DE MEDIS DE CULTIU

La preparació dels medis de cultiu és molt ràpida. S'obtenen de forma deshidratada, és a dir, només hem de dissoldre la quantitat necessària en el volum d'aigua destil·lada. Els medis sòlids es preparen afegint agar al medi líquid, a una concentració del 10-20%. L'agar es fon a 95°C, per tant escau la possibilitat de cultivar microorganismes des de temperatures molt baixes fins a 95°C. Una vegada comprimit no solidifica fins a 40°C. Per tant, permet preparar medis de cultiu a temperatura ambient. L'agar constituït per un gel consistent i transparent, format per barreges de polisacàrids és el més utilitzat per cultivar microorganismes.

Els medis de cultiu necessiten un pH estable, és a dir, que el grau d'acidesa de la dissolució sigui l'adequat. La majoria de microorganismes creixen dintre d'un pH neutre (7 i 7.2). Depenent dels components que utilitzem, el pH pot variar, com per exemple el del llevat es comporta com un àcid, per tant el seu pH varia al voltant de 5.5.

El pH pot disminuir en 0.2 unitats, la qual cosa fa que en la preparació de la majoria dels medis de cultiu, s'ajusti a 7.4 abans de procedir a l'esterilització. (si es tracta de microorganismes amb pH neutre)

TRIPTISOY/AGAR:

Com preparar un medi de cultiu?

- Peptona de caseïna15,0 g/l
- Peptona de soja5,0g/l
- Clorur sòdic5,0g/l
- Agar-Agar.....15,0 g/l
- pH del medi a punt per l'ús.....7,3 aprox.

PREPARACIÓ:

- 1) Afegir a 40 g d'aquest brou, aigua destil·lada.
- 2) Deixar que absorbeixi i mitjançant l'ebullició aconseguim que es dissolgui totalment l'agar.
- 3) Esterilitzem durant 15 min a 121°C.
- 4) Amb aquesta preparació emplenem les càpsules de Petri.
- 5) Mitjançant la cambra de bioseguretat, les deixem refredar i un cop solidificat el medi, col·loquem les càpsules 24h a l'estufa de cultiu a 37°C.

AGAR DE SABORAUD AMB CLORANFENICOL:

Medi de cultiu sòlid, específic per fongs:

- Peptona de caseïna15,0 g/l
- Peptona de carn.5,0g/l
- D(+) Glucosa.....40,0g/l
- Cioranfenicol.....0,5g/l
- Agar-agar.....15,0 g/l
- pH del medi a punt d'ús: 5,6 aprox.

PROCEDIMENT:

- 1) Afegir a 65,5 g del compost un litre d'aigua destil·lada. Mitjançant l'ebullició aconseguim una bona dissolució.
- 2) Esterilitzem durant 10 minuts a 121°C
- 3) Distribuïm la solució a les plaques de Petri.
- 4) Mitjançant la cambra de bioseguretat, les deixem refredar i un cop solidificat el medi, col·loquem les càpsules 24h a l'estufa de cultiu a 37°C.

8.2 PRÀCTICA 2: DEGRADACIÓ DE MANITOL I MC.CONKEY

Medis selectius

Manitol → Manitol

Mc.Conkey → Lactosa. (capacitat dels bacteris de degradar lactosa. Si no la degrada no canvia de color).

MATERIAL:

- Mostres de bacteris: E.Coli, Proteus, S.Aureus, S. Epidermis.
- Nansa de Kolle
- Flama de Bunsen
- Plaques

Nansa de
Kolle

Mostra

Flama de
Bunsen

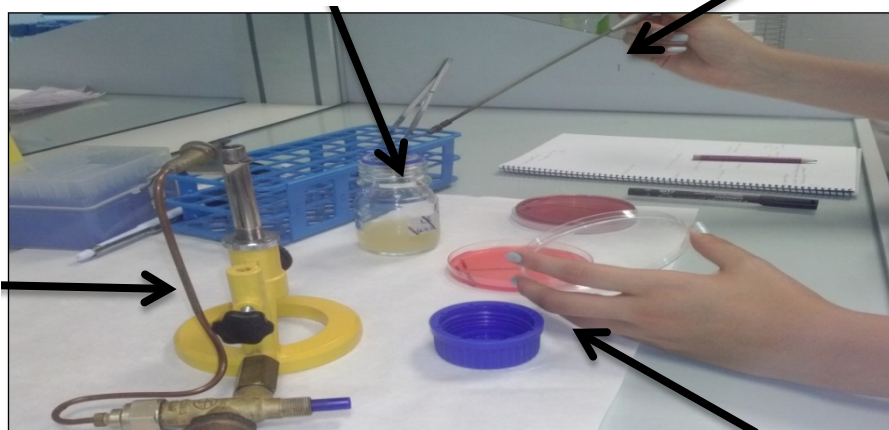


Figura 23. Material de laboratori necessari.

Plaques

PROCEDIMENT:

- 1) Preparem les plaques.
- 2) Escalfem la nansa de Kolle amb la finalitat d'esterilitzar-la.
- 3) Un cop la nansa entra en fase d' incandescència l'apartem de la flama del Bunsen.
- 4) Posem en contacte la nansa de Kolle amb la mostra (bacteris).
- 5) A cada compartiment de la placa realitzem un ziga-ziga amb la nansa de Kolle que conté el sostrat amb bacteris.
- 6) Observem si els bacteris tenen la capacitat de degradar els medis selectius (Manitol i Mc.Conkey). Si canvia de color, vol dir que baixen el pH per tant degraden els medis.

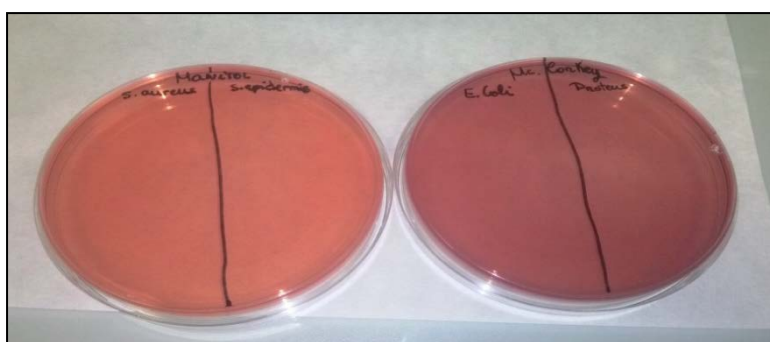


Figura 24. Plaques de Manitol i Mc.Conkey del departament de Microbiologia de la UAB.

RESULTAT:

-S.epidermis no té la capacitat de degradar el manitol, per tant obtenim manitol negatiu i la placa queda del color vermellós principal.

-S.aureus té la capacitat de degradar el manitol, per tant obtenim manitol positiu i es pot observar un canvi de color (groguenc).

-E.coli té la capacitat de degradar la lactosa, per tant obtenim lactosa positiu. Canvia de color, groguenc.

-Proteus no pot degradar la lactosa, dóna negatiu, per tant no canvia de color, es queda vermellós.

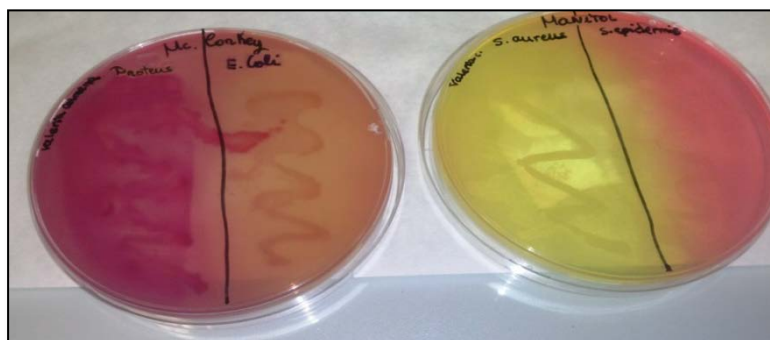


Figura 25. Resultat de l'experiment mitjançant plaques de Manitol i Mc.Conkey del departament de Microbiologia de la UAB.

8.3. PRÀCTICA 3: MÈTODE DE RECOMPTE DE MICROORGANISMES

MATERIAL:

-Mostres que es faran servir per dur a terme l'experiment:

- ***Bacillus subtilis***: bacteri gram positiu, es troba al sòl. Pertany al gènere *Bacillus* i té la capacitat de viure en condicions extremes.
- ***E.coli*** : bacteri gram negatiu, generalment es troba dintre dels intestins animals i en aigües tèrboles.
- ***Proteus***: bacteri gram negatiu, és responsable de moltes infeccions urinàries.
- ***S.aureus***: *Staphylococcus aureus*, bacteri gram positiu. Pot trobar-se a la pell i a les fosses nasals.
- ***Salmonella***: bacils gram negatiu. Es transmet per via digestiva o manipulació d'aliments que continguin el bacteri o per contacte amb la pell de persones portadores.
- **Llevat**: qualsevol dels diversos fongs microscòpics unicel·lulars.
- ***Bacillus cereus***: bacteri gram positiu, es pot trobar fàcilment al menjar i pot causar intoxicació alimentària. És un bacteri que pot aguantar diverses condicions ambientals.

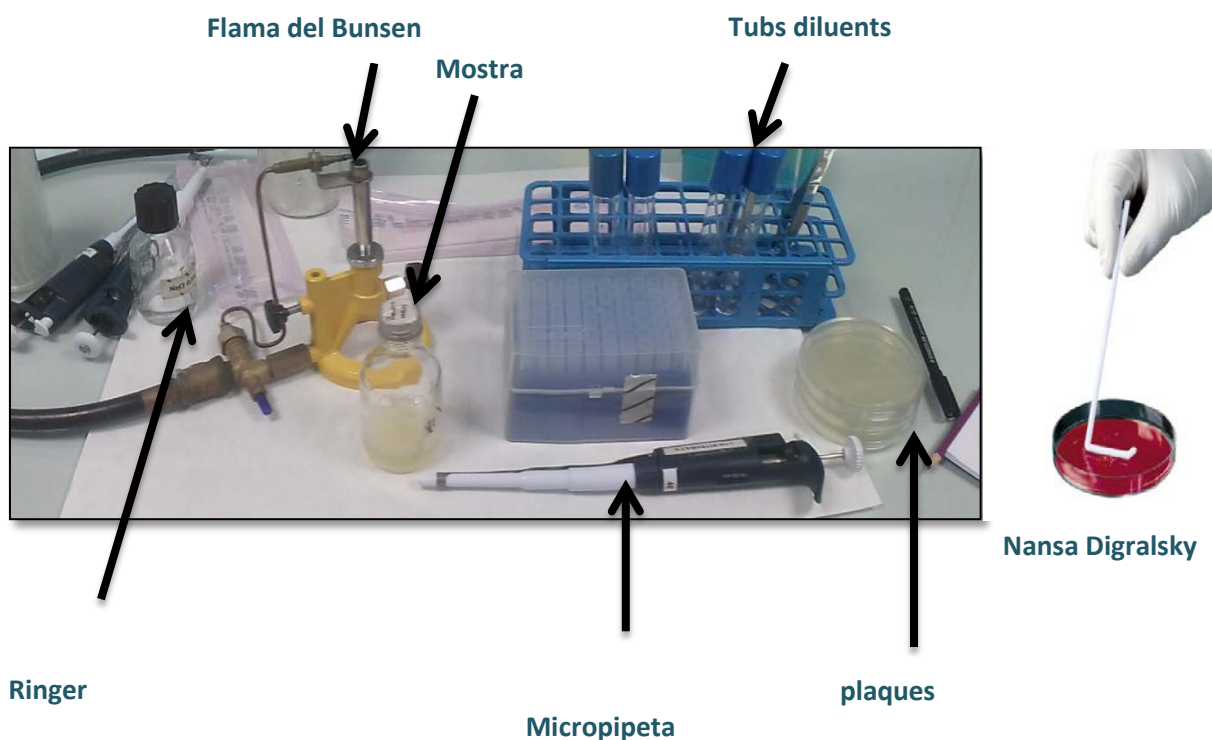


Figura 26. Material indispensable per dur a terme l'experiment.

- El recompte de microorganismes es pot calcular de dues formes diferents:

-Recompte viable: a ull, és a dir, en vàries ocasions podem determinar el nombre de microorganismes que creixen en medis de cultiu creant colònies visibles.

-Recompte directe o total: comptar les agrupacions de cèl·lules a partir de tècniques microscòpiques.

PROCEDIMENT 1 [càlculs]:

1) Overnight (mostra+Ringer) . Concentració: 1/100 i dissolució i 1/10.



Figura 27. Tubs diluents etiquetats amb el valor de concentració determinat. Laboratori de Microbiologia de la UAB.

2) Realitzem varies dissolucions.

En condicions adients de creixement els bacteris es multipliquen i donen lloc a poblacions molt grans, per tant cal diluir-les per obtenir colònies aïllades que es puguin comptar. Per aquesta raó barregem una determinada quantitat de mostra (microorganisme) amb un volum de dissolució salina.

$$Dilució = \frac{\text{volum de mostra}}{\text{volum mostra} + \text{diluents}}$$

- En aquest cas experimentarem amb el *Bacteri cereus*.
- El diluent és **Ringer**, sals dissoltes en aigua per crear una solució isotònica. La dissolució conté clorur sòdic, clorur potàssic, clorur de calci i bicarbonat de sodi, aquest últim s'utilitza per equilibrar el pH.

$$\text{Per tant: } \frac{1}{1(\text{ml mostra}) + 9(\text{ml Ringer})} = \frac{1}{10}$$

Si es fan sèries de dissolucions aconseguim que sigui més exacte, és a dir, realitzar l'anomenada dilució seriada. Per tant, la dilució total és el resultat de cadascuna de les dilucions. Dissolem 0,5ml de mostra en 4,5 ml de diluent, tot seguit 0,5ml de la primera dilució en 4,5 ml de diluent:

$$\bullet \quad \frac{0,5}{5} \times \frac{0,5}{5} = \frac{1}{100}$$

| | |
|-------------------|---|
| 1/100 | s'escriu 10^{-2} o podem simplificar i indicar al tub diluent -2. |
| 1/10000 | s'escriu 10^{-4} o -4. |
| 1/1000000 | s'escriu 10^{-6} o -6. |
| 1/10000000 | s'escriu 10^{-7} o -7. |

Taula 3. Dilucions.

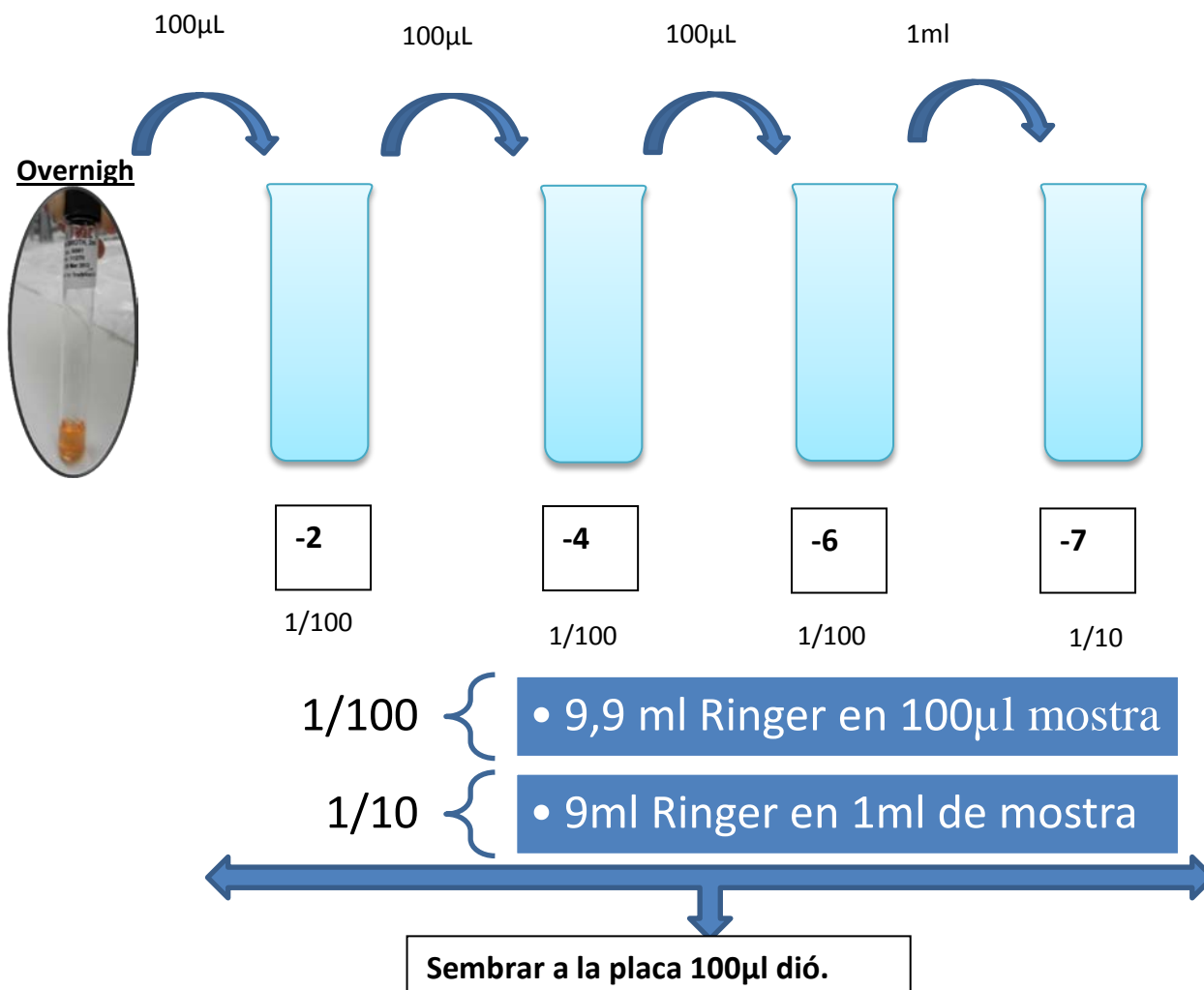
Font: Elaboració pròpia

PROCEDIMENT 2 :

- Pipetejar en condicions estèrils (a prop de la flama del Bunsen) el diluent (Ringer). Utilitzem la pipeta per absorbir i transferir 9,9 ml de Ringer al tub diluent -2,-4,-6. A l'últim tub , és a dir, el corresponent al valor 7, realitzem una petita variació, dipositem 9ml en comptes de 9,9 ml degut a la seva alta concentració.
- Pipetegem en condicions estèrils la mostra en el tub diluent mitjançant la micropipeta P100 (de 20-100 μ L). Repetim el procés de forma seriada tantes vegades com sigui necessari fins obtenir en 1ml de l'última dilució un nombre de bacteris adequat.
- De les últimes dilucions realitzades se sembra 100 μ l sobre la placa amb l'ajuda d'una nansa Digrafsky.
- Es posen a incubar a una temperatura de 30°C i un cop passat 24hores es fa un recompte del nombre de colònies. Descartem la placa -2 per baixa concentració.

$$\frac{n^{\circ} \text{ colònies}}{\text{dilució} \times \text{volum (ml)}} = \frac{91}{10^{-7} \times 0,1} = 9,1 \times 10^9 \frac{\text{cfu}}{\text{ml}}$$

- Cfu/ml (unitats formades de colònies)



Esquema 3. Dilucions en sèrie.

Font: Elaboració pròpia.

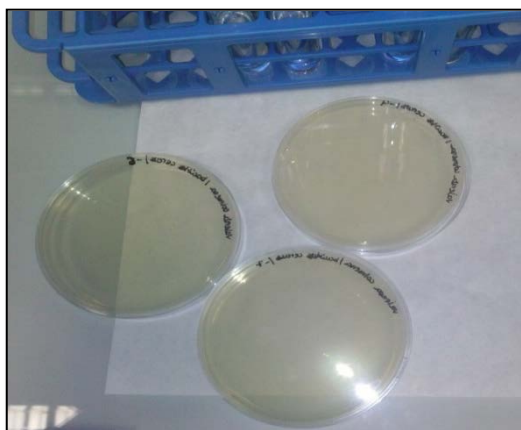
RESULTAT:

Figura 28. Plaques de Petri etiquetades. Laboratori de Microbiologia de la UAB.

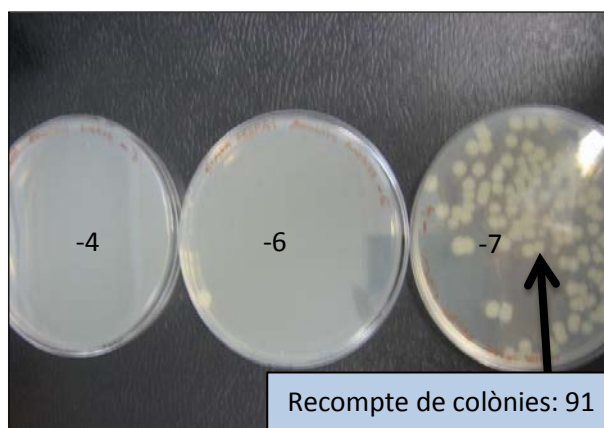


Figura 29. Resultat de les dilucions en sèrie. Laboratori de Microbiologia de la UAB.

8.4 PRÀCTICA 4: RECOMPTE DIRECTE DE MICROORGANISMES

MATERIAL:

- Plaques Rodac: contenen un medi de cultiu que sobresurt del límit i forma una superfície convexa. Determina la qualitat de superfícies planes.
- Plaques de cultiu.
- Pinces.
- Bastonets: contenen cotó humitejat en una solució salina (Ringer); aquesta part és la que es posa en contacte amb els bacteris o fongs de la superfície. S'utilitza per recollir mostres a qualsevol superfície, plana, rugosa, etc.

PROCEDIMENT:

- Adherir les plaques Rodac sobre una superfície.
- Dipositem el sostrat que ha penetrat el cotó del bastonet sobre la placa de cultiu per observar el seu creixement i descobrir si hi ha microorganismes existents en aquell recinte.
- Incubar a l'estufa (37°C) durant 48h.
- Fer el recompte de microorganismes.

CULTIUS OBTINGUTS:

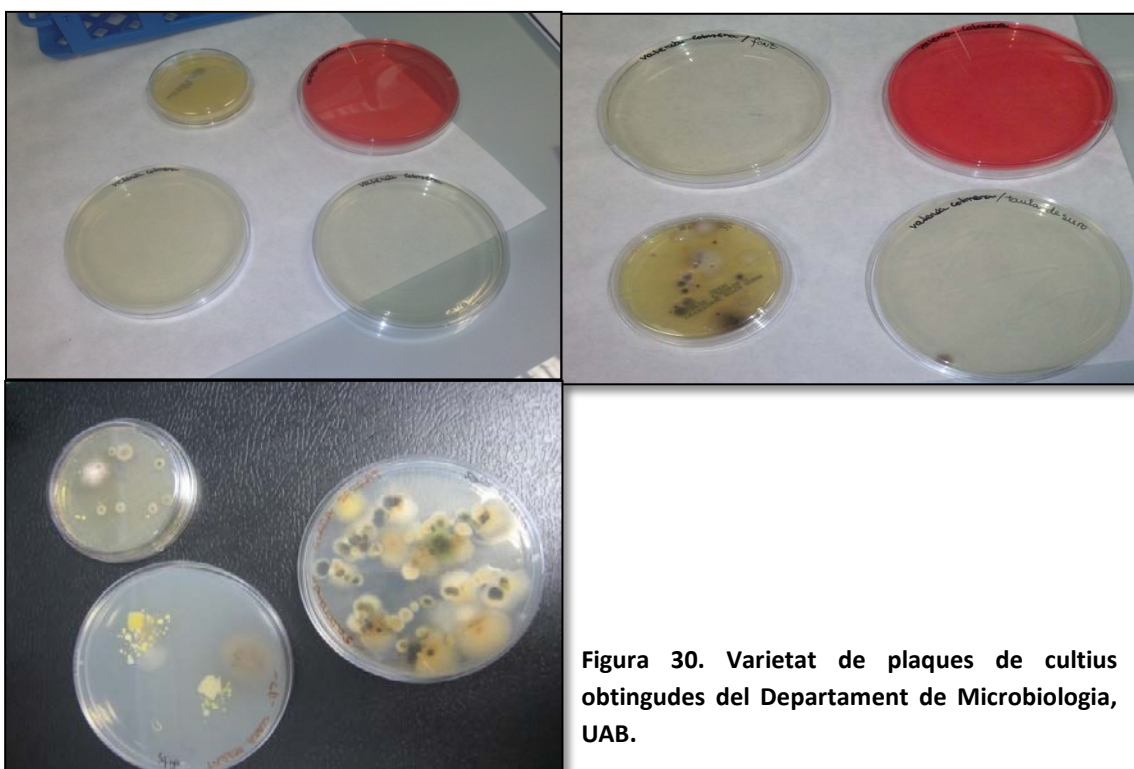


Figura 30. Varietat de plaques de cultius obtingudes del Departament de Microbiologia, UAB.

RECOMPTE DIRECTE:

- S'agafa un portaobjectes i a continuació es neteja amb etanol.
- Es dibuixa un quadrat d'1cm de costat, amb l'ajuda d'un permanent.
- Es dóna la volta al portaobjectes i s'observa una superfície delimitada d'1cm².
- Amb una micropipeta s'estén 0,01 ml de la mostra, sobre el quadrat.
- Es fixa mitjançant el calor que desprèn el Bunsen i es cobreix l'extensió amb blau de metilè durant 1 minut.
- Es renta amb aigua i es deixa assecar sense utilitzar la flama. S'examina a través del microscopi.
- Es realitza un recompte del nombre de microorganismes.
- Durant el recompte de mostres diluïdes, cal comptar un nombre de camps més elevat. Si les cèl·lules estan repartides es pot aplicar la següent taula:

| Nº bacteris | Nº de camps que s'han de comptar |
|-------------|----------------------------------|
| 0-3 | 64 |
| 4-6 | 32 |
| 7-12 | 16 |
| 13-25 | 8 |
| 26-50 | 4 |
| 51-100 | 2 |
| >100 | 1 |

Taula 4. Relació entre el número de bacteris i nombres de camp que s'ha de comptar.

Font: Taula elaborada a partir de les dades obtingudes del dossier de Microbiologia de la UAB.

-Per obtenir el nombre de cèl·lules per ml de la nostra mostra cal aplicar la següent fórmula:

$$\text{Núm.cèl·lules/ml} = \frac{(\text{mitjà cèl./camp}) \times \text{núm.camps totals en } 1 \text{ cm}^2}{\text{volum(ml)} \times \text{factor dilució acumulada}}$$

$$\text{Núm.camps totals en } 1 \text{ cm}^2 = \frac{1}{\pi r^2}$$

- r(radi del camp del microscopi).

8.5. MÈTODES D'AÏLLAMENT I DE CONSERVACIÓ DE MICROORGANISMES

Aquests mètodes es requereixen per obtenir cultius constituïts per una única espècie de microorganismes pel seu estudi. Aquest cultius s'anomenen purs i estan formats per cèl·lules provinents d'una sola cèl·lula inicial, per tant pertanyen a la mateixa espècie. Al medi ambient els microorganismes es troben formant poblacions mixtes i heterogènies. Si es vol estudiar una espècie de microorganisme en particular cal seguir uns procediments:

8.5.1. Tècnica d'enriquiment del cultiu

Dissenyar condicions de cultiu que afavoreixin el microorganisme que volem aïllar.

8.5.2. Tècnica de dilucions en sèrie

S'utilitza per microorganismes, els quals la seva població és majoritària dintre de la població mixta.

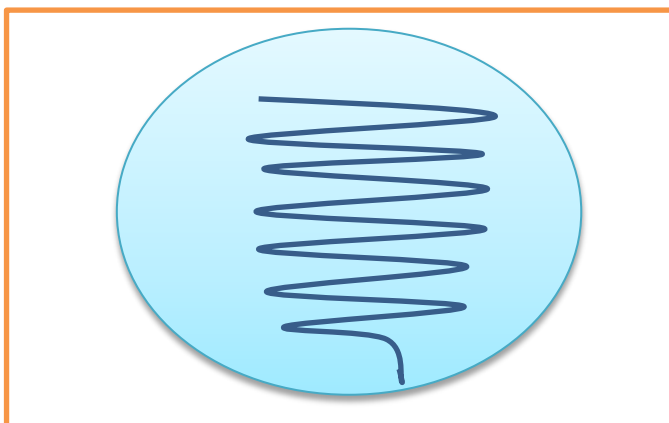
Es prepara una sèrie de dilucions utilitzant la solució salina (NaCl). Se sembra 0,1 ml de les dues últimes dilucions en la superfície d'una placa amb l'ajuda d'una nansa de Digrafsky. S'incuben les plaques a la temperatura adequada i una vegada han crescut els bacteris es poden observar les colònies aïllades.

8.5.3. Tècnica d'aïllament per estries a la placa

Es diposita la mostra sobre la superfície de l'agar de la placa, s'escampa per tota la superfície amb una nansa, prèviament esterilitzada, realitzant formes d'estries no gaire amples.

8.5.4. Tècnica d'aïllament per esgotament en placa en forma ziga-ziga

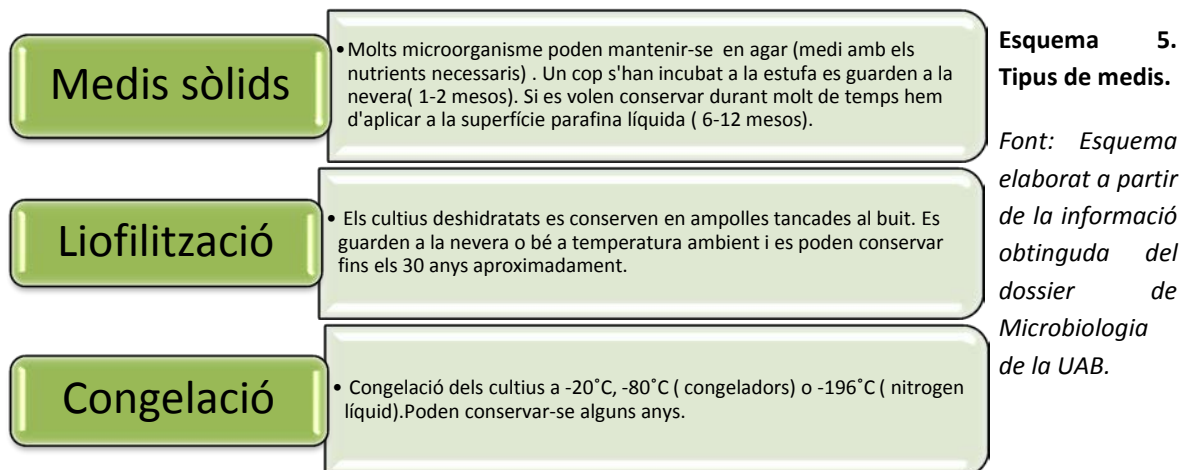
Des d'una suspensió de microorganismes o des d'una colònia, s'agafa una mostra amb la nansa de Kolle. Se sembra per estria en ziga-ziga sobre una placa de medi sòlid. S'incuben les plaques a la temperatura adequada i una vegada han crescut els bacteris es poden observar les colònies aïllades.



Esquema 4. Tècnica en forma de ziga-ziga, és la més utilitzada.

Font: Elaboració pròpia.

Per conservar els microorganismes podem realitzar algun d'aquest processos:



8.6 PRÀCTICA 5: OBSERVACIÓ DE MICROORGANISMES A PARTIR DE TINCIONS

Per observar un microorganisme al microscopi cal seguir uns procediments previs per poder apreciar la seva morfologia.

La tinció simple, la més habitual, amb la qual es pot determinar ràpidament la forma i mida gràcies a la seva tinció amb blau de metilè.

La tinció diferencial requereix més d'un sol tipus de colorant, i s'utilitza per distingir diverses espècies de cèl·lules bacterianes. Consisteix en tres passos essencials: primerament un colorant primari per tenyir totes les cèl·lules, es realitza la decoloració, amb el qual s'extreu el colorant de certes cèl·lules, i finalment un colorant de contrast; aquest fa que es tenyeixin les cèl·lules recentment decolorades sense fer efecte sobre les cèl·lules que encara retenen el colorant primari.

La pràctica que veurem a continuació està basada en una tinció diferencial: tinció de Gram. Els bacteris poden presentar dues coloracions (blava i vermella) depenent de la diferent composició i estructura de la seva paret. La tinció de Gram es basa en la quantitat de peptidoglucan que es troba a les parets cel·lulars dels bacteris. Els bacteris Gram positiu tenen capes de peptidoglucan que retenen un àcid anomenat teïcoic. Aquest reacciona amb el cristall violeta i el iode. La paret cel·lular de les cèl·lules gram positives reté aquests compostos per tant és més difícil decolorar una cèl·lula Gram positiva que una Gram negativa. Una barreja d'alcohol remou el cristall violeta de la cèl·lula Gram negativa però no de la positiva. Quan un altre colorant (safranina) s'afegeix, les cèl·lules Gram positives continuen amb el color blavós, però les Gram negatives absorbeixen el color vermellós de la safranina.

MATERIAL:

- Mostra de la placa obtinguda a la pràctica 2. *Bacillus cereus*.
- Mostra de la pràctica 3 (colònies de bacteris).
- Nansa de Kolle
- Flama Bunsen
- Pinces
- Pipeta
- Portaobjectes
- Cristall violeta
- Lugol
- Etanol
- Aigua destil·lada
- Safranina
- Microscopi



Figura 31. Lugol (pot groc). Cristall violeta (pot blau).



Figura 32. Colorant: safranina.

PROCEDIMENT:

- Dipositar una gota de Ringer sobre el portaobjectes.
- Passar la nansa de Kolle per la flama, un cop es torna incandescent, s'aparta i s'espera fins que es refredi.
- Dipositar la nansa de Kolle sobre una placa que conté uns determinats bacteris obtinguts anteriorment(pràctica 2).
- Estendre amb la nansa la mostra sobre el portaobjectes.
- Agafar el portaobjectes amb la pinça i apropar-lo a la flama lentament i amb cura, amb la finalitat d'evaporar el Ringer sobrant del portaobjectes.
- Un cop tenim la mostra fixada, cal tenyir-la amb el colorant cristall violeta durant 1 minut.
- Rentar amb aigua.
- Afegir lugol durant 1 minut.
- Afegir etanol que té la capacitat de fer marxar el color blavós dels grams negatiu (decoloració).
- Tenyir amb safranina durant 1-2 minuts i rentar amb aigua. Els gram negatiu queden tenyits amb la safranina (color vermellós).

Observem els cultius tenyits mitjançant el microscopi. Per mirar cèl·lules a partir de l'augment x100 hem de dipositar una gota d'oli perquè entri en contacte la mostra amb l'augment.



Figura 33. Observació dels cultius tenyits a partir d'un microscopi òptic de la UAB.

RESULTAT:

- Al final del procediment de tinció, les cèl·lules Gram positives obtindran el color de cristall violeta o colorant primari i les cèl·lules Gram negatives obtindran el color de la safranina, és a dir, del colorant de contrast.
- Un cop obtingudes totes les observacions dels companys que han tractat diferents cultius podem afirmar que:

| GRAM POSITIU: | GRAM NEGATIU: |
|-------------------------|--------------------|
| 1.Staphylococcus aureus | 4.Salmonella |
| 2.Bacillus cereus | 5.Escherichia coli |
| 3.Bacillus subtilis | 6.Proteus |

Taula 5. Gram positius i negatius.

Font: Elaboració pròpia.

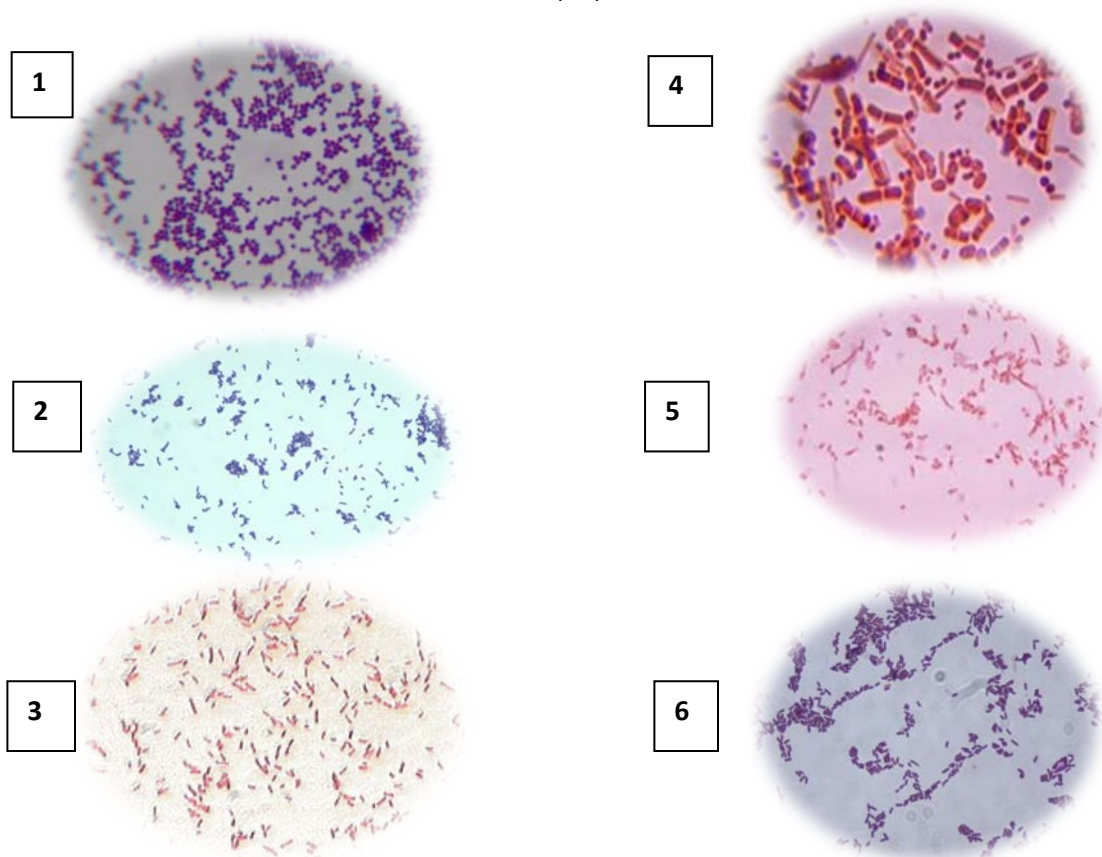


Figura 34. Resultat de les diverses tincions.

8.7. IDENTIFICACIÓ DE MICROORGANISMES

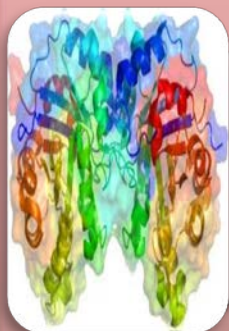
Hi ha diverses proves que s'utilitzen per la identificació de bacteris. És necessari la utilització de soques de control, que pertanyin a col·leccions de cultius de referència i així podrem obtenir uns resultats positius o negatius. Això vol dir que a l'hora de realitzar la identificació d'un bacteri hem de tenir en compte una sèrie de trets que fa que puguem classificar-los dintre dels grups següents:



8.7.1 .MORFOLOGIA CEL·LULAR: aspectes morfològics de les soques. Les tècniques es basen en l'observació microscòpica i la utilització de tincions. Es basen en la forma, tamany, tinció de Gram, formació d'endospores..



8.7.2. CARÀCTERS CULTURALS: Inclou les característiques de cultiu de les poblacions en diferents medis. Com les formes colonials, creixement en medi líquid...

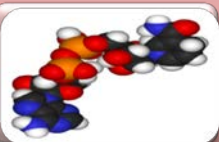


8.7.3. CARÀCTERS BIOQUÍMICS:

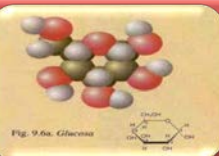
1. Detecció d'enzims respiratoris.
2. Metabolisme de sucres i a la producció d'àcid.
3. Metabolisme de compostos nitrogenats de baix pes molecular.
4. Presència d'enzims que puguin degradar grans molècules.

Com per exemple:

- Enzims respiratoris: oxidasa, catalasa, reducció de nitrats a nitrits.
- Metabolisme de glúcids: prova de l'oxidació, roig de metil, producció d'àcid i gas a partir de glúcids.
- Metabolisme de compostos nitrogenats: indol, sulfur d'hidrogen, urea, fenilamina desaminasa..
- Enzims de degradació de macromolècules: amilasa, fosfolipases, lipases, proteases...



8.7.4. SENSIBILITAT: enzims de degradació de macromolècules: amilasa, fosfolipases, lipases, proteases..



8.7.5. UTILITZACIÓ DE SUBSTÀNCIES ORGÀNIQUES: incorporar diferents molècules orgàniques com a fonts de carboni i energia, aquest són utilitzats dins d'un medi mineral. Com per exemple: glúcids, àcids, alcohols i glicols, aminoàcids..

Esquema 6. Proves d'identificació.

Font: Esquema elaborat a partir de la informació obtinguda del dossier de Microbiologia de la UAB.

8.8. PRÀCTICA 6. PROVES PER IDENTIFICAR MICROORGANISMES

8.8.1. PRESCÈNCIA D'OXIDASA

Comprovar l'existència d'oxidasa bacteriana quan es posen en contacte els bacteris amb un reactiu oxidable, (adquireix una coloració típica).

MATERIAL:

- Tetrametil-p-fenilèn diamida en solució aquosa a l'1%
- Paper de filtre
- Nansa de Kolle
- Mostra(E.coli)

PROCEDIMENT:

- El reactiu no té color. S'ha de guardar a 4°C i preservar de la llum.
- Amb la nansa de Kolle es transfereix una massa de bacteris sobre el paper de filtre impregnat en el reactiu.
- Esperem 60 segons.

RESULTAT:

-Els bacteris productors d'oxidasa oxiden el reactiu i la colònia es torna de color violeta, en aquest cas no varia el color ja que es tracta d'una colònia negativa (E. coli). Per tant, podem afirmar que el bacteri és anaeròbic. Aquesta reacció d'oxidació és degut a un sistema de citocrom oxidasa que activa el procés d'oxidació. Aquest sistema es troba en organismes aeròbics i permet a aquests utilitzar l'oxigen en el sistema respiratori, en canvi, en tractar amb organismes anaeròbics, la prova d'oxidasa és negativa, ja que l'última acceptor d'electrons de la cadena respiratòria no és l'oxigen. Gran part dels bacteris gram positius són oxidasa negatius.

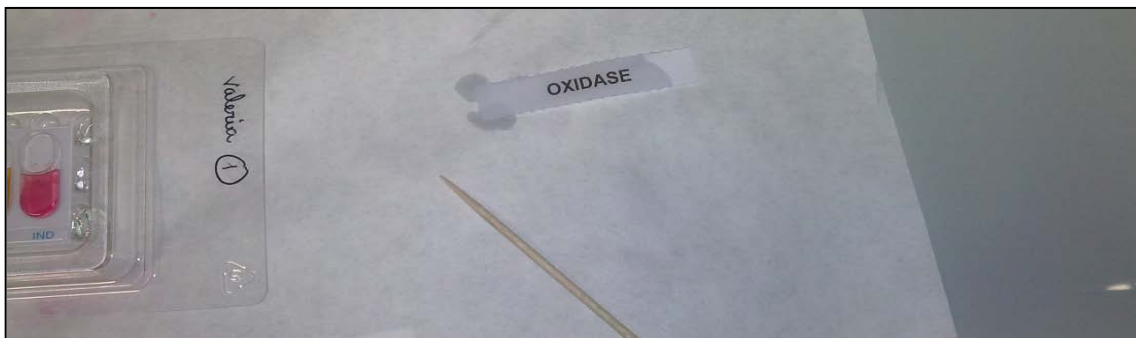


Figura 35. Resultat de la prova oxidasa.

8.8.2. MÈTODE MINIATURITZAR: API 10S

El mètode **API 10S** és un sistema que permet la identificació d'un tipus de família de bacteris específic, anomenat Enterobacteriàci. El sistema API 10S consta de 10 microtubs que contenen substrats deshidratats. Aquests s'inoculen amb una suspensió bacteriana que reconstitueix el medi (el torna a hidratar). El metabolisme del microorganisme produeix canvis de color deguts a l'addició de diversos reactius.



Figura 36. Material per realitzar el mètode API 10S.

| TEST | SUBSTRAT | REACCIONS/ENZIMS |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> •ONPG •GLU •ARA •LDC •ODC •CIT •H₂S •URE •TDA •IND •NO₃- •NO₂- | <ul style="list-style-type: none"> •2-nitro-fenil-βD-galactopiranosid •D-glucosa •L-arabinosa •L-lisina •L-ornitina •citrat de sodi •triosulfat de sodi •urea •L-triptòfan •L-triptòfan •tub GLU •tub GLU | <ul style="list-style-type: none"> •β-galactosidasa •fermentació/oxidació •fermentació/oxidació •fermentació/oxidació •lisina descarboxilasa •utilització del citrat •producció de H₂S •ureasa •triptòfan desaminasa •producció d'indol •citocrom oxidasa •producció de NO₂- •reducció a N₂ |

Taula 6. 10 tests bioquímics miniaturitzats

Font: Esquema elaborat a partir de la informació obtinguda del dossier de Microbiologia de la UAB.

MATERIAL:

- Nansa de Kolle
- Micropipeta
- Sistema API10S(10 microtubs)
- Ringer
- Parafina líquida
- Reactius: VP1,VP2,TDA,IND,NIT1,NIT2.

PROCEDIMENT:

- 1) Distribuir 5ml d'aigua als pous per aconseguir un ambient humit.
- 2) Mitjançant una micropipeta s'inocula una mostra d'un determinat bacteri de la família Enterobacteriàcies al tub diluent i s'afegeix una solució salina (Ringer).
- 3) S'agita fins aconseguir una bona homogeneïtzació.
- 4) Amb una pipeta estèril s'inocula la suspensió preparada als tubs evitant el contacte de la mostra amb la cúpula.
- 5) Als tubs CIT,VP i GEL s'inocula la suspensió al tub fins la cúpula. Es distingeix perquè està senyalitzats amb el signe:

CIT



Figura 37. Inoculació del bacteri als tests.

- 6) Per aconseguir un ambient anaeròbic en els tubs ADH,LDC, ODC, URE i H₂S es cobreix amb una gota de parafina líquida. Senyalitzats amb una ratlla sota el nom.



Figura 38. Tests bioquímics preparats per incubar.

7) Es tapa la caixa i s'incuba de 18 a 24 hores a 35-37°.

LECTURA:

Després de 24h d'incubació s'observen els canvis i es realitzen els passos següents per acabar d'identificar el bacteri corresponent:

-VP: Afegir 1 gota de VP1 i VP2. Esperar un mínim de 10 min per observar el canvi de color.

-TDA: Afegir 1 gota de reactiu TDA.

-IND: Afegir 1 gota de reactiu IND.

-NO₂: Afegir una gota de reactiu NIT i un altre de NIT2 en el tub GLU. Esperem de 2 a 3 minuts. Si la lectura és negativa (és a dir no es produeix un canvi de color) cal afegir de 2 a 3 mg de Zinc a la cúpula del tub GLU. Esperem 5 minuts.



Figura 39. Afegir VIP1 i VIP2.

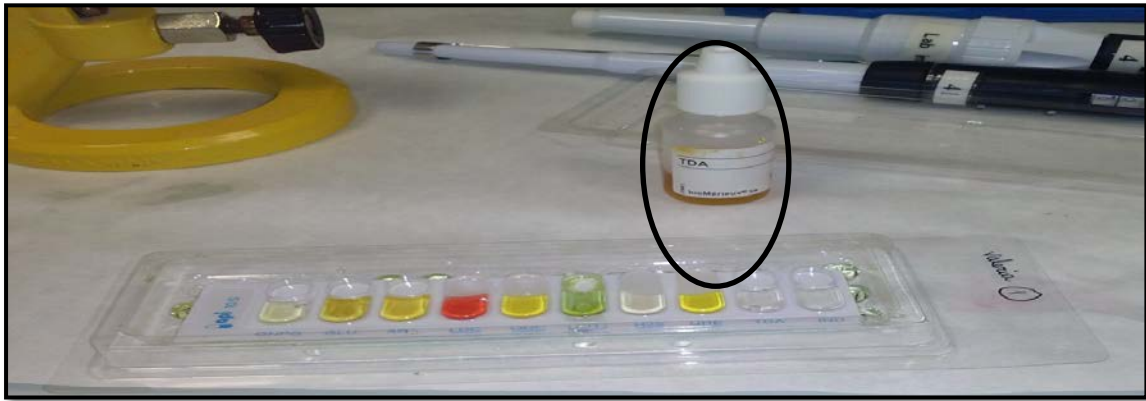


Fig 40. Afegir TDA.



Figura 41. Afegir IND.



Figura 40. Afegir NIT1 i NIT2



Figura 41. Resultat del procés.

| TEST | NEGATIU | POSITIU |
|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> •ONPG •GLU •ARA •LDC •ODC •CIT •H₂S •URE •TDA •IND •NO₃⁻, NO₂⁻ •NIT 1+ NIT2 • addició de Zn | <ul style="list-style-type: none"> •incolor •blau/blau verd(2) •blau/blau verd(2) •groc •groc •verd clar/groc •incolor/gris •groc •groc •groc •groc •vermell | <ul style="list-style-type: none"> •groc(1) •groc •groc •taronja •vermell/taronja •blau verd/verd(3) •dipòsit negre •vermell/traonja •marró •anell vermell •vermell •groc |

(1) El color groc molt lleuger és positiu.

(2) Lectura de la zona de la cúpula (zona aeròbica)

(3) La fermentació comença a la part inferior dels tubs, l'oxidació a la cúpula.

Taula 7. Canvis que es produeixen durant el procés per determinar el tipus de microorganisme.

Font: Esquema elaborat a partir e la informació obtinguda del dossier de Microbiologia de la UAB.

RESULTATS OBTINGUTS:



Figura 42. Resultat del primer procediment.



Figura 43. Final del procediment, es pot observar la variació de colors.

| TEST | NEGATIU | POSITIU |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> •ONPG •GLU •ARA •LDC •ODC •CIT •H₂S •URE •TDA •IND •NO₃⁻, NO₂⁻ •NIT 1+ NIT2 •addició de Zn | <ul style="list-style-type: none"> •incolor •blau/blau verd(2) •blau/blau verd(2) •groc •groc •verd clar/groc •incolor/gris •groc •groc •groc •de groc a •vermell | <ul style="list-style-type: none"> •groc(1) •groc •groc •taronja •vermell/taronja •blau verd/verd(3) •dipòsit negre •vermell/traonja •marró •anell vermell •de vermell a •groc |

Taula 8. Canvis produïts durant el procés que ens permeten identificar l'espècie de microorganismes.

Font: Elaboració pròpia

Del conjunt de reaccions i resultats s'obté un valor numèric de 4 xifres. Els pous estan separats en grups de tres, en total tenim 4 grups de tres tubs o triplets. Per obtenir el valor corresponent de 4 xifres a cada pou li correspon el valor de 1,2 o 4.

- 1) A continuació, segons la lectura dels resultats cal indicar a sobre de cada pou el signe + o -, depenent de si hem obtingut una reacció positiva o negativa.
- 2) Sumar cada pouet amb el signe positiu, de manera que s'obté un número del 0 (en tot cas que cap pou del triplet sigui positiu) al 7 (si cada pouet del triplet és positiu).
- 3) Resultat obtingut: 7105.



Figura 44. Fitxa tècnica per determinar el microorganisme .

- 4) Observar la taula de la família dels bacteris Enterobacteriàcies i buscar el valor corresponent a la fitxa realitzada anteriorment que ens indicarà el tipus de bacteri que volíem identificar:

| IDENTIFICATION DIRECTORY (reference only) | | |
|---|--------------------------------------|--|
| 0016 Pseudomonas putrefaciens | 2654 Proteus mirabilis | 6426 Pseudomonas aeruginosa |
| 0075 Proteus vulgaris | 2664 Proteus mirabilis | 6445 Providencia |
| 0206 Pseudomonas putrefaciens | 2665 Proteus | 6475 Proteus vulgaris |
| 0216 Pseudomonas putrefaciens | 2674 Proteus mirabilis | 6514 Salmonella |
| 0221 Proteus morganii | 2675 Proteus mirabilis | 6524 Klebsiella / Serratia |
| 0225 Proteus morganii | 2707 Vibrio | 6604 Enterobacter cloacae |
| 0261 Proteus morganii | 2714 Salmonella | 6614 Citrobacter freundii / Salmonella |
| 0265 Proteus morganii | 2724 Serratia | 6674 Proteus mirabilis |
| 0274 Proteus mirabilis | 2764 Proteus mirabilis | 6704 Salmonella |
| 0412 Pseudomonas putrefaciens | 2774 Proteus mirabilis | 6707 Vibrio |
| 0416 Pseudomonas putrefaciens | | 6714 Salmonella |
| 0422 Pseudomonas aeruginosa | 3004 Shigella / Klebsiella | 6715 Salmonella |
| 0475 Proteus vulgaris | 3005 Escherichia coli / Shigella | |
| 0500 Pseudomonas maltophilia | 3007 Aeromonas hydrophila | 7000 Enterobacter agglomerans |
| 0504 Pseudomonas maltophilia | 3014 Citrobacter freundii | 7001 Enterobacter agglomerans |
| 0616 Pseudomonas putrefaciens | 3024 Yersinia pseudotuberculosis | 7005 Escherichia coli |
| 0664 Proteus mirabilis | 3105 Escherichia coli | 7006 Aeromonas hydrophila |
| 0674 Proteus mirabilis | 3107 Aeromonas hydrophila | 7007 Aeromonas hydrophila |
| | 3204 Shigella | 7014 Citrobacter freundii |
| 1500 Pseudomonas maltophilia | 3205 Escherichia coli | 7025 Yersinia enterocolitica |
| 1504 Pseudomonas maltophilia | 3224 Yersinia enterocolitica | 7034 Citrobacter freundii |
| | 3225 Yersinia enterocolitica | 7040 Enterobacter agglomerans |
| 2004 Shigella / Klebsiella | 3305 Escherichia coli | 7041 Enterobacter agglomerans |
| 2005 Shigella | 3307 Aeromonas shigelloides / Vibrio | 7044 Enterobacter agglomerans |
| 2035 Proteus vulgaris | 3402 Pseudomonas cepacia | 7045 Enterobacter agglomerans |
| 2045 Providencia | 3404 Klebsiella / Serratia | 7105 Escherichia coli |
| 2055 Proteus vulgaris | 3406 Pseudomonas cepacia | 7107 Aeromonas hydrophila |
| 2064 Proteus | 3407 Aeromonas hydrophila | 7115 Escherichia coli |
| 2065 Proteus | 3465 Proteus rettgeri | 7124 Klebsiella / Serratia |
| 2074 Proteus | 3502 Pseudomonas cepacia | 7125 Klebsiella oxytoca |
| 2075 Proteus vulgaris | 3507 Aeromonas hydrophila | 7204 Shigella / Enterobacter |
| 2104 Salmonella typhi | 3524 Klebsiella / Serratia | 7205 Escherichia coli |

Taula 8. Taula numèrica d'identificació de la família d'Enterobacteriàcies.

Font: Taula extreta d'internet.



TREBALL DE CAMP



9. TREBALL DE CAMP

L'aire constitueix un important medi de transmissió de microorganismes. L'aire està carregat de partícules en suspensió sobre les quals es poden adherir els microorganismes. Per aquesta raó s'estableixen controls de tipus microbiològic en instal·lacions sanitàries o indústries farmacèutiques. D'aquesta manera es pot detectar a temps microorganismes patògens, causants de malalties infeccioses o contaminacions biològiques.

Per esterilitzar l'aire s'utilitzen diferents tecnologies (radiació ultraviolada, filtració, tractaments amb ozó..) tot i que no s'aconsegueix una esterilització completa. Dins de l'aire, un medi exclusivament important, s'hi poden trobar microorganismes potencialment perillosos en baixes concentracions. Per tant els mètodes de detecció han de ser precisos per detectar i analitzar aquestes concentracions.

Per avaluar la qualitat de l'aire s'utilitzen diverses tècniques: col·lectors d'inèrcia, filtres o precipitadors. La tècnica més utilitzada per a realitzar el control microbiològic de l'aire d'un laboratori de pràctiques és el recompte de colònies que creixen en una placa que s'ha exposat a l'ambient del lloc. És un mètode no quantitatiu, per tant no ens permet calcular la concentració dels bacteris per volum d'aire.

MATERIAL:

- Plaques LB: contenen substàncies per el bon desenvolupament de microorganismes, sobretot de bacteris.
- Plaques Sabouraud : Mitjà utilitzat per a l'aïllament, identificació i conservació de fongs patògens i sapròfits. Al mig de cultiu, la pluripeptona i la glucosa són els nutrients indispensables per al desenvolupament de microorganismes. L'alt contingut de glucosa, la presència de cloramfenicol i el pH àcid, afavoreixen el creixement de fongs.
- Aparell MAS-100 Eco : mostrejador d'aire portàtil.



Figura 45. Material per realitzar el mostreig.

9.1 PROCEDIMENT 1: Obtenció de mostres/ Àrees interiors i exteriors.

Vàrem començar amb la pràctica més senzilla, exposar durant 30-45 minuts en diferents zones de la facultat (passadissos, cuina, laboratoris) plaques que contenen medi de Sabouraud i Rosa de Bengala, aquestes ens permetran realitzar un recompte de fongs i llevats; també vam exposar plaques LB. Les partícules a través de sedimentació es dipositaran al medi de cultiu. Tot seguit s'incuben les plaques de Sabouraud a 30°C i les de LB a 37°C durant 48 hores. Les plaques Rosa de Bengala, tenen una coloració especial, rosa-fúcsia, de manera que a l'hora d'observar els fongs i llevats la coloració varia respecte les altres plaques. Aquestes es deixaran a temperatura ambient durant aproximadament dos dies. Finalment es realitzarà el recompte d'unitats formadores de colònies (ufc).

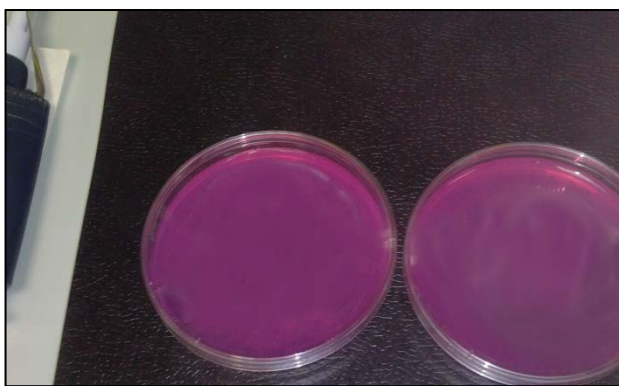


Figura 46. Plaques Rosa de Bengala.



Figura 47. Plaques Rosa de Bengala als passadissos de la Facultat.



Figura 48. Plaques Rosa de Bengala a la cuina de la Facultat.

9.2 PROCEDIMENT 2: Funcionament de l'aparell MAS-100 Eco

Vam analitzar la qualitat microbiològica de l'aire de diferents zones de la Universitat Autònoma de Barcelona, a la facultat de Biociències. Mitjançant l'aparell MAS-100 Eco vam poder recollir mostres de zones obertes i tancades. El seu funcionament consisteix en aspirar un volum d'aire per minut (10l o 100l), abans de programar el volum que es vol aspirar es disposa una placa de Petri a la superfície de l'aparell i es cobreix amb la tapa de manera que el corrent d'aire resultant i les partícules que conté queden retingudes a la superfície d'agar de la placa de Petri amb medi Sabouraud o LB.

DESENVOLUPAMENT:

- 1) Instal·lació de la placa de Petri amb medi LB o Sabouraud.
- 2) Encendre l'aparell MAS-100 Eco : Pressionar la tecla: *yes* durant dos segons fins que aparegui una llum que indiqui que s'està encenent.



Figura 49. MAS-100 Eco



Tecla: yes

Figura 50. MAS-100 Eco

- 3) Seleccionem el Mode Estàndard (STD) pressionem la tecla *yes*. A la part superior apareix el dia i l'hora i el centre del Programa (Mode) que correspon l'estàndard(STD) i el volum a mostrejar (10l o 100l).

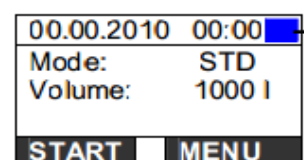


Figura 51. MAS-100 Eco

- 4) Es pressiona *yes* quan hem seleccionat el volum corresponent. Comença el mostreig i es pot observar el temps a la part superior.

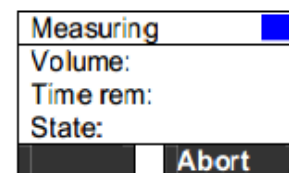


Figura 52. MAS-100 Eco

- 5) Un cop ha acabat el cicle es retira la placa de Petri amb el medi de cultiu i es col·loca la tapa a l'aparell.
- 6) Per apagar l'aparell MAS-100 Eco hem de pressionar "*Menú*" i tot seguit "*Shut down*".

9.3 Reportatge gràfic del procediment realitzat

Àrees interiors



☐ Cuina

☐ Despatx

☐ Laboratori

☐ Bar

☐ Biblioteca

Àrees exteriors



☐ Terrat

☐ Pati interior 1 i 2

☐ Pati exterior

**MOSTREJOS REALITZATS PER DUR A TERME L'ANÀLISI D'ESPAIS
INTERIORS I EXTERIORS.**

CUINA 9H



CUINA 14H



DESPATX 9H



DESPATX 14H



LABORATORI 9H



LABORATORI 14H



BAR



BIBLIOTECA



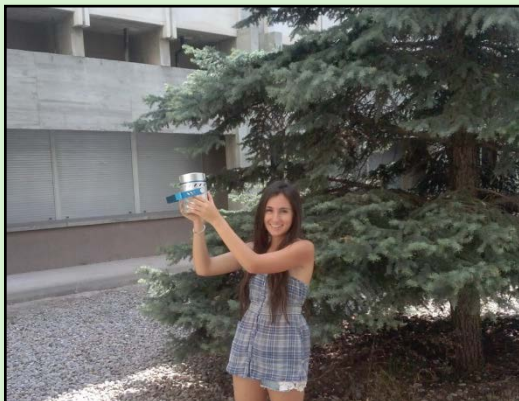
TERRAT



TERRAT



PATI INTERIOR 1



PATI INTERIOR 2



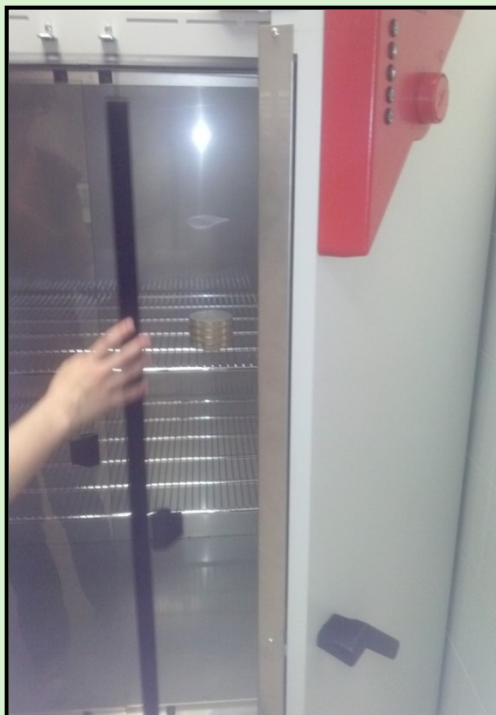
PATI EXTERIOR



PATI EXTERIOR



Un cop s'han obtingut totes les mostres tant a les plaques de Sabouraud com LB s'han d'incubar a 30°C i 37°C respectivament durant 48h. Un cop passat aquest temps s'extreuen i es realitza un recompte de colònies.



S'incuben plaques Sabouraud a 30°C.

Un cop passat 48 hores..

Es procedeix al recompte de colònies.



Un cop passat aquest temps obtindrem una sèrie de plaques que contindran diversos tipus de bacteris i fongs. A l'apartat següent intentarem identificar-ne algun tipus. Tot seguit en aquesta taula podem observar el nombre de colònies i la variació depenent de l'hora i el lloc on s'hagi mostrejat. Abans haurem de realitzar la correcció estadística mitjançant la taula de Feller basada en el principi: "Si un número de partícules viables que afecten a una determinada placa augmenta, la probabilitat que una altra partícula trobi un espai buit disminueix", això és un error que no es pot evitar, òbviament l'aparell aspira un determinat volum d'aire per minut i les partícules queden retingudes a la placa de manera que mentre aspira moltes colònies s'implanten sobre altres que anteriorment ja estaven a la placa, per tant en realitzar el recompte hem de deduir un nombre de colònies més gran i així tenir en compte les colònies que han quedat cobertes per altres partícules.

9.4 Funcionament de la Taula de Feller

$$Pr = N \times \sum_{x=0}^{r+1} \left(\frac{1}{N-x} \right)$$

- Pr= Total de probabilitat estadística.
- N= Quantitat total d'orificis en el capçal d'acumulació (400)
- r= número de formadors de colònia sobre una càpsula de Petri estàndard

Una altre alternativa:

$$Pr \approx N \int_{N-r+0.5}^{N+0.5} X^{-1} dX = N \ln((N+0.5)/(N-r+0.5))$$

Exemple: N=400 r=150 colònies

$$Pr = 400 * \ln((400 + 0.5)/(400 - 150 + 0.5)) = 187.7 \sim 180$$

Com podem comprovar a la següent taula, el valor 180 correspon a 150 colònies obtingudes a la placa mostrejada. Per tant, la taula de correcció està basada en la possibilitat que diversos microorganismes entrin pel mateix orifici de la tapa perforada a mesura que es va realitzant el mostreig de l'aire.

| r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr | r | Pr |
|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 1 | 1 | 51 | 54 | 101 | 116 | 151 | 189 | 201 | 279 | 251 | 394 | 301 | 557 | 351 | 836 |
| 2 | 2 | 52 | 56 | 102 | 118 | 152 | 191 | 202 | 281 | 252 | 397 | 302 | 561 | 352 | 844 |
| 3 | 3 | 53 | 57 | 103 | 119 | 153 | 193 | 203 | 283 | 253 | 400 | 303 | 565 | 353 | 853 |
| 4 | 4 | 54 | 58 | 104 | 120 | 154 | 194 | 204 | 285 | 254 | 402 | 304 | 569 | 354 | 861 |
| 5 | 5 | 55 | 59 | 105 | 122 | 155 | 196 | 205 | 287 | 255 | 405 | 305 | 573 | 355 | 870 |
| 6 | 6 | 56 | 60 | 106 | 123 | 156 | 197 | 206 | 289 | 256 | 408 | 306 | 578 | 356 | 879 |
| 7 | 7 | 57 | 61 | 107 | 124 | 157 | 199 | 207 | 291 | 257 | 411 | 307 | 582 | 357 | 888 |
| 8 | 8 | 58 | 63 | 108 | 126 | 158 | 201 | 208 | 293 | 258 | 413 | 308 | 586 | 358 | 897 |
| 9 | 9 | 59 | 64 | 109 | 127 | 159 | 202 | 209 | 295 | 259 | 416 | 309 | 591 | 359 | 907 |
| 10 | 10 | 60 | 65 | 110 | 128 | 160 | 204 | 210 | 297 | 260 | 419 | 310 | 595 | 360 | 917 |
| 11 | 11 | 61 | 66 | 111 | 130 | 161 | 206 | 211 | 299 | 261 | 422 | 311 | 599 | 361 | 927 |
| 12 | 12 | 62 | 67 | 112 | 131 | 162 | 207 | 212 | 301 | 262 | 425 | 312 | 604 | 362 | 937 |
| 13 | 13 | 63 | 68 | 113 | 133 | 163 | 209 | 213 | 304 | 263 | 428 | 313 | 608 | 363 | 947 |
| 14 | 14 | 64 | 70 | 114 | 134 | 164 | 211 | 214 | 306 | 264 | 431 | 314 | 613 | 364 | 958 |
| 15 | 15 | 65 | 71 | 115 | 135 | 165 | 212 | 215 | 308 | 265 | 433 | 315 | 618 | 365 | 969 |
| 16 | 16 | 66 | 72 | 116 | 137 | 166 | 214 | 216 | 310 | 266 | 436 | 316 | 622 | 366 | 981 |
| 17 | 17 | 67 | 73 | 117 | 138 | 167 | 216 | 217 | 312 | 267 | 439 | 317 | 627 | 367 | 992 |
| 18 | 18 | 68 | 74 | 118 | 140 | 168 | 218 | 218 | 314 | 268 | 442 | 318 | 632 | 368 | 1005 |
| 19 | 19 | 69 | 76 | 119 | 141 | 169 | 219 | 219 | 317 | 269 | 445 | 319 | 637 | 369 | 1017 |
| 20 | 20 | 70 | 77 | 120 | 142 | 170 | 221 | 220 | 319 | 270 | 449 | 320 | 642 | 370 | 1030 |
| 21 | 22 | 71 | 78 | 121 | 144 | 171 | 223 | 221 | 321 | 271 | 452 | 321 | 647 | 371 | 1043 |
| 22 | 23 | 72 | 79 | 122 | 145 | 172 | 224 | 222 | 323 | 272 | 455 | 322 | 652 | 372 | 1057 |
| 23 | 24 | 73 | 80 | 123 | 147 | 173 | 226 | 223 | 325 | 273 | 458 | 323 | 657 | 373 | 1071 |
| 24 | 25 | 74 | 82 | 124 | 148 | 174 | 228 | 224 | 328 | 274 | 461 | 324 | 662 | 374 | 1086 |
| 25 | 26 | 75 | 83 | 125 | 150 | 175 | 230 | 225 | 330 | 275 | 464 | 325 | 667 | 375 | 1102 |
| 26 | 27 | 76 | 84 | 126 | 151 | 176 | 232 | 226 | 332 | 276 | 467 | 326 | 673 | 376 | 1118 |
| 27 | 28 | 77 | 85 | 127 | 153 | 177 | 233 | 227 | 335 | 277 | 471 | 327 | 678 | 377 | 1134 |
| 28 | 29 | 78 | 87 | 128 | 154 | 178 | 235 | 228 | 337 | 278 | 474 | 328 | 684 | 378 | 1152 |
| 29 | 30 | 79 | 88 | 129 | 156 | 179 | 237 | 229 | 339 | 279 | 477 | 329 | 689 | 379 | 1170 |
| 30 | 31 | 80 | 89 | 130 | 157 | 180 | 239 | 230 | 342 | 280 | 480 | 330 | 695 | 380 | 1189 |
| 31 | 32 | 81 | 90 | 131 | 158 | 181 | 241 | 231 | 344 | 281 | 484 | 331 | 701 | 381 | 1209 |
| 32 | 33 | 82 | 92 | 132 | 160 | 182 | 242 | 232 | 346 | 282 | 487 | 332 | 706 | 382 | 1230 |
| 33 | 34 | 83 | 93 | 133 | 161 | 183 | 244 | 233 | 349 | 283 | 491 | 333 | 712 | 383 | 1252 |
| 34 | 35 | 84 | 94 | 134 | 163 | 184 | 246 | 234 | 351 | 284 | 494 | 334 | 718 | 384 | 1276 |
| 35 | 37 | 85 | 95 | 135 | 164 | 185 | 248 | 235 | 353 | 285 | 497 | 335 | 724 | 385 | 1301 |
| 36 | 38 | 86 | 97 | 136 | 166 | 186 | 250 | 236 | 356 | 286 | 501 | 336 | 730 | 386 | 1327 |
| 37 | 39 | 87 | 98 | 137 | 167 | 187 | 252 | 237 | 358 | 287 | 504 | 337 | 737 | 387 | 1356 |
| 38 | 40 | 88 | 99 | 138 | 169 | 188 | 254 | 238 | 361 | 288 | 508 | 338 | 743 | 388 | 1387 |
| 39 | 41 | 89 | 101 | 139 | 171 | 189 | 255 | 239 | 363 | 289 | 511 | 339 | 749 | 389 | 1420 |
| 40 | 42 | 90 | 102 | 140 | 172 | 190 | 257 | 240 | 366 | 290 | 515 | 340 | 756 | 390 | 1456 |
| 41 | 43 | 91 | 103 | 141 | 174 | 191 | 259 | 241 | 368 | 291 | 519 | 341 | 763 | 391 | 1496 |
| 42 | 44 | 92 | 104 | 142 | 175 | 192 | 261 | 242 | 371 | 292 | 522 | 342 | 769 | 392 | 1541 |
| 43 | 45 | 93 | 106 | 143 | 177 | 193 | 263 | 243 | 373 | 293 | 526 | 343 | 776 | 393 | 1591 |
| 44 | 47 | 94 | 107 | 144 | 178 | 194 | 265 | 244 | 376 | 294 | 530 | 344 | 783 | 394 | 1648 |
| 45 | 48 | 95 | 108 | 145 | 180 | 195 | 267 | 245 | 378 | 295 | 534 | 345 | 791 | 395 | 1715 |
| 46 | 49 | 96 | 110 | 146 | 181 | 196 | 269 | 246 | 381 | 296 | 537 | 346 | 798 | 396 | 1795 |
| 47 | 50 | 97 | 111 | 147 | 183 | 197 | 271 | 247 | 384 | 297 | 541 | 347 | 805 | 397 | 1895 |
| 48 | 51 | 98 | 112 | 148 | 185 | 198 | 273 | 248 | 386 | 298 | 545 | 348 | 813 | 398 | 2028 |
| 49 | 52 | 99 | 114 | 149 | 186 | 199 | 275 | 249 | 389 | 299 | 549 | 349 | 820 | 399 | 2228 |
| 50 | 53 | 100 | 115 | 150 | 188 | 200 | 277 | 250 | 391 | 300 | 553 | 350 | 828 | 400 | 2628 |

Taula 9. Taula de Feller.

Font: Taula extreta d'internet.

9.5 Taula de mostrejos per sedimentació

El procés per sedimentació és el més senzill. Només hem de realitzar un recompte directe dels microorganismes retinguts a les plaques.

| LB | Recompte de colònies per SEDIMENTACIÓ |
|---------------------------|--|
| CUINA | 18 |
| LAB. MICROBIOLOGIA | 31 |
| LAB. INTEGRAT | 6 |
| FACULTAT | 19 |

| SABOURAUD | Recompte de colònies per SEDIMENTACIÓ |
|---------------------------|--|
| CUINA | 10 |
| LAB. MICROBIOLOGIA | 11 |
| LAB. INTEGRAT | 4 |
| FACULTAT | 8 |

Taula 10. Recompte del plaques del mostreig per sedimentació

Font: Elaboració pròpia

9.6 Càlculs del recompte de colònies que determinaran la realització gràfica de taules que representin les dades obtingudes

Un cop tenim les plaques mostrejades, realitzem el recompte de microorganismes. A l'hora de fer el mostreig vaig obtenir dues rèpliques a cada hora, així podré realitzar la mitjana entre les dues i obtenir un resultat més pròxim.

PAS 1)

Apuntem el número de colònies a la casella R i anomenem R' a la segona rèplica obtinguda a la mateixa hora. Realitzem la mitjana entre els dos valors:

| Fórmula: | Exemple: |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| $\bar{x} = \frac{\sum xi}{N}$ | $\bar{x} = \frac{(11+18)}{2} = 14.5$ |

- \sum = sumatori
- Xi: cada valor de la variable
- N: nombre total de dades.

PAS 2)

Sabent el flux d'aire i el temps de mostreig que s'ha aplicat, es pot calcular el número d'unitats formadores de colònies per litre a l'aire, aplicant la fórmula següent:

| Fórmula: | Exemple: |
|---------------------------------------|--|
| $n^{\circ}ufc/l = \frac{NC}{NU}$ | $n^{\circ}ufc/l = \frac{14.5}{10} = 1.45 \text{ cfu/l}$ |
| $n^{\circ}ufc/l = \frac{\bar{x}}{10}$ | <p>-NC: número de colònies per placa (la mitjana de les dues rèpliques R i R')</p> <p>-NU: número d'unitats de temps al mostreig (volum)</p> |

PAS 3)

Repetim el mateix procés per obtenir les unitats formadores de colònies a partir d'un volum de 100 litres.

PAS 4)

Tot seguit realitzem la mitjana aritmètica a partir dels valors de la cfu/l obtinguts a partir de 10l i el cfu/l obtingut a partir de 100l.

| Fórmula: | Exemple: |
|-------------------------------|---|
| $\bar{x} = \frac{\sum xi}{N}$ | $\bar{x} = \frac{(1.45+0.88)}{2} = 1.165$ |

PAS 5)

Calculem la variància :

| Fórmula: | Exemple: |
|---|---|
| $\text{var}(x) = \frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1}$ | $\text{var}(x) = \frac{(1.45-1.165)^2 + (0.88-1.165)^2}{1} = 0.16245$ |

PAS 6)

Calculem la desviació típica o estàndard. És l'arrel quadrada de la variància. La desviació típica o estàndard de la mostra correspon a l'error absolut, que ens dóna idea del promig de les diferències respecte la mitjana aritmètica.

| Fórmula: | Exemple: |
|--|---|
| $\delta x = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1}}$ $= \sqrt{\text{var}(x)}$ | $\delta x = \sqrt{\frac{(1.45-1.165)^2 + (0.88-1.165)^2}{1}} = 0.40305$ |

PER SABER MÉS...

- Hem de tenir en compte que en alguns dels casos en què el nombre d'unitats formadores de colònies trobades és superior a 5 es recomana realitzar la identificació dels microorganismes existents a l'aire mostrejat.
- Als ambients considerats estèrils el número d'unitats formadores de colònies ha de ser 0.

9.7 Taules gràfiques: medi LB i Sabouraud

Taula gràfica realitzada a partir dels valors obtinguts al mostreig a espais interiors amb plaques LB. Mitjançant les fórmules estadístiques explicades anteriorment he realitzat la següent taula. El valors de 10l i 100l corresponen a la quantitat de volum d'aire aspirat per minut.

| LB | | | | | | | | | | | | | |
|--|-----|-----|----|-----------|-------|------|-----|-----------|-------|--------------------|----------|----------|----------------------|
| | | 10L | | | | 100L | | | | \bar{x} cfu/l | $Var(x)$ | δ | $\bar{x} \pm \delta$ |
| | | R | R' | \bar{x} | Cfu/l | R | R' | \bar{x} | Cfu/l | | | | |
| C U I N A | 9h | 11 | 18 | 14.5 | 1.45 | 94 | 82 | 88 | 0.88 | 1.165 | 0.16245 | 0.40305 | 1.165±0.403 |
| | 14h | 15 | 13 | 14 | 1.4 | 116 | 178 | 147 | 1.47 | 1.435 | 0.00245 | 0.04950 | 1.435±0.049 |
| D E S P A T X | 9h | 4 | 7 | 5.5 | 0.55 | 64 | 53 | 58.5 | 0.585 | 0.5675 | 0.00061 | 0.02475 | 0.5675±0.0248 |
| | 14h | 9 | 8 | 8.5 | 0.85 | 24 | 12 | 18 | 0.18 | 0.515 | 0.22445 | 0.47376 | 0.515±0.474 |
| L A B O R A T O R I | 9h | 2 | 6 | 4 | 0.4 | 42 | 39 | 40.5 | 0.405 | 0.4025 | 0.00001 | 0.00354 | 0.4025±0.0035 |
| | 14h | 21 | 16 | 18.5 | 1.85 | 150 | 150 | 150 | 1.5 | 1.675 | 0.06125 | 0.24749 | 1.675±0.247 |

Taula 11. Taula gràfica: interpretació dels valors obtinguts als espais interior. Placa LB.

Font: Elaboració pròpia

Taula gràfica realitzada a partir dels valors obtinguts al mostreig d'espais exteriors a la Facultat amb plaques LB. Mitjançant les fórmules estadístiques explicades anteriorment he realitzat la següent taula. El valor de 100l correspon a la quantitat de volum d'aire aspirat per minut.

| LB | | | |
|-----------------|-----|------|-------|
| | | 100L | cfu/l |
| | | R | |
| TERRAT | 10h | 45 | 0.45 |
| PATI INTERIOR 1 | 10h | 78 | 0.78 |
| PATI EXTERIOR | 10h | 40 | 0.4 |
| PATI INTERIOR 2 | 10h | 39 | 0.39 |
| BAR | 10h | 48 | 0.48 |
| BIBLIOTECA | 10h | 84 | 0.84 |

Taula 12. Taula gràfica: interpretació dels valors obtinguts als espais exteriors. Placa LB.

Font: Elaboració pròpia

Taula gràfica realitzada a partir dels valors obtinguts al mostreig d'espais interiors amb plaques Sabouraud. Mitjançant les fórmules estadístiques explicades anteriorment he realitzat la següent taula. El valors de 10l i 100 corresponen a la quantitat de volum d'aire aspirat per minut.

| SABOURAUD | | | | | | | | | | | | | |
|--|-----|-----|----|-----------|-------|------|----|-----------|-------|--------------------|----------|----------|----------------------|
| | | 10L | | | | 100L | | | | \bar{x} cfu/l | $Var(x)$ | δ | $\bar{x} \pm \delta$ |
| | | R | R' | \bar{x} | Cfu/l | R | R' | \bar{x} | Cfu/l | | | | |
| C U I N A | 9h | 10 | 14 | 12 | 1.2 | 38 | 41 | 39.5 | 0.395 | 0.7975 | 0.32401 | 0.56922 | 0.7975± 0.5692 |
| | 14h | 2 | 7 | 4.5 | 0.45 | 35 | 33 | 34 | 0.34 | 0.395 | 0.00605 | 0.07778 | 0.7975± 0.0778 |
| D E S P A T X | 9h | 2 | 3 | 2.5 | 0.25 | 9* | 52 | 30.5 | 0.305 | 0.2775 | 0.00151 | 0.03889 | 0.7975±0.0389 |
| | 14h | 2 | 2 | 2 | 0.2 | 16 | 15 | 15.5 | 0.155 | 0.1775 | 0.00101 | 0.03182 | 0.7975±0.0318 |
| L A B O R A T O R I | 9h | 10 | 8 | 9 | 0.9 | 53 | 49 | 51 | 0.51 | 0.705 | 0.07605 | 0.27577 | 0.7975±0.2758 |
| | 14h | 9 | 11 | 10 | 1 | 40 | 33 | 36.5 | 0.365 | 0.6825 | 0.20161 | 0.44901 | 0.7975±0.4490 |

Taula 13. Taula gràfica: interpretació dels valors obtinguts als espais interiors. Placa Sabouraud.

Font: Elaboració pròpia

Taula gràfica realitzada a partir dels valors obtinguts al mostreig d'espais exteriors a la Facultat amb plaques Sabouraud. Mitjançant les fórmules estadístiques explicades anteriorment he realitzat la següent taula. En aquest cas, només s'ha mostrat a una determinada hora (10h) amb una potència de 100 l d'aire aspirat per minut. He descartat la idea de realitzar més mostres ja que si parlem de zones exteriors (patís i terrat) es caracteritzen per ser espais on augmenta el nombre de fongs i amb el primer resultat ja podem extreure conclusions.

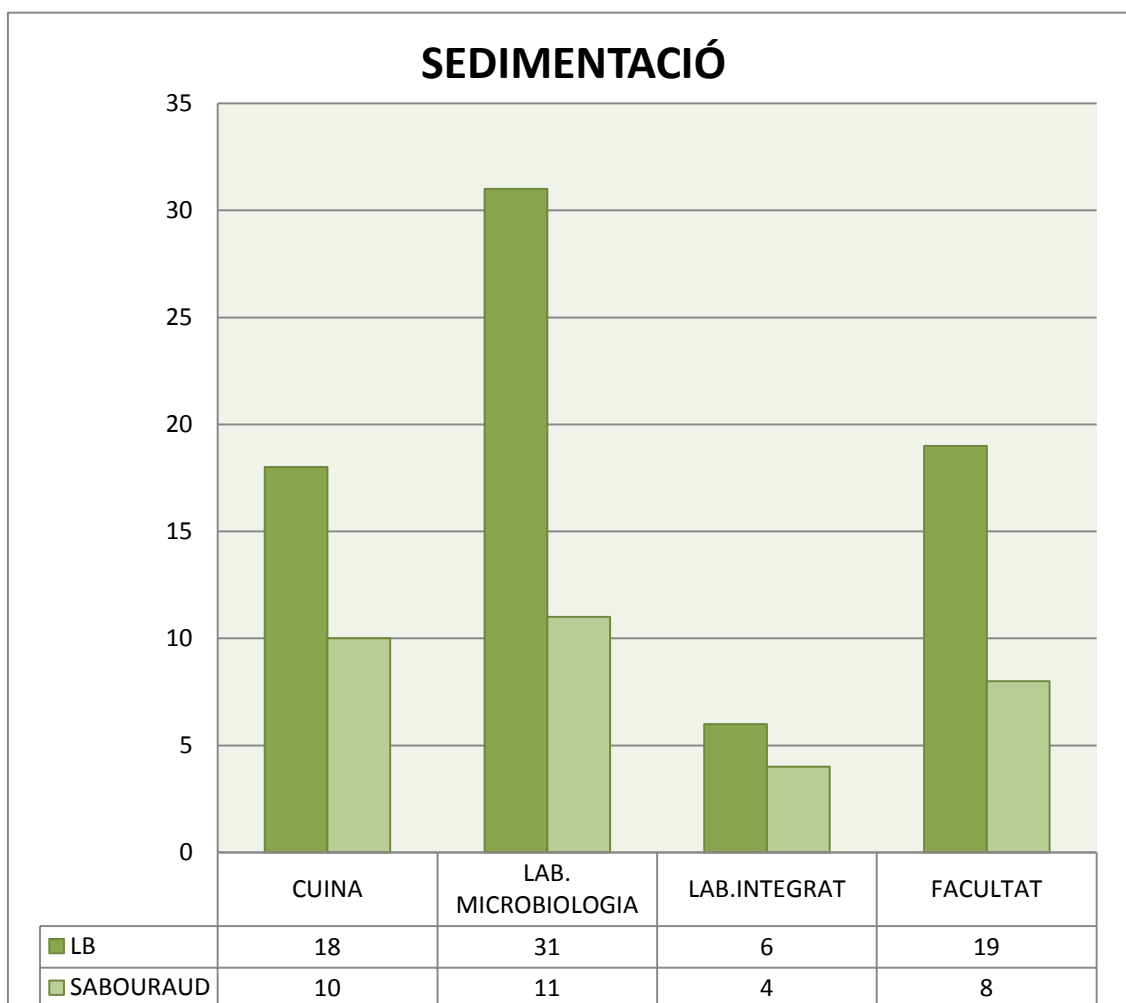
| SABOURAUD | | | |
|-----------------|-----|------|-------|
| | | 100L | cfu/l |
| | | R | |
| TERRAT | 10h | 67 | 0.67 |
| PATI INTERIOR 1 | 10h | 72 | 0.72 |
| PATI EXTERIOR | 10h | 44 | 0.44 |
| PATI INTERIOR 2 | 10h | 57 | 0.57 |
| BAR | 10h | 41 | 0.41 |
| BIBLIOTECA | 10h | 31 | 0.31 |

Taula 14. Taula gràfica: interpretació dels valors obtinguts als espais exteriors. Placa Sabouraud.

Font: Elaboració pròpia

9.8 Representació de les dades mitjançant gràfics

- A partir de les dades obtingudes realitzem els següents gràfics:



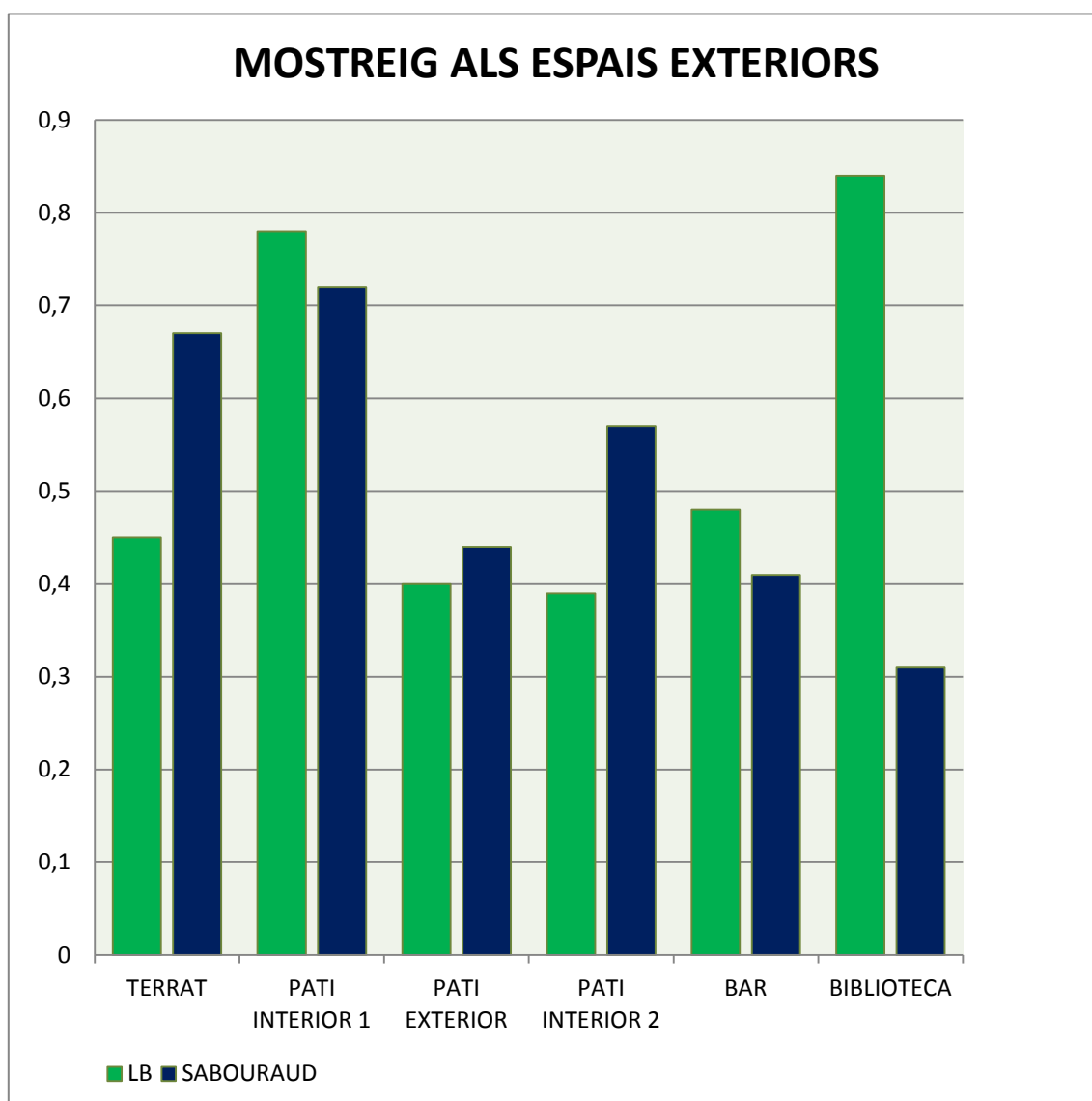
Gràfic 1. Estudi del número de microorganismes per sedimentació.

Font: Elaboració pròpia

Com podem veure les plaques que contenen medi LB han retingut més microorganismes que les plaques amb medi Sabouraud. El medi amb LB és ric en nutrients i es fa a partir d'un extracte de llevat. Poden créixer la majoria dels bacteris.

El medi Sabouraud reté més fàcilment fongs, ja que conté peptona i el triple de glucosa que altres medis i aquests són els principals nutrients pel desenvolupament de fongs.

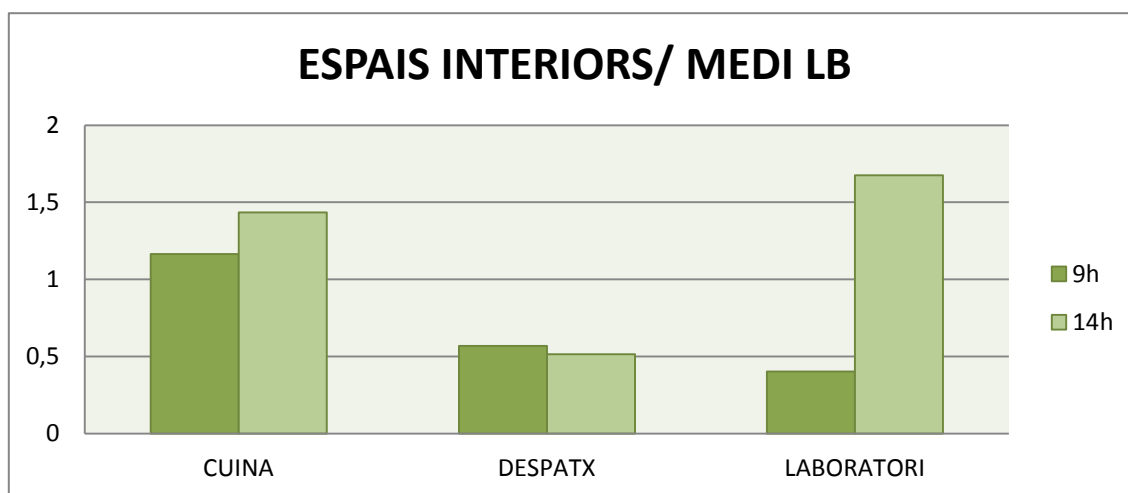
Per tant podem afirmar que hi ha una major proporció de bacteris. Al laboratori de microbiologia hem obtingut un valor el suficientment alt com per realitzar una inspecció, però com es tracta d'una àrea on es manipula amb material biològic, és lògic que el nombre sigui elevat; en altres casos caldria realitzar la identificació d'aquests microorganismes.



Gràfic 2. Estudi del número de microorganismes als espais exteriors.

Font: Elaboració pròpia

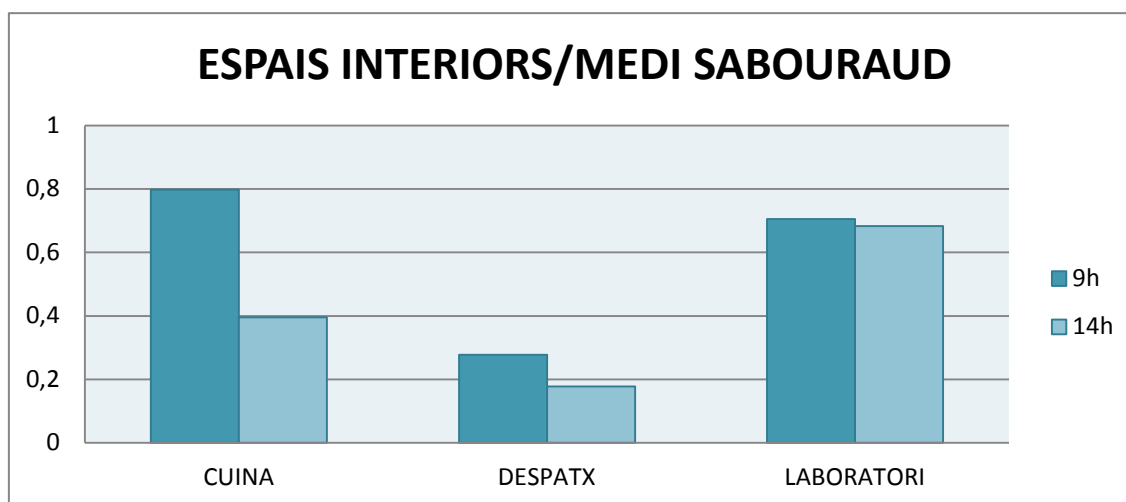
Com podem veure, als espais exteriors hi ha una diversitat més àmplia. Al mètode per sedimentació la major proporció corresponia a les plaques amb medi LB, en aquest cas no. Com hem pogut observar, al terrat, al pati exterior i al pati interior 2 hi ha més fongs que bacteris. Aquest augment creixent de fongs és degut a la gran quantitat de matèria orgànica (arbres, fullam, plantes) que resideix als espais oberts. Aquest ecosistema afavoreix el desenvolupament de fongs. Tot i que constatem un augment creixent de fongs continua havent-hi un nombre de bacteris elevat als recintes tancats (bar i biblioteca).



Gràfic 3. Estudi del número de microorganismes als espais interiors amb medi LB.

Font: Elaboració pròpia

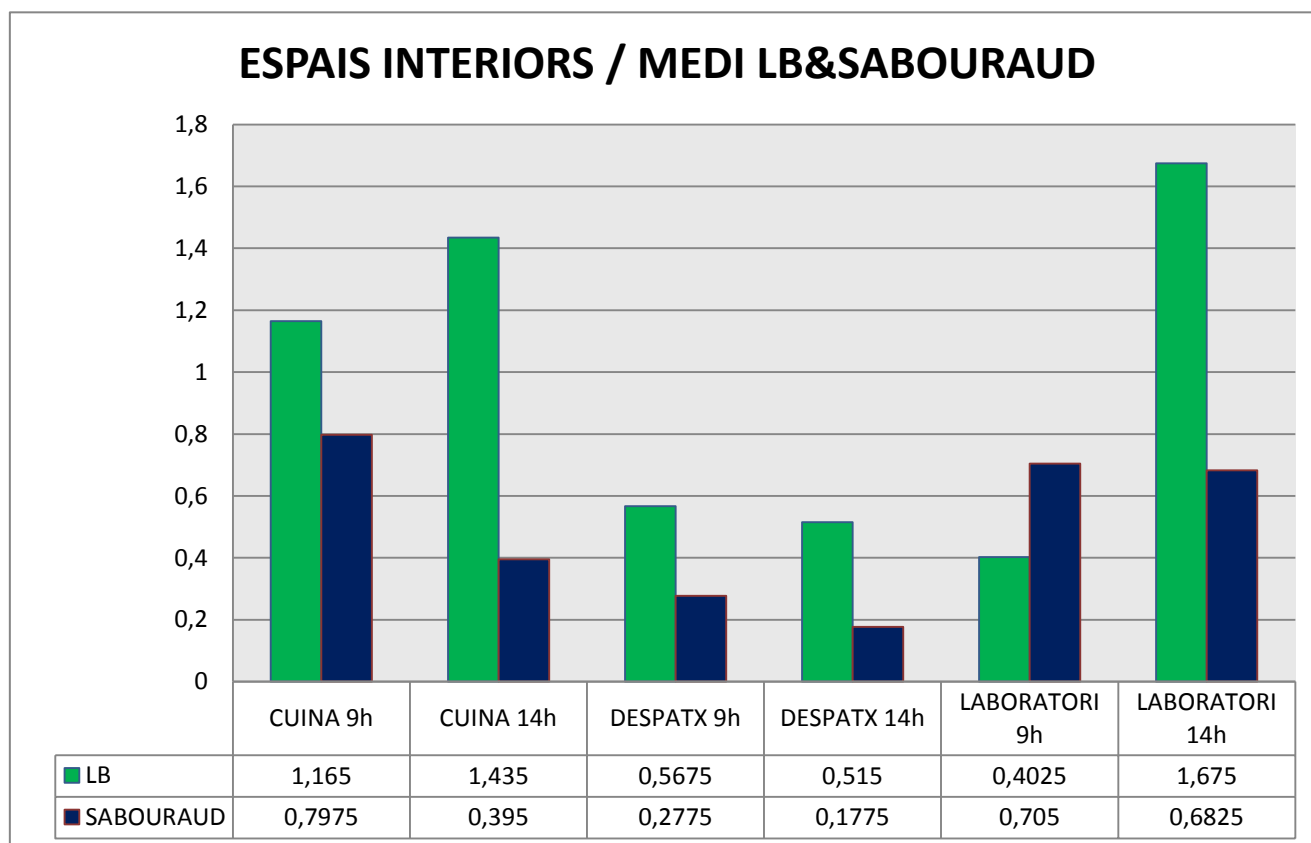
El present gràfic s'ha creat a partir de la mitjana entre les diferents potències: 10l i 100l mostres d'aires per minut. Constatem un augment creixent degut a la presència de persones a la cuina, tant a les 9h per esmorzar i les 14h per dinar s'obtenen bacteris de la biota de les persones i del material biològic que es manipula. Al despatx varia unes mil·lèsimes, tant a les 9h com a les 14h assisteix gent al recinte. A les 14h al laboratori obtenim un nombre molt elevat, podem constatar que a les 9h encara no s'han exercit pràctiques al laboratori.



Gràfic 4. Estudi del número de microorganismes als espais interiors amb medi Sabouraud.

Font: Elaboració pròpia

Gràfic a espais interiors amb medi Sabouraud s'ha creat a partir de la mitjana entre les diferents potències: 10l i 100l mostres d'aires per minut. A les 9h a la cuina s'ha manipulat material biològic que ha originat fongs. Abans de les 14h (hora de dinar) el servei de neteja ha desinfectat l'àrea; per això obtenim un nombre inferior. Al despatx no varia gaire el nombre de fongs. Al laboratori es manté constant tant a les 9h com a les 14h.



Gràfic 5. Comparació del número de microorganismes als espais interiors amb medi Sabouraud i medi LB.

Font: Elaboració pròpia

L'últim gràfic s'ha construït a partir de les mitjanes (10l i 100l aire per minut) del medi LB i medi Sabouraud. La metodologia aplicada va possibilitar comparar la càrrega microbiològica de l'aire als llocs mostrejats i determinar els llocs amb baixa concentració en relació amb altres de major concentració.

Podem comparar el nombre de bacteris i fongs obtinguts a les 9h i 14h depenent del medi que s'ha utilitzat per mostrejar. La quantitat de bacteris a l'aire normalment varia segons el nombre de personal al recinte, per exemple a la cuina 9h i 14h circula més gent per tant obtenim un nombre més elevat. A la majoria dels recintes estudiats s'ha trobat una major proporció de bacteris que de fongs, excepte al laboratori a les 9h. Els llocs amb poca gent; com el despatx representen llocs on les fonts d'inòcul són mínimes. A la cuina i laboratori, en canvi, on es treballa amb material biològic, representen cúmuls de microorganismes, per tant estan més concentrats a l'aire. El menor número de bacteris i fongs s'ha trobat en llocs de poca concurrència i on les fonts de propagació de microorganismes són mínimes, com el despatx (0,5675 cfu/l en medis LB i 0,2775 cfu/l en medis Sabouraud). En canvi dintre d'àrees amb alta concurrència s'observa que el número promig de bacteris trobats augmenta considerablement (1,165- 1,675 ufc/ en medis LB). Això suggereix que la presència d'individus representen fonts de contaminació a l'aire.

Per altra banda en analitzar la densitat microbiana a l'aire de laboratoris s'han registrat valors de contaminació microbiològica considerables. En aquest laboratori s'analitzen quotidianament mostres procedents de tractaments biològics; per tant és evident obtenir un nombre de fongs i bacteris rellevant.

9.9 Identificació dels microorganismes obtinguts als mostrejos

Un cop obtingut el recompte de colònies i fet a l'anàlisi dels resultats, mitjançant una tinció s'han pogut reconèixer algunes de les espècies més dominants dels diferents recintes.

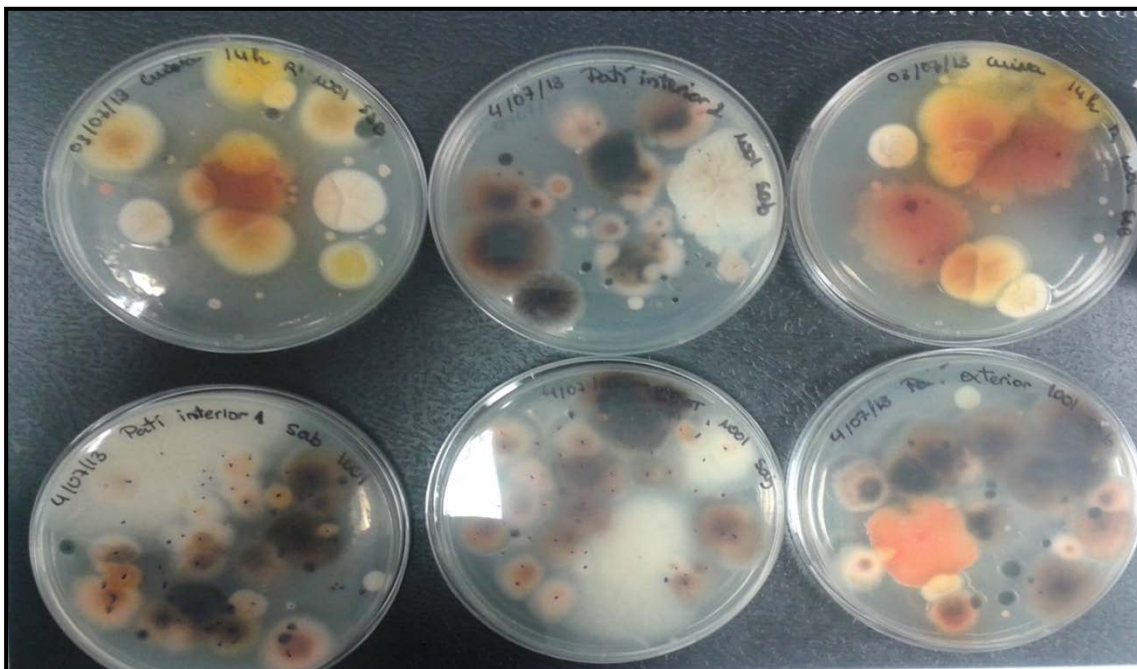


Figura 53. Resultats dels mostrejos

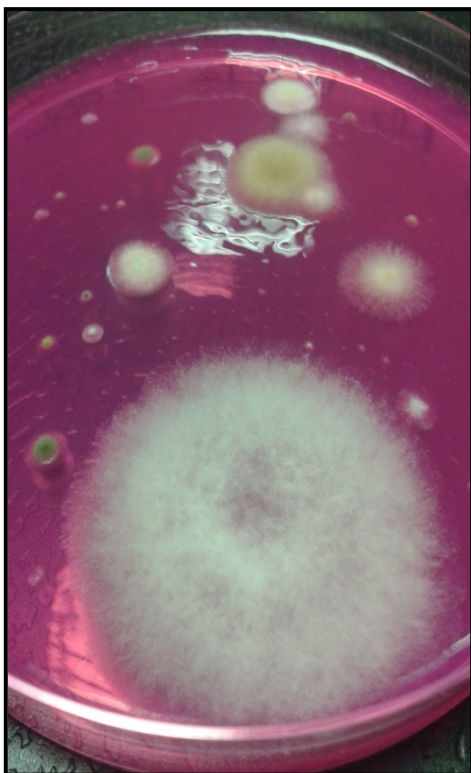


Figura 55. Mostreig per sedimentació:
Placa Rosa de Bengala.



Figura 54. Mostreig al pati exterior

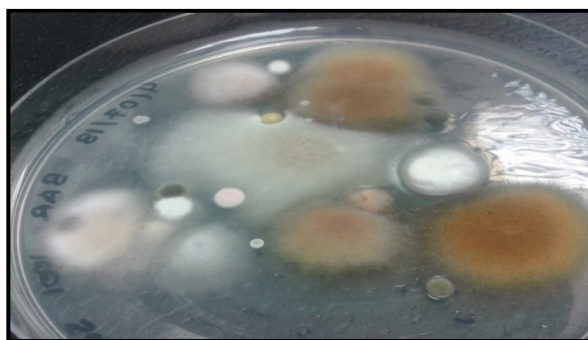


Figura 56. Mostreig al bar

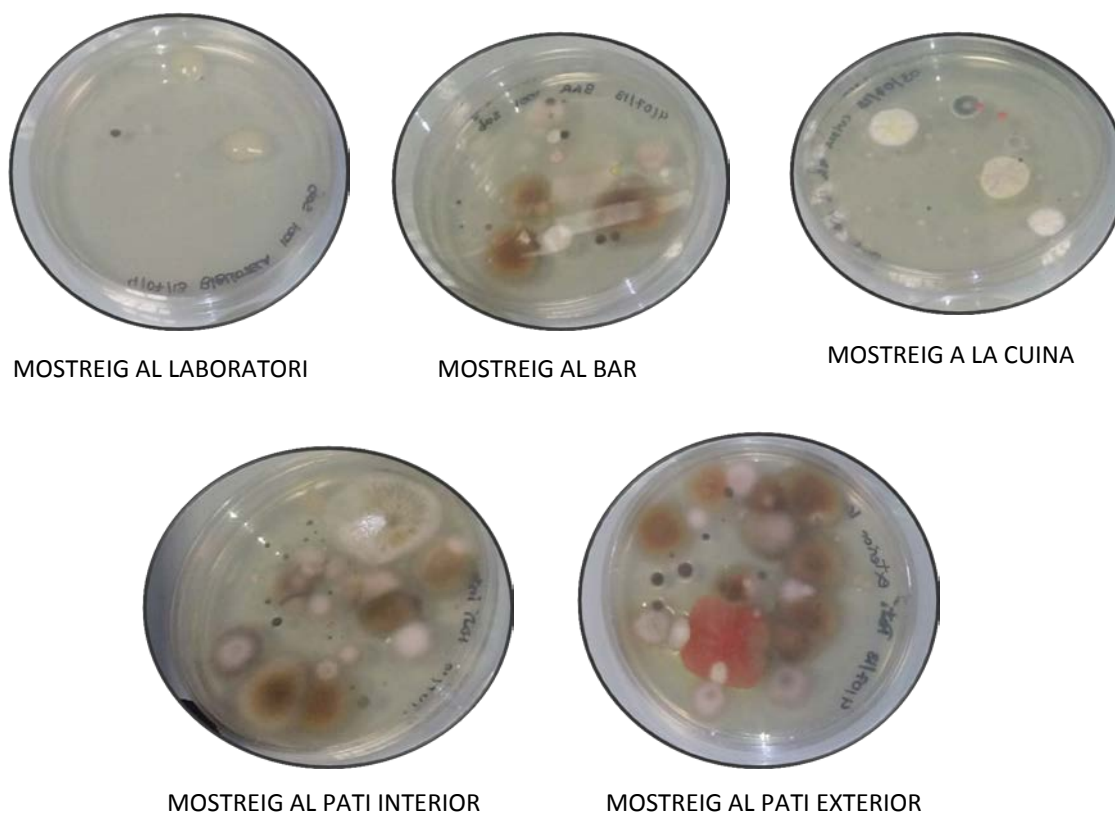


Figura 57. Diversos mostrejos.

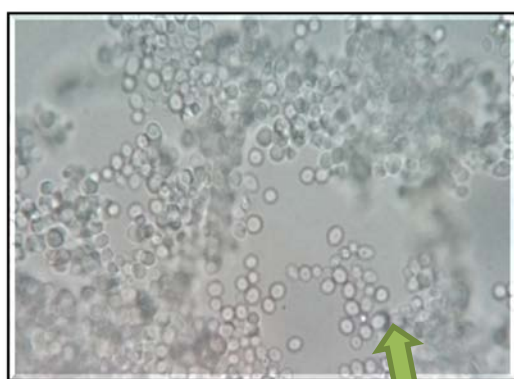


Figura 58. Llevat Mucor

LLEVAT MUCOR:

Es pot trobar en espais tancats, pertany al gènere de llevats Mucor . Tenen una gran activitat coagulant de la llet, entre les més utilitzades tenim Mucor pusillus i Mucor miehei.

ESPORES

9.9.1 Estudi de les fotografies de bacteris

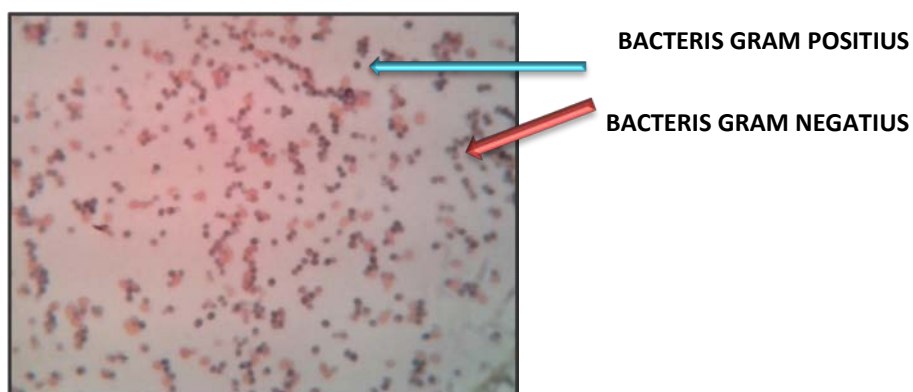


Figura 59. Colònies de bacteris

En aquesta imatge trobem dos tipus de colònies de bacteris.

-BACTERIS GRAM POSITIU

-BACTERIS GRAM NEGATIU

- Els bacillus habitualment corresponen a bacteris del tipus gram positiu o negatiu. La seva forma és allargada, formant barres o varetes. Els exemples més populars són els bacteris de E.coli i la Salmonell que són els responsables d'intoxicacions per aliments. Dintre dels bacillus també poden anomenar a dos tipus de bacteris molt perillosos: *Bacillus anthracis*, que causa la mortal malaltia pulmonar i el Clostridium, que causa gangrenes.
- Bacteris en forma esfèrica tenen la capacitat de viure com a cèl·lules individuals o ajuntar-se formant cadenes. El **Saphylococcus** i **Streptococcus** són els dos tipus de bacteris més comuns dintre d'aquesta classificació i són del tipus gram positiu. Poden causar infeccions a la pell, intoxicacions, amigdalitis..

9.9.2 Estudi de les fotografies de fongs

Mitjançant el següent guió podem classificar els fongs segons la seva estructura externa. La superfície pot ser arrodonida, concèntrica, arrugada.. Els més abundants són els fongs filamentosos.

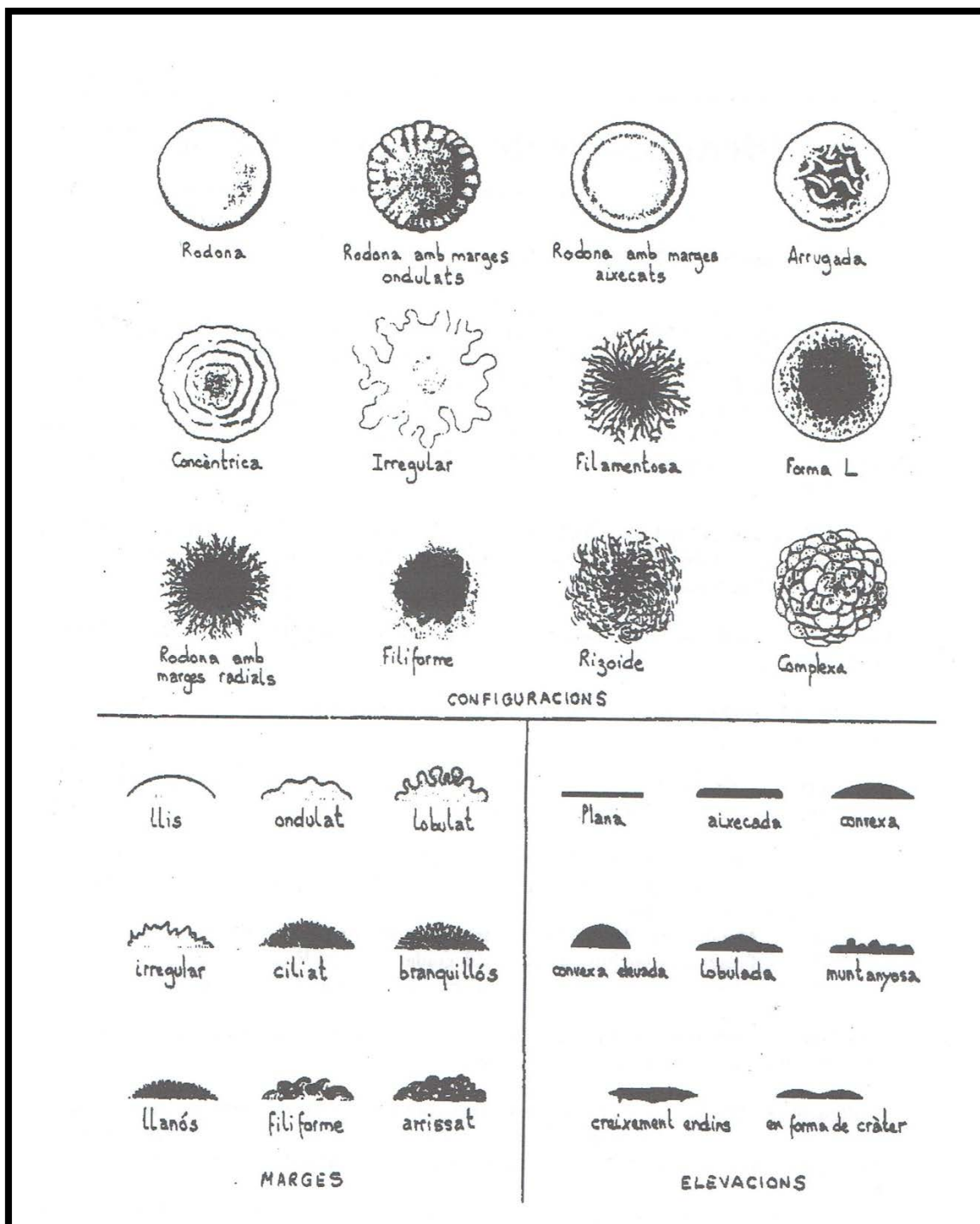


Figura 60. Estructura externa dels fongs

- Mitjançant una tinció especial per fongs podem identificar alguna de les espècies:



Figura 61. Tints per la coloració de fongs.



Figura 62. Procés de tinció

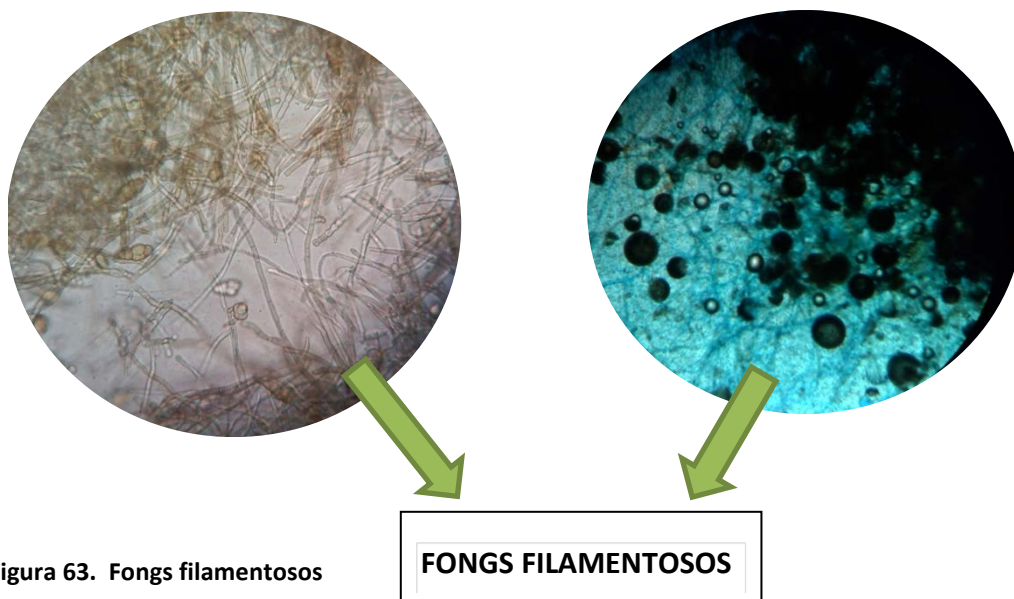
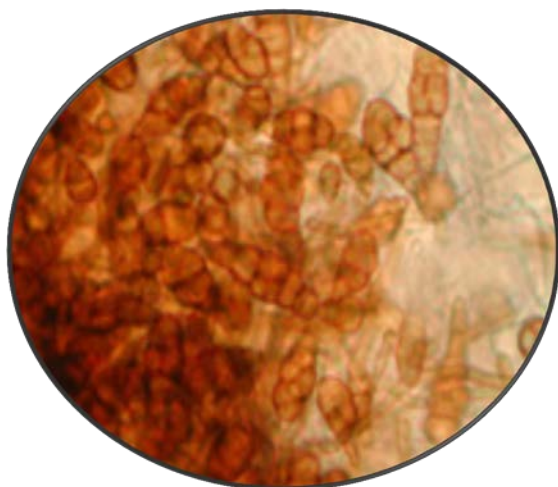


Figura 63. Fongs filamentosos

Figura 64. *Rhizopus stolonifer*

RHIZOPUS STOLONIFER: fong amb finalitats medicinals. Depèn del sucre i midó, ja que són les seves fonts de nutrició. És un agent de la malaltia de les plantes, s'encarrega de descompondre la matèria orgànica. Quan es desenvolupen en un ambient humit, com per exemple a un tros de pa, té la capacitat de propagar-se en pocs dies. Les seves espores es troben normalment a l'aire, aquestes creixen més ràpid a temperatures entre 15 ° C i 30 ° C.

Figura 65. *Alternaria*

ALTERNARIA: És un tipus de fong que es pot trobar en descomposició, a les plantes, aliments, i diferents tipus de sòl. Es troba amb major freqüència a l'exterior on es desenvolupen les espores. També es pot trobar a espais interiors, a catifes, acumulacions de pols, al voltant de les dutxes ,etc. Pot provocar al·lèrgies, sobretot hipersensibilitat a l'exposició d'espores.

- Amb el servei de lupes, es van poder observar fongs amb més precisió:

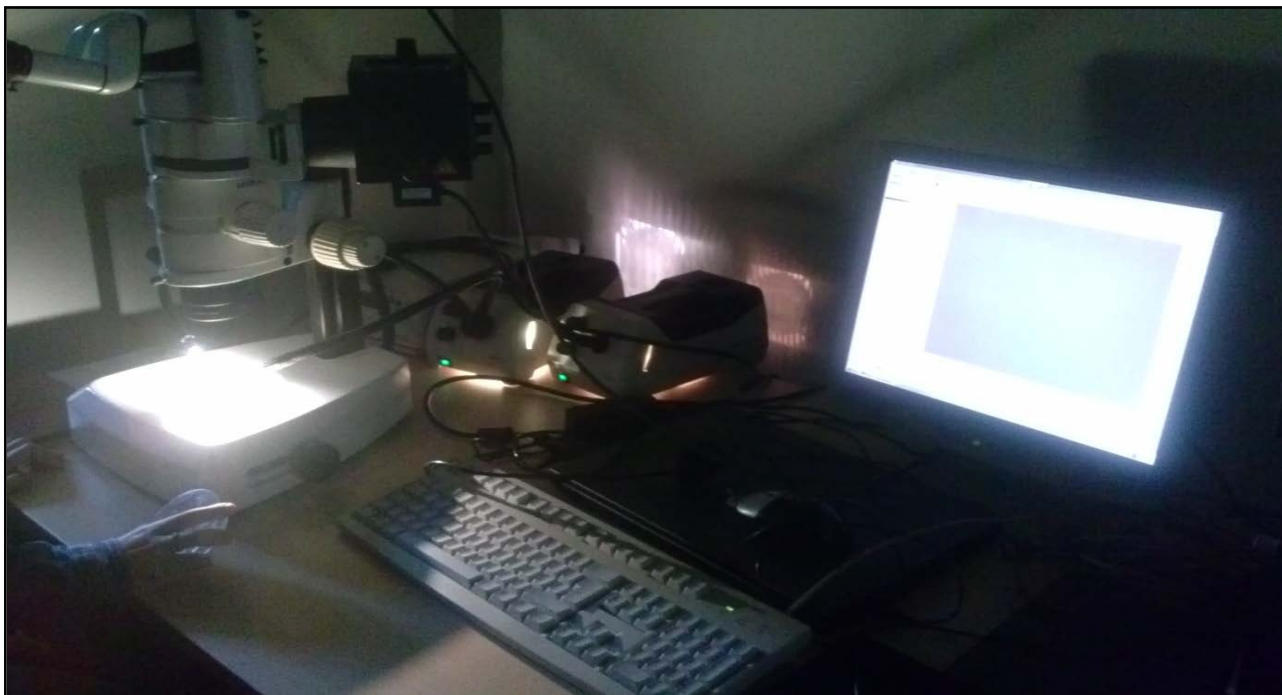
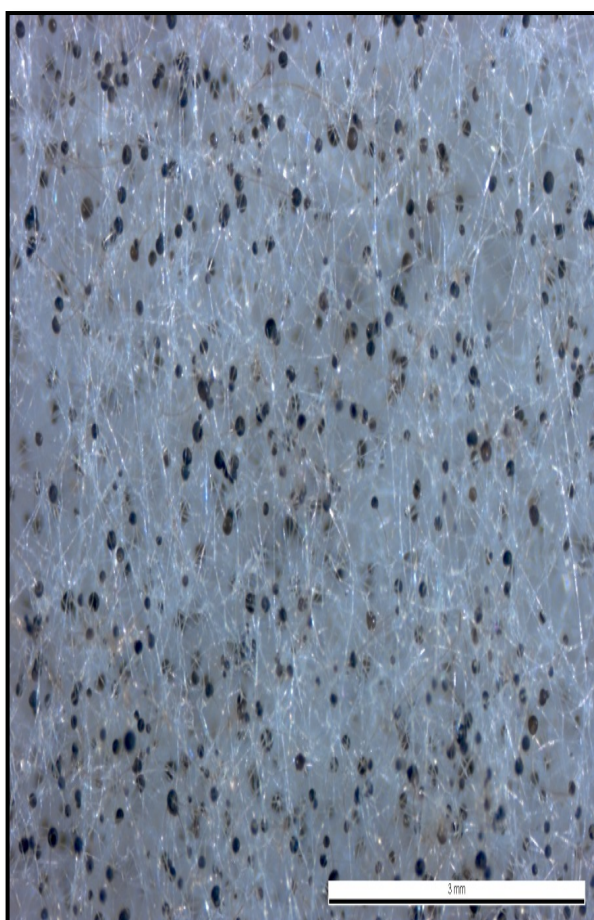
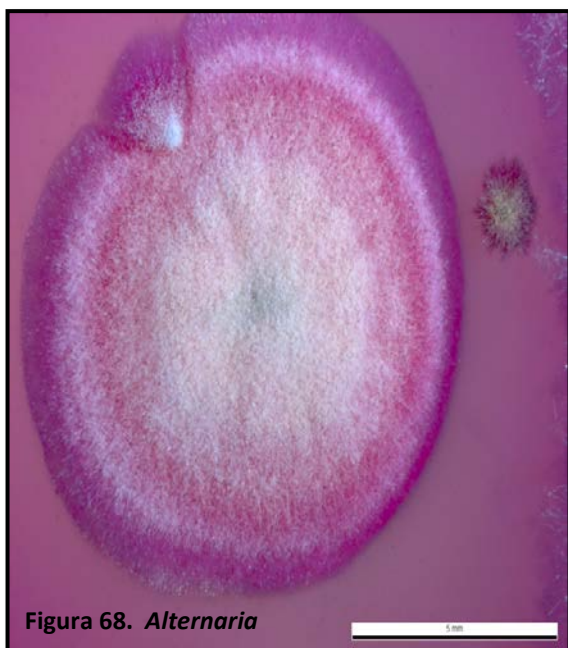


Figura 66. Servei de lupes de la UAB



ASPERGILLUS NIGER: fong filamentós molt invasiu. Es va trobar al despatx d'un laboratori on es treballa amb material biològic. Pertany al grup Deuteromycetes (fongs imperfectes). El gènere *Aspergillus* és un fong àmpliament difós a la naturalesa, ja que es desenvolupa al vegetals en descomposició, grans de cereals, teixits de cotó, llana, plomes... El seu medi és enfosquit, humit i tancat. Es poden trobar espores d'*Aspergillus* dintre d'edificis, als aparells d'aire acondicionat (com és el cas) i també es formen als aliments amb floridures. L'espècie *Aspergillus niger* forma colònies micelials blanques i groguenques, a mesura que es va desenvolupant apareixen punts negres; aquests són els anomenats caps *aspergiars* (troben carregats d'espores). Aquest fong és productor d'àcids orgànics i és utilitzat per l'obtenció d'enzims com glucoamilasa, per tant s'utilitza molt per la producció de compostos químics.

Figura 67. *Aspergillus Niger*

Figura 68. *Alternaria*

ALTERNARIA: en aquesta imatge podem veure l'estructura física del fong *Alternaria*, una visió diferent a la del microscopi òptic. Té la capacitat de deteriorar aliments. Poden actuar com a patògens reduint el rendiment de les collites i afectant els vegetals. És necessari la identificació del tipus de gènere *Alternaria*, ja que cada tipus conté un grup de característiques que permeten predir el comportament del fong davant la planta. Com hem dit abans, també pot produir hipersensibilitat als humans.

Figura 69. *Phoma*

PHOMA: fong extret per sedimentació a partir de les plaques Rosa de Bengala (es pot apreciar el color rosat que té). Aquesta espècie de fong és molt abundant a la natura; n'existeixen més de 2000 espècies al terra. Forma petites estructures circulars sobre lesions del tall i fulles de plantes.

Actualment el gènere *Phoma* sp. ocasiona la mort dels garrofers, ataca les branques i les arrels.

Figura 70. *Penicillium*

PENICILLIUM: L'aparença de la massa de les cèl·lules filamentosos (el miceli) i les espores asexuals donen aquest aspecte polvorí. Està compost per cadenes de cèl·lules anomenades hifes. Algunes de les espècies produeixen l'antibiòtic.

10. ESTUDI DE LES DADES MICROBIOLÒGIQUES OBTINGUES EN DIFERENTS AMBIENTS

10.1 Estudi del control microbiològic a la Facultat d'Enginyeria de la UAB (2005)

A la gran majoria dels locals estudiats s'ha trobat en gran part una major proporció de bacteris que fongs. La quantitat de bacteris a l'aire, en general, està relacionat amb el nombre de persones presents a l'àrea, en canvi els fongs, es comporten independentment del nombre de persones. La concentració de microorganismes és més favorable en llocs tancats com: oficines, salons, lavabos, i llocs de preparació i ingesta d'aliments. Els gèneres de bacteris més freqüent són: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* i de fongs: *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Penicillium* i *Alternaria*. Aquestes espècies corresponen a la biota normal de l'aire interior de locals tancats.

L'ambient atmosfèric no pot limitar-se a una atmosfera lliure, usualment els éssers humans passem més estona dintre d'espais tancats (casa, pisos, restaurants, llocs de treball, de estudi, medis de transports...). Diversos estudis realitzats per la Agència de Protecció Medio-ambiental als Estats Units (EPA) indiquen que l'aire de l'interior dels espais tancats tenen un nivell de contaminació entre 2 i 5 i en alguns casos 100 vegades més concentrats que els nivells presents a l'aire exterior. És necessari la realització de controls ja que la majoria de persones passen a prop del 90% del temps en àrees interiors.

Evidentment la pol·lució de l'aire exterior afecta a persones amb al·lèrgies o simplement provoca molèsties o malestar general, però hem de tenir en compte que l'aire de l'interior dels edificis també pot generar efectes perjudicials sobre la salut com per exemple: marejos, mals de cap, nàusees, refredats, irritacions a la pell i ulls.

Dintre de la qualitat de l'ambient atmosfèric interior incideixen diversos factors com la temperatura, la humitat, els corrents d'aire... o factors químics com la concentració de gasos (el diòxid de carboni, monòxid de carboni, diòxids de sofre...). La contaminació microbiana en aquests ambients està influïda per la freqüència de ventilació, el nombre de persones i les activitats que es desenvolupen.

Els tractaments de prevenció de la qualitat microbiològica de l'aire interior es basen en impedir la multiplicació dels agents contaminants.

A la Facultat d'Enginyeria de la UAB (2005) es va realitzar un estudi del nombre de microorganismes a partir de diversos mostres a diverses àrees de l'edifici a partir de plaques de Petri de 8,5cm de diàmetre que contenien Agar per la detecció de bacteris i fongs. Van prendre tres mostres per lloc d'estudi en presència i absència de persones en tres moments concrets del dia.

Varen observar que els llocs sense gent representen llocs on les fonts d'inòcul són mínimes. Però, els lavabos, cuina, i laboratori on es treballa amb material biològic representen un cúmul de microorganismes. El mostreig en presència o absència de persones va permetre identificar la contaminació que introdueix l'activitat humana.

En general, el menor nombre de bacteris es troba en els llocs més concorreguts i on no existeixen fonts de propagació de microorganismes com les oficines on hi ha poca presència de persones (promig de 12 ± 7 UFC/placa/h). Però dintre de sales o àrees on la presència de persones és més elevada, el promig augmenta considerablement (55 ± 23 UFC/placa/h). Per tant podem concloure que la presència d'individus representa fonts de contaminació a l'aire. Evitar la sobrepoblació dels espais, sobretot tancats, ajudaria a disminuir el risc de la possible aparició de bacteris patògens per la salut humana.

10.1.1 Estudi de la influència que exerceix la presència i absència de persones sobre els microorganismes en tres moments concrets del dia

| Medio | Bacterias (PCA) | | | Hongos (PDA) | | |
|--|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| Condición | Sin Gente UFC/h* | Con Gente UFC/h | Mucha Gente UFC/h | Sin Gente UFC/h* | Con Gente UFC/h | Mucha Gente UFC/h |
| Oficinas | | | | | | |
| Bedelia | 3 | 17 | | 4 | 14 | |
| Contaduría | 4 | 2 | | 2 | 2 | |
| Oficina del Personal | 3 | 15 | | 4 | 12 | |
| Secretaria de IIQ | 2 | 11 | | 3 | 14 | |
| Secretaria Facultad | 0 | 6 | | ND | 4 | |
| Unidad de Enseñanza | 9 | 20 | | 19 | 25 | |
| Promedio | 3,5 (± 3) | 11,8 (± 7) | | 5,4 (± 7) | 11,7 (± 8) | |
| Laboratorios | | | | | | |
| Lab. IIMPI | 3 | 9 | | 7 | 8 | |
| Lab. IMFIA | 20 | 14 | | 15 | 7 | |
| Lab. I Bio. | 10 | 8 | | 22 | 26 | |
| Lab. 3 Bio. | 12 | 20 | | 12 | 15 | |
| Lab. Software IIE | 6 | 37* | 51* | 7 | 16 | |
| Reactores I | 29 | 102* | 158* | | | |
| Reactores II | 5 | 4 | | 9 | 11 | |
| Promedio | 12,1 (± 9) | 27,6 (± 12) | | 11,9 (± 6) | 13,9 (± 7) | |
| Salones de Clase y Relacionados | | | | | | |
| Biblioteca I | 9 | 50 | | 10 | 18 | |
| Biblioteca II | 29 | 66 | | 10 | 20 | |
| Corredor 1er piso | 81 | 105* | 87* | 18 | 42* | 28* |
| Fotocopiadora del CEI | 14 | 72 | | 70 | 29 | |
| Salón 011 | 6 | 13* | 130* | 32 | 41* | 19* |
| Salón 015 | 9 | 18 | | 2 | 22 | |
| Salón 101 | 1 | 36 | | 37 | 45 | |
| Salón 103 | 6 | 52 | | 8 | 25 | |
| Salón 107 | 7 | 42 | | 3 | 18 | |

Taula 15. Nombre de bacteris i fongs en presència i absència de persones.

Font: Estudi a la Facultat d'Enginyeria de la UAB(2005).

10.1.2 Gèneres de bacteris i fongs

| Locales | BACTERIAS | | | HONGOS | | |
|--|---|----------------------------|--|-------------------------|--------------------------|---|
| Oficinas | | | | | | |
| Bedelia | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Epicoccum</i> sp. | |
| Contaduría | <i>Micrococcus</i> sp. | | | <i>Alternaria</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | |
| Oficina del Personal | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Flavobacterium</i> sp. | <i>Corynebacterium</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | | |
| Secretaría de IIQ | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | | <i>Mucor</i> spp. | <i>Penicillium</i> spp. | |
| Secretaría Facultad * | <i>Corynebacterium</i> sp. | <i>Nocardia</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Mucor</i> spp. | <i>Penicillium</i> spp. | |
| Unidad de Enseñanza | <i>Campylobacter</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Rhizopus</i> spp. | |
| Laboratorios | | | | | | |
| Lab. IIMPI | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Aerococcus</i> sp. | <i>Eikenella</i> sp. | <i>Penicillium</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | |
| Lab. IMFIA | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Alcaligenes</i> sp. | <i>Trichoderma</i> sp. | | |
| Lab. I Bio. | <i>Staphylococcus</i> sp. o <i>Aerococcus</i> sp. | <i>Kurthia</i> sp. | <i>Neisseria</i> sp. o <i>Actinobacillus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Aspergillus</i> sp. | |
| Lab. 3 Bio. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Alternaria</i> sp. | |
| Lab. Software IIE | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | |
| Reactores I ** | <i>Actinobacillus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Aspergillus</i> sp. | <i>Penicillium</i> sp. <i>Epicoccum</i> sp. |
| Reactores II | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Flavobacterium</i> sp. | <i>Pseudomonas</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Aureobasidium</i> sp. | |
| Salones de Clase y Relacionados | | | | | | |
| Biblioteca I | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Streptococcus</i> sp. | | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Alternaria</i> sp. | <i>Epicoccum</i> sp. |
| Biblioteca II | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Actinobacillus</i> sp. o <i>Pasteurella</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Epicoccum</i> sp. | |
| Corredor 1er piso | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Pseudomonas</i> sp. | | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Epicoccum nigrum</i> | |
| Fotocopiadora del CEI | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Streptococcus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Fusarium</i> sp. | <i>Aspergillus</i> sp. <i>Torula</i> sp. |
| Salón 011 | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | | <i>Mucor</i> spp. | <i>Trichoderma</i> sp. | <i>Penicillium</i> sp. |
| Salón 015 | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. o <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Epicoccum</i> sp. | |
| Salón 101 | <i>Bacillus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Bordetella</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Epicoccum nigrum</i> | <i>Botrytis</i> sp. |
| Salón 103 | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Corynebacterium</i> sp. | | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Aureobasidium</i> sp. | |
| Salón 107 | <i>Neisseria</i> sp. | <i>Staphylococcus</i> sp. | <i>Micrococcus</i> sp. | <i>Rhizopus</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. | <i>Alternaria</i> sp. <i>Phoma</i> sp. |

Taula 16. Espècies de bacteris i fongs identificats

Font: Estudi a la Facultat d'Enginyeria de la UAB(2005).

10.1.3 Gèneres i freqüència de bacteris i fongs

| Bacterias | | | Hongos | | |
|------------------------------|------------|----|------------------------------|------------|----|
| Género | Frecuencia | % | Género | Frecuencia | % |
| <i>Actinobacillus</i> * | 1 | 1 | <i>Alternaria</i> ** | 8 | 10 |
| <i>Aerococcus</i> | 3 | 4 | <i>Aspergillus</i> * | 4 | 5 |
| <i>Alcaligenes</i> | 1 | 1 | <i>Aureobasidium</i> | 3 | 4 |
| <i>Bacillus</i> * | 11 | 13 | <i>Botrytis</i> | 2 | 2 |
| <i>Bordetella</i> | 2 | 2 | <i>Cladosporium</i> | 28 | 33 |
| <i>Campylobacter</i> * | 1 | 1 | <i>Epicoccum</i> | 12 | 14 |
| <i>Corynebacterium</i> * | 3 | 4 | <i>Fusarium</i> ** | 4 | 5 |
| <i>Eikenella</i> | 1 | 1 | <i>Mucor</i> * | 3 | 4 |
| <i>Flavobacterium</i> * | 2 | 2 | <i>Penicillium</i> * | 8 | 10 |
| <i>Kurthia</i> | 2 | 2 | <i>Phoma</i> | 1 | 1 |
| <i>Lactobacillus</i> | 1 | 1 | <i>Rhizopus</i> * | 4 | 5 |
| <i>Micrococcus</i> | 27 | 32 | <i>Torula</i> | 3 | 4 |
| <i>Neisseira</i> * | 1 | 1 | <i>Trichoderma</i> | 4 | 5 |
| <i>Nocardia</i> * | 1 | 1 | | | |
| <i>Pausteurella</i> | 1 | 1 | | | |
| <i>Pseudomonas</i> * | 2 | 2 | | | |
| <i>Staphylococcus</i> * | 22 | 26 | | | |
| <i>Streptococcus</i> * | 3 | 4 | | | |
| Total de Aislamientos | 85 | | Total de Aislamientos | 84 | |
| Total de Géneros | 18 | | Total de Géneros | 13 | |

Taula 17. Diverses freqüències de fongs i bacteris en determinades hores

Font: Estudi a la Facultat d'Enginyeria de la UAB(2005).

Després del resultat que hem vist anteriorment, l'Equip de la Facultat d'Enginyeria de la UAB va concloure que la presència de bacteris és deguda a:

a) **Problemes per falta de ventilació en àrees d'alta concurrència de persones.**

b) **Problemes de ventilació i falta d'higiene als lavabos.**

A las avaluacions de la qualitat de l'aire a l'interior dels edificis, a més de determinar els paràmetres microbiològics com el "Número total de Microorganismes", " el Número total de Gèrmens" i el " Número de fongs i llevats" es realitza una detecció de la presència d'*Enterobacteris*. La família d'*Enterobacteris* constitueix un grup molt gran i heterogeni de bacteris gram negatius. Reben aquest nom per la seva localització habitual al tub digestiu encara que també actuen com a gèrmens del terra, aigua i vegetació i formen part de la flora intestinal de molts animals. Els més coneguts són:

| Gènere | Espècies |
|---------------------|---------------------------------|
| Escherichia | Coli,alberti,alvei |
| Salmonella | choleraesuis |
| Enterobacter | Cloacae, aglomerans |
| Serratia | marcencens |
| Providencia | rettgeri |
| Klebsiella | Pneumoniae,oxytoca,granulomatis |
| Proteus | Mirabilis,vulgaris |

Taula 18. *Enterobacteris* importats

Font: Taula extreta d'internet

| Localización | Enterobacterias más frecuentes |
|------------------------------|---|
| Sistema nervioso central | <i>Escherichia</i> |
| Tracto respiratorio inferior | <i>Klebsiella, Enterobacter, Escherichia</i> |
| Torrente sanguíneo | <i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i> |
| Tracto digestivo | <i>Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia</i> |
| Tracto urinario | <i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella</i> |

Taula 19. Localitzacions d'infeccions més freqüents produïdes pel gènere *Enterobacteri*

Font: Taula extreta d'Internet

10.1.4 Avaluació de les taules gràfiques

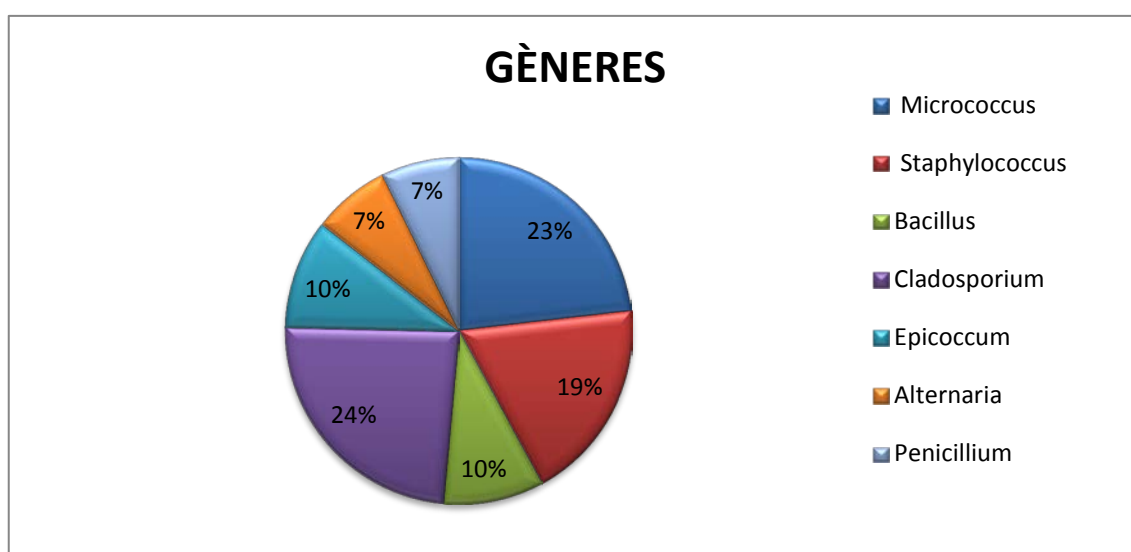
- A l'anàlisi no van trobar cap de les espècies d'Enterobacteris més habituals:

1. *Escherichia coli*
2. *Staphylococcus aureus*,
3. *Pseudomona areuginosa*
4. *Candida albicans*
5. *Legionella pneumophila*
6. *Sporothrix shenckii*

- Els gèneres trobats amb major freqüència va ser:

1. *Micrococcus*
2. *Staphylococcus*
3. *Bacillus*
4. *Cladosporium*
5. *Epicoccum*
6. *Alternaria*
7. *Penicillium*

RESULTATS:



Gràfic 6. Gèneres trobats amb major freqüència

Font: Elaboració pròpia

D'acord amb el que s'ha exposat podem afirmar que:

1. 11 dels gèneres trobats podrien representar perills per la salut humana. Diverses espècies poden arribar a ser patògens per la salut humana (al·lèrgies, irritacions..).
2. Queda conclòs que l'existència de bacteris a l'aire està associat a la presència de persones.
3. L'alta densitat microbiana detectada al laboratori de Reactors és deguda al desenvolupament de tasques relacionades amb la manipulació de productes biològics. S'hauria d'establir mesures de prevenció i un control més estricte.
4. -Els principals gèneres de bacteris i fongs trobats amb major freqüència: Micrococcus, Staphylococcus, Bacillus, Cladosporium, Epicoccum, Alternaria i Penicillium (com podem comprovar al gràfic). Aquests gèneres van ser trobats en altres treballs de mostreig de la qualitat de l'aire a l'interior d'edificis i en general pertanyen a la biota normal d'ambients interiors.

| | | | | | | |
|-------------|----|------|------|--|--|--|
| Reactores I | 29 | 102* | 158* | | | |
|-------------|----|------|------|--|--|--|

10.2 Estudi de la qualitat de l'aire d'edificis per l'agència de protecció del medi ambient dels Estats Units

M'he documentat sobre el tema i he trobat les següents dades :

1. Un estudi realitzat per Cox-Ganser va arribar a la conclusió que els símptomes de l'asma que presentaven uns treballadors eren deguts a uns determinats contaminants biològics presents a l'aire de l'àrea tancada on realitzaven les seves tasques. Els principals agents biològics responsables pertanyien a gèneres de *Penicillium* i *Aspergillus*. (Cox-Ganser et al.,2002)
2. Cruz Perez, expert en microbiologia va realitzar un estudi a una residència per comprovar l'existència de fongs a l'interior de l'edifici a través de mostres de l'aire i a catifes. Les principals espècies trobades van ser *Stachybotrys spp.* y *Aspergillus*. (2002).
3. A una escola de New Jersey es va realitzar un estudi de la qualitat de l'aire . L'aire interior de l'edifici presentava nivells de contaminació fins 261.000colònies/m³ , els gèneres més dominants: *Aspergillus* i *Penicillium*. A més a les catifes es van detectar nivells de més de 12 milions d'ufc/g, gèneres com *Cladosporium* i *Penicillium*.

El reglaments de l'Institut Nacional de Seguretat d'Higiene afirmen que:

-Si el número total d'ufc/m³ excedeix de 10.000, es recomana aplicar urgentment mesures correctores.

- Si el número total d' ufc/m³ és inferior a 10.000 es recomana la identificació dels possibles agents biològics:

- Fongs, com per exemple: *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Mucor sp.*,...
- Bacteris, com per exemple: gram negatiu o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Corynebacterium* ...

Per tant aquesta escola urgentment ha de prendre mesures correctores per disminuir el nombre d'agents biològics. Els estudis van demostrar la importància dels mostres i protocols correctors per la reducció del risc a l'exposició dels individus de l'edifici a espècies potencialment patògenes o tòxiques.

4.Un altre estudi realitzat a Finlàndia va agafar mostres de guix de la paret d'un edifici escolar per detectar la presència de fongs. Van identificar alguns com: *Aspergillus versicolor*, *Chaetomium*... (104-106 cfu/g). A 60 cm del terra es va trobar *Penicillium* (103 cfu/g). L'equip d'investigació de Kujanpää va arribar a la conclusió que el problema era degut a la neteja del terra, el excés d'aigua afavoria el desenvolupament de fongs a les parets properes al terra.

5. Estudis realitzats per Park&lkeda a 5 edificis públics, van concloure que el gèneres més abundants són: *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Alternaria*.

PODEM CONCLoure QUE..

- En general els gèneres més freqüents són: **ASPERGILLUS, CLADOSPORIUM I PENICILLIUM**. Són coneguts per ser els principals productors de micotoxines i poden arribar a ser patògens pels humans.
- Els gèneres bacterians més comuns identificats en mostres d'aire interior d'edificis públics son: **Staphylococcus i Micrococcus**. (Sampò et.al 2002).

11.3 EDIFICI MALALT

Els problemes relacionats amb la qualitat de l'aire en un ambient interior (CAI) han anat augmentant a la nostra societat al llarg dels anys. Les característiques dels edificis que s'estan construint, les tècniques de construcció, alguns materials que s'estan utilitzant afavoreixen el desenvolupament d'aquest síndrome.

Els ocupants de l'edifici relacionen els seus problemes de salut i benestar amb el període de permanència i els atribueixen a la contaminació de l'aire, ja sigui química, microbiològica o falta de confort, existència de factors físics, com soroll o il·luminació incorrecta. Tot aquest conjunt pot arribar a originar la síndrome de l'edifici malalt.

La selecció del procediment depèn del tipus d'edifici. Normalment es treballa per fases. Aquest sistema facilita l'aplicació de solucions i mesures preventives, d'aquesta manera es pot reduir el problema més aviat. Tota investigació comença per una inspecció inicial.

11.3.1 Primera fase: inspecció inicial

Recollir informació sobre l'edifici i el seu funcionament. Tot seguit, realitzar una revisió general. Aquesta informació ha de completar-se amb les opinions, queixes i els problemes específics de confort de salut que manifestin els usuaris.

Un altre aspecte important és la revisió dels productes químics utilitzats a l'edifici..

- Productes de neteja, desinfectants i ceras utilitzades pels serveis de neteja.
- Pesticides i herbicides utilitzats per l'eliminació de plagues.
- Els desinfectants utilitzats al manteniment de sistemes de l'edifici.

Finalitzada la inspecció de l'edifici s'ha de disposar de la suficient informació per establir unes conclusions i prendre mesures per solucionar el problema.

11.3.2 Segona fase: avaluació inicial

Les mesures cal realitzar-les a:

- Zones on es manifesti el problema.
- El sistema de calefacció, ventilació..
- Espais exteriors.

Les temperatures elevades potencien els símptomes induïts pels contaminants presents a l'aire. En general, el diòxid de carboni present a l'aire s'obté de la respiració humana i s'utilitza com a referència del nivell de contaminació

11.3.3.Tercera fase: determinació de compostos específics

La identificació de molts dels problemes s'haurà completat, tot i que alguns casos convindrà confirmar algunes hipòtesis realitzant anàlisis de compostos específics. Es poden detectar productes de combustió, si el diòxid de carboni supera 3 vegades el nivell exterior es considera una alerta . Si es detecta diòxid de nitrogen i diòxid de sofre, s'han de prendre mostres a les zones on es manifestin les queixes. El mostreig de partícules haurà de realitzar-se quan la investigació inicial afirmi que hi ha un excés de pols o quan les queixes consisteixin en irritacions i reaccions al·lèrgiques. La determinació de bioaerosols s'haurà de realitzar quan existeixi una evidència, que es produeixin malalties induïdes per microorganismes, com per exemple la hipersensibilitat, l'asma al·lèrgica...

Normalment acabat l' estudi i plantejades i realitzades les modificacions per la correcció dels problemes detectats hauran desaparegut la majoria de les queixes inicials.

11.3.3 Conseqüències:

- Incrementar a curt o llarg termini els problemes de salut dels ocupants de l'edifici especialment aquells que passen més estona. Dintre dels problemes de salut destaca: tos, irritació d'ulls, mal de cap, reaccions al·lèrgiques, i fins i tot infeccions greus.
- Agreujar malalties respiratòries o persones amb asma. L'exposició d'individus a un ambient amb gran quantitat de pols, bacteris i fongs pot afectar greument segons quina malaltia respiratòria.
- Accelerar el deteriorament físic de l'edifici.
- Provocar el tancament d'edificis públics pel risc que representa a la salut pública.

11.3.5 Risc que pot comportar

Podem concloure que les persones més susceptibles a la presència de contaminants a l'aire interior dels edificis són:

- Persones amb asma, al·lèrgies o amb sensibilitat a agents químics.
- Persones amb deficiències o malalties respiratòries.
- Persones amb el sistema immunitari feble ja sigui per radiació, quimioteràpia o malalties externes.

11.3.6 Fonts de contaminació i contaminants biològics

Principals fonts que poden provocar una mala qualitat de l'aire en ambients tancats:

- Sistemes de calefacció i refrigeració
- Ocupants
- Vies de trànsit

En general la mala qualitat de l'aire és deguda a una acció combinada dels sistemes mecànics de ventilació, l'activitat humana, corrents d'aire.. La concentració de contaminants presents a l'aire varia entre les diferents zones de l'edifici.

A continuació citarem alguns dels contaminants biològics existents dintre d'edificis: **virus, bacteris, protozous, fongs..** També existeixen altres contaminants com:

-Els artròpodes: organismes pluricel·lulars amb diferents fases de desenvolupament (ou-larva-adult) .Algunes espècies d'artròpodes són endoparàsits, travessen la superfície del cos. Altres viuen temporalment sobre la superfície d'un cos i poden causar malalties ja que inoculen toxines que produeixen irritacions.

Els contaminants es classifiquen dintre de:

AGENTS INFECCIOSOS: es transmeten amb més facilitat dintre d'ambients tancats. El volum d'aire en el qual es transmeten els microorganismes és més baix; per tant el contacte és més gran. A més, les persones passen més temps dintre d'ambients tancats que a l'exterior. Algunes malalties contagioses es transmeten directament des del medi ambient, com per exemple *la Legionella* que es multiplica dintre de torres de refrigeració, panys de la dutxa, escombraries.. També existeixen els fongs patògens que es troben dispersos al terra. Quan aquests són alterats pel vent o per excavacions, poden introduir-se a l'ambient interior.

ANTÍGENS: substàncies com proteïnes, glicoproteïnes o polisacàrids que es troben a l'aire d'ambients tancats i poden causar malalties com pneumonitis, hipersensibilitat, asma.. Procedeixen de microorganismes artròpodes o animals.

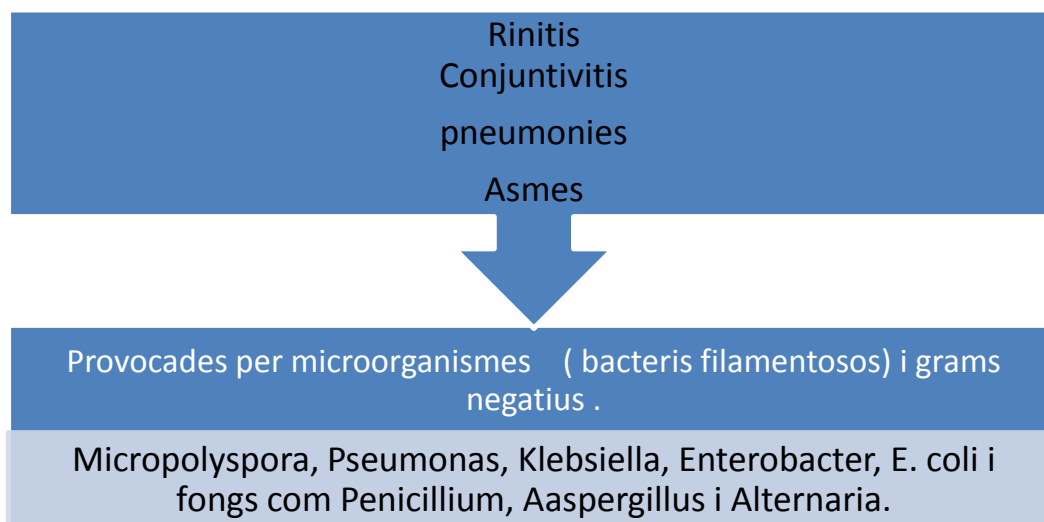
TOXINES: substàncies que produeixen efectes nocius. La major part es troba a l'aire d'ambients interior, igual que els antígens, aquests estan constituïts per endotoxines bacterianes i micotoxines bacterianes procedents de fongs . Quan el bacteri productor creix allibera toxines.

11.3.7 Malalties més freqüents dintre d'ambients amb mala qualitat

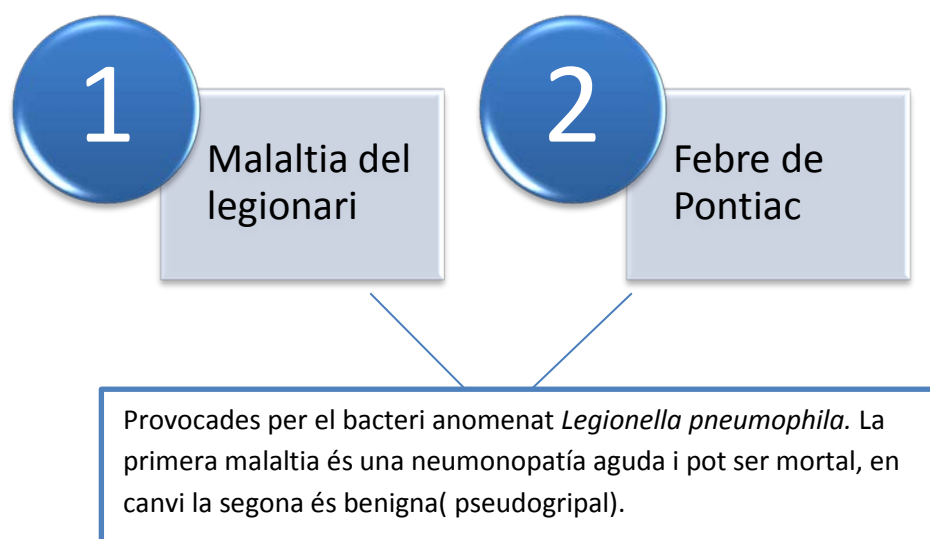
| Agente Infeccioso | Afección |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Actinomyces thermophilus</i> | Neumonía por hipersensibilidad |
| <i>Aspergillus</i> sp. | Aspergilosis |
| <i>Bacillus anthracis</i> | Antrax por inhalación |
| <i>Brucella melitensis</i> | Brucelosis |
| <i>Chlamydia psittaci</i> | Psitacosis |
| <i>Coccidioides immitis</i> | Coccidioidomycosis |
| Diversos agentes | Coriomeningitis linfocitaria |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> | Histoplasmosis |
| <i>Klebsiella</i> | Infecciones diversas |
| <i>Legionella pneumophila</i> | Legionelosis |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Tuberculosis pulmonar |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | Meningitis meningocócica |
| Orthopoxvirus | Viruela |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Infecciones diversas |
| <i>Staphylococcus</i> sp. | Neumonía estafilocócica |
| <i>Streptococcus</i> sp. | Neumonía estreptocócica |
| Virus Cocksackie | Infecciones diversas |
| Virus de la Influenza | Gripe |
| Virus de la Rabia | Rabia por vía aérea (excepcional) |
| Virus respiratorios | Infecciones diversas |

Taula 19. Contaminants biològics i malalties més comuns en ambients tancats

Font: Estudi microbiològic de la Facultat de Ciències de la UAB.



MALALTIES INFECCIOSES:



Esquema 7. Malalties infeccioses

Font: Elaboració pròpia

13. CONCLUSIONS

Aquesta recerca ens ha permès determinar una sèrie de conclusions òptimes que responen a les hipòtesis formulades anteriorment. Els resultats d'aquest estudi demostren la importància de control del grau de dispersió dels microorganismes, sobretot dintre de llocs tancats, ja que poden originar efectes nocius. Tot seguit raonaré les diverses hipòtesis redactades basant-me en els resultats obtinguts de les anàlisis microbiològiques:

Hi ha més quantitat de bacteris presents a l'atmosfera de les ciutats que a les zones rurals.

D'acord amb els experts els aerobacteris són més nombrosos a les ciutats (4000 UFC/ m^3 , promig 850) respecte les zones rurals (3400 UFC/ m^3 , promig 99). Els bacteris Gram positius (73-90%) representen el grup predominant, els més abundants *Micrococcus* i *Staphylococcus*. Es registren altes concentracions al bosc, entremig i altes a zones rurals i baixes en zones costeres. Els gram negatiu representen una baixa proporció de la població dels aerobacteris, on els grups característics són les *Pseudomonas* (5.5-10.7%) principalment a zones rurals. A l'atmosfera de zones marines s'han registrat concentracions d'aerobacteris de 1-32 UFC/ m^3 .

Dintre d'espais tancats la concentració de microorganismes ha de ser més petita que als espais exteriors.

L'estudi revela que als recintes tancats, com ara, el bar i la biblioteca no confirmen la hipòtesi realitzada anteriorment. L'ambient atmosfèric no pot limitar-se a una atmosfera lliure, usualment els éssers humans passem més estona dintre d'espais tancats (casa, pisos ,restaurants, llocs de treball, de estudi, medis de transports..). Diversos estudis realitzats indiquen que l'aire dels espais tancats té un nivell de contaminació entre 2 i 5 sobre 10.

Com es tracten d'àrees tancades el nombre de bacteris augmenta. L'estudi demostra que l'existència de bacteris a l'aire en llocs tancats està associat a la presència de persones. Un ambient tancat amb poca ventilació pot comportar risc, les persones que passen la major part del seu temps en aquell indret desprèn bacteris de la seva biota normal (bacteris del seu cos). Quan més gent hi hagi al recinte, més acumulacions de bacteris es trobarà. El menor número de bacteris s'ha trobat en llocs de poca concurrència i on les fonts de propagació de microorganismes són mínimes, en canvi dintre d'àrees on augmenta la sortida i entrada de persones s'observa que el número promig de bacteris trobats augmenta considerablement (1,165- 1,675 ufc/ en medis LB).

Els gèneres de bacteris més freqüent són: *Micrococcus*, *Staphilococcus*, *Bacillus* i de fongs: *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Penicillium* i *Alternaria*. Aquestes espècies corresponen a la biota normal de l'aire interior de locals tancats.

La presència de bacteris a l'ambient pot comportar riscos per la salut.

Aquestes anàlisis ens han permès constatar que, en general, és aconsellable realitzar un mostreig d'àrees tancades i obertes. D'aquesta manera es poden comparar les condicions internes i externes. Tot i que el control microbiològic de l'aire es realitza en molts laboratoris i indústries, no existeix cap legislació que delimiti ni recomani quins són els nivells de microorganismes màxims d'acord amb les característiques de cada instal·lació, a excepció de les indústries farmacèutiques. Per tant aquelles instal·lacions on no existeix cap legislació, els controls tenen com a finalitat detectar aquells moments en què els nivells de contaminació de l'aire augmenten per sobre dels valors habituals o si apareixen microorganismes patògens. Existeixen bilions de microorganismes per tones de pols, i només es pot aïllar el 1% de microorganismes associats a aquestes partícules. Tot i que es considera que la concentració de patògens és molt baixa per originar infeccions als humans, és important tenir en compte que un individu amb resposta immune deficient pot infectar-se fins i tot a través de dosis baixes. Dels humans, cal destacar, que les principals fonts de bacteris a l'aire provenen de la nostra biota. L'efecte més important a la població humana (des del punt de vista econòmic i pel nombre de persones afectades) són els problemes d'hipersensibilitat. Evidentment la pol·lució de l'aire exterior afecta a persones amb al·lèrgies o simplement provoca molèsties o malestar general, però hem de tenir en compte que l'aire de l'interior dels edificis també pot generar efectes perjudicials sobre la salut com per exemple: marejos, mals de cap, nàusees, refredats, irritacions a la pell i ulls.

En llocs tancats el desenvolupament de fongs és independent de la presència de persones.

Estem convençuts que la hipòtesi plantejada anteriorment és certa. Les anàlisis demostren que el nombre de fongs es comporta independentment a la presència o absència de persones. Els factors que incideixen en l'aparició d'aquests es basa en el tipus d'ambient on resideixin, com per exemple, l'estudi ens mostra que en espais oberts on es produeixen canvis de temperatura i humitat resideixen més fongs ja que en aquestes condicions són capaços de desenvolupar-se. En general els gèneres més freqüents són: **ASPERGILLUS, CLADOSPORIUM I PENICILLIUM**. Són coneguts per ser els principals productors de micotoxines i poden arribar a ser patògens pels humans.

El desenvolupament de determinats microorganismes pot arribar a provocar el tancament d'un edifici.

L'estudi demostra que la hipòtesi plantejada és certa. Quan els ocupants de l'edifici relacionen els seus problemes de salut i benestar amb el període de permanència i els atribueixen a la contaminació de l'aire, ja sigui química, microbiològica o falta de confort, existència de factors físics, com soroll o il·luminació incorrecta, aquest conjunt pot arribar a originar la síndrome de l'edifici malalt. Cal realitzar una sèrie de fases per determinar els agents microbiològics que produeixen aquesta falta de confort. Els més comuns són bacteris, protozous, virus i fongs; com per exemple l'*Aspergillus* que produeix hipersensibilitat, el virus de la grip, la pseudomóna que provoca diverses infeccions.. Dintre de la qualitat de l'ambient atmosfèric interior incideixen diversos factors com la temperatura, la humitat, els corrents d'aire o factors químics com la concentració de gasos (el diòxid de carboni, monòxid de carboni, diòxids de sofre..). La contaminació microbiana en aquests ambients està influïda per la freqüència de ventilació, el nombre de persones i les activitats que es desenvolupen. A una situació ideal, la concentració de contaminants biològics presents a l'interior de l'edifici ha de ser menor a la concentració existent a l'exterior. Per tant, si no es manté un seguiment continu, vigilant els paràmetres, es pot arribar a clausurar l'edifici.

14. AGRAÏMENTS

Vull donar les gràcies a tot el professorat que va dirigir el meu treball i la gran ajuda que em va facilitar el Programa Argó. Gràcies a aquesta oportunitat vaig conèixer molts companys que també realitzaven el treball de recerca, amb els quals vaig compartir informació i m'emporto molts bons records.

Tamara Antón, microbiòloga, em va proporcionar totes les eines necessàries per realitzar el treball de camp. Núria Gajú, professora i cap de departament de la Facultat de Biociències, va orientar-me dins el tema i em va facilitar informació per estructurar-ho.

Olga Fernàndez, professora de microbiologia, em va concedir una entrevista, amb la qual vaig poder concloure el treball de recerca. Núria Vigués, especialitzada en l'àrea de Microbiologia, va proporcionar-me molts articles i dossiers dels quals vaig poder relacionar tota la informació extreta del treball de camp.

Des de l'institut he d'agraciar a la meva professora de biologia, Marina Font per la seva dedicació, orientació, i suport i també a la meva professora de català, Dolors Vilamitjana, per la dedicació en la correcció de faltes.

Finalment, donar les gràcies a la família, als oncles per permetre'm l'estada a Barcelona durant el campus a la Universitat. També als pares per la seva dedicació, encara que no podien ajudar-me en el tema, van donar-me tot el suport necessari perquè tirés endavant.

Per acabar, donar les gràcies a totes aquelles persones que en un moment o altre s'han ofert per ajudar, o simplement pel fet de somriure'm i donar-me ànims.

15. GLOSSARI

Àcid teicoic: polialcohol fosforitzat de la paret cel·lular d'algunes espècies de bacteris gram positiu.

Actinomicets: gran grup de bacteris gram positius.

Aeròbic: organisme que pot utilitzar l'oxigen a la respiració.

Agent antimicrobià: compost químic que inhibeix el creixement de microorganismes.

Anaeròbic: organisme que no pot utilitzar l'oxigen a la respiració.

Autòtrof: organisme capaç de biosintetitzar tot el material cel·lular a partir del diòxid de carboni com a única font de carboni.

Cianobacteris: procariotes fotòtrofs oxigèniques.

Endosimbiosis: procés on els mitocondris i els cloroplasts es van originar a partir de membres del domini *Bacteri*.

Endospora: estructura diferenciada d'alguns bacteris grampositius, molt resistent a la calor i amb una coberta gruixuda.

Enterobacteri: un gran grup de bacteris gram negatius amb morfologia bacil·lar que es caracteritza per un metabolisme anaeròbic facultatiu i es troba habitualment als intestins animals.

Espores: Element reproductor dels vegetals.

Enzim: proteïna que té la capacitat d'accelerar una reacció química específica.

Fitopatògenes: microorganisme que provoca una malaltia vegetal.

Fotòtrof: organismes que utilitzen la llum com a font d'energia.

Garrofers: Arbre perennifoli, fruits en llegum.

Heteròtrof: organisme que requereix de compostos orgànics com a font de carboni.

Hoste: cèl·lula a l'interior de la qual es replica un virus.

Inhibició: reducció del creixement microbià degut a un descens del nombre de microorganismes presents o alteracions a l'ambient microbià.

Mesosoma: Conjunt d'estructures membranoses dels bacteris que es produeixen per invaginacions de la membrana cel·lular i tenen formes vesiculars i enrotllades de molta complexitat.

Micobacteri: Gènere de bacteris de la família de les micobacteriàcies (*Mycobacterium sp*), formats per bacteris grampositius i que inclou el bacil de Koch, causant de la tuberculosi.

Peptidoglicà: polisacàrid format per unitats alternants de N-acetilglucosamina i àcid N-acetilmuràmic que es disposa en capes adjacents unides per petits pèptids.

Proteobacteri: una gran línia evolutiva de *Bacteri* que inclou molts bacteris gramnegatius comuns, com l'*Escherichia coli*.

Úlcera pèptica: lesió a la mucosa gastrointestinal (estómac).

16. BIBLIOGRAFIA

COROMINA, Eusebi ; CASACUBERTA, Xavier ;QUINTANA, Dolors. *El treball de recerca, procés d'elaboració, memòria escrita, exposició oral i recursos*. Vic: Eumo Editorial,2008.

GRANADOS PÉREZ,Raquel ; VILLAVERDE PERIS , M^o Carmen. *Microbiologia, bacteriologia. Características y clasificación bacteriana. Virologia. Características y técnicas bioquímicas*. Madrid: Editorial paraninfo ITP, An International Thomson Publishing Company,1996.

HERZBERG,M. ; RABEL,M. *Atlas de biologia molecular*. Barcelona: Editorial @Ediciones omega,1973.

T.MADIGAN, Michael ; MARTINKO, John ; DUNLAP, Paul ; CLARK, David. *Brock, biología de los microorganismes. Authorized translation from the English Language Edition, entitled BROCK BIOLOGY OF MICROORGANISMS*. Editorial Pearson Education, 2009

Unitat de Microbiologia del Departament de Genètica i de Microbiologia de la UAB, *Microbiologia* . Bellaterra,2013.

BERENGUER, MJ., HERNÁNDEZ, A., MARTÍ MC., NOGAREDA, C., SOLÉ, MD,. GUARDINO,X. *El síndrome del edificio enfermo: Metodología para su evaluación*. Barcelona, 1994.

EPA and NIOSH. *Building air quality. A guide for Building owners and facility managers*. Washington,1991.

RIVAS F., VARELA H., GONZALES., VOLPE D., ALMEIDA A., LORENA L. *Estudio de la calidad microbiológica del Aire Interior de la Facultad de Ingeniería*. Barcelona, Institut d'Enginyeria Química.

ROSAS, Irma; SALINAS, Eva; MARTÍNEZ, Leticia; ESLAVA, Carlos; CRAVIOTO, Alejandro. *Bacterias en la atmosfera*.

PALACIOS, Aida; GARCÍA, Hilda; LEAL-LOZANO, Libertad; SÁNCHEZ-YÁÑEZ, Juan Manuel. *Microorganismos en la atmosfera de la Ciudad de Monterrey*. N.L Mèxic, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat Autònoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza. Ed.B1.

LLOCS WEB

La ventilación para una calidad aceptable del aire en la climatización de los locales [en línia].
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/701a750/ntp_742.pdf .

Identification directory [en línia]
http://www.docstoc.com/docs/document-preview.aspx?doc_id=71979152

Taula de Feller [en línia]
http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2011/01/Muestreo%20Microbiol%C3%B3gico%20de%20Aire.pdf

Estudio de los microorganismos [en línia]
http://www.bioygeo.info/pdf/19_Microorganismos_interes_y_estudio.pdf

Identificación de hongos filamentosos [en línia]
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>

Clasificación de las bacterias [en línia]
<http://www.ojocientifico.com/2011/06/30/clasificacion-de-las-bacterias-segun-su-forma>

Contaminantes biológicos [en línia]
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/201a300/ntp_203.pdf

ARTICLES

Un de cada deu catalans pren antibiòtics sense recepta. e-noticies.com

Un estudi de l'Institut Cavanilles analitza els efectes dels antibiòtics en la flora intestinal. Parc Científic. Universitat de València.

Patente de antibióticos contra la crisis. Marta-Costa Pau. Elpaís.com

La UE alerta del abuso de los antibióticos en España. Emilio de Bento. Elpaís.com

La rebelión de las bacterias se cobra vides. Milagros Perez Oliva. Elpaís.com

ANNEX I: ENTREVISTA A OLGA SÀNCHEZ:**1. Tipus d'estudis realitzats?**

Vaig escollir la llicenciatura de biologia perquè quan jo vaig començar a estudiar no hi havia el grau de microbiologia.

2. Perquè va escollir aquesta carrera?

Perquè des de petita m'agradaven les ciències naturals i per alguna cosa m'havia de decidir..

3. Quines propostes de treball li van suggerir?

Treballar a un laboratori de microbiologia d'un hospital o d'empreses, dintre l'àmbit de l'ensenyament..

4. Quina especialització va estudiar(bacteris, fongs, microbis..)?

Ecologia microbiana.

5. Tipus de microorganismes que afectin greument la salut humana?

Dintre del món microbià no són els més abundants, però són els que més es coneixen dintre de la medicina i de la microbiologia clínica. Un dels microorganismes, per exemple, el virus de la sida o grups de bacteris que provoquen malalties gastrointestinals.

6. Principals reaccions adverses a productes realitzats amb microorganismes?

S'ha de vigilar, principalment els microorganismes modificats genèticament poden produir diverses reaccions, de cara a un insecte per exemple, els perills augmenten i si apliquem aquests microorganismes de forma discriminada al medi ambient poden provocar una catàstrofe ambiental, ja que no es coneixen les conseqüències que poden arribar a tenir a llarg termini i el fet d'incidir a la xarxa tròfica d'una manera determinada. Un altre exemple, en introduir gens d'altres espècies a un microorganisme, és un altre risc, ja que aquests microorganismes abans no hi eren, per tant poden produir reaccions adverses.

7. Mètodes eficaços per detectar problemes derivats dels microorganismes?

Cada àmbit té els seus mètodes, normalment els microbiòlegs que es situen a un ambient, agafen mostres i examinen els resultats que obtenen. Existeixen diversos kits per identificar determinats microorganismes.

8. Com combatre els microorganismes patògens?

Hi ha moltes formes, fins i tot a determinats microorganismes no s'ha trobat cap solució actualment.. Per exemple els antibiòtics, és la manera més usual per combatre i és el mètode més utilitzat i investigat pel tema de les resistències antimicrobianes.

9. Quina utilització tenen els microorganismes a la indústria farmacèutica?

Sobretot els microorganismes manipulats genèticament es modifiquen per obtenir un creixement més ràpid i augmentar el ritme de fabricació d'aquell determinat producte farmacèutic.

10. Quins tipus de microorganismes estan implicats a la formació de l'humus?

Els micobacteris són bacteris que es troben molt al sòl.

11. El microorganisme més estudiat per la investigació?

Escherichia coli és el model, un bacteri que tenim al nostre tracte intestinal. Hi ha moltes soques, és a dir, moltes subespècies, llavors el que tenim nosaltres als intestins no és patògen, però hi ha altres subespècies que han adquirit informació genètica d'altres bacteris i es tornen patògens per la salut.



**Fig.71 Entrevista a Olga Sánchez –
Departament de Microbiologia-Universitat
Autònoma de Barcelona.**

ANNEX II: ANTIBIOGRAMA

Un agent antimicrobià és un compost químic, natural o sintètic que mata o inhibeix el creixement dels microorganismes. Els agents antimicrobians varien respecte la seva toxicitat. Els agents que actuen de forma no selectiva tenen efectes similars sobre tot tipus de cèl·lules mentre que els agents antimicrobians amb toxicitat selectiva són especialment útils pel tractament de malalties infeccioses ja que maten els microorganismes sense afectar l'hoste.

Un exemple d'agent antimicrobià: els antibiòtics, substàncies químiques produïdes per microorganismes que inhibeixen el creixement d'altres microorganismes. La majoria dels antibiòtics que s'utilitzen a la medicina són produïts per fongs filamentosos o per bacteris del grup actinomicets. Aquests constitueixen un gran grup de bacteris grampositius filamentosos que, com a resultat del seu creixement i ramificació, formen una xarxa de filaments anomenats miceli.

L'activitat antimicrobiana es mesura determinant la quantitat més petita que es necessita d'un agent per inhibir el creixement d'un organisme control, valor anomenat **concentració mínima inhibidora(CMI)**. El mètode de difusió en agar consisteix en preparar una placa de Petri que contingui un medi amb agar on s'inoculi un cultiu de l'organisme control. S'afegeixen quantitats de l'agent antimicrobià (antibiòtic) sobre papers de filtre amb agar; la concentració de l'agent disminueix a mesura que augmenta la distància del paper de filtre. A una determinada distància del disc arriba la CMI. A partir d'aquest punt es crea un creixement microbià, però a les proximitats del disc no es produeix aquest creixement. Es crea una **zona d'inhibició** amb un diàmetre proporcional a la quantitat de l'antibiòtic afegit al disc.

REALITZACIÓ D'UN ANTIBIOGRAMA:

Material i equipament

- Bec Bunsen
- Escobillons estèrils
- Nansa de Kolle
- Pinces
- Pipetes estèrils de 10 ml
- Plaques de Petri de vidre
- Tubs de 18x150 estèrils

Soques :

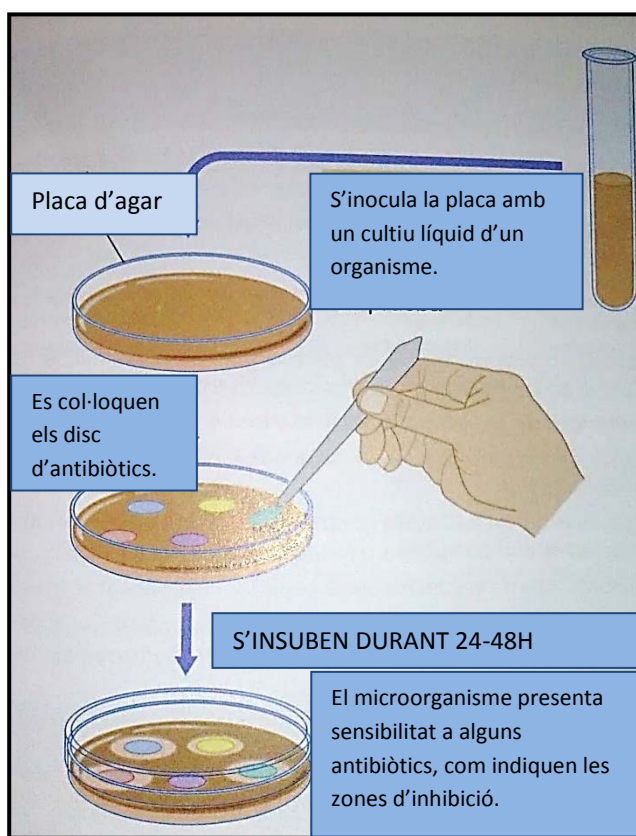
- Bacillus subtilis*
- Salmonella typhimurium*
- Staphylococcus aureus*
- Proteus*

Antibiòtics:

- Tetraciclina TE
- Cloramfenicol C
- Àcid nalidíxic NA
- Eritromicina E
- Gentamicina CN
- Ampicil·lina AMP

PROCEDIMENT:

1. Afegim 5ml de Ringer amb una pipeta estèril als tubs d'assaig.
2. Amb l'ajuda de la nansa de Kolle dipositem una petita quantitat de cada soca de bacteri a l'interior del tub que conté Ringer.
3. Barregem la dissolució amb el vòrtex.
4. Tenim els 6 tubs d'assaigs , cadascú conté el bacteri diluït amb Ringer, submergim l'escovilló a la dissolució.

**Esquema 7. Procediment Antibiograma**

Font: Elaboració pròpia

5. Amb l'escovilló esterragem la superfície de les plaques. Girem la placa 60º i repetim l'acció, així els bacteris queden repartits homogèniament.

6. Deixem assecar la placa uns 5 minuts i amb unes pinces col·loquem els discs d'antibiòtics de manera que estiguin a la perifèria de la placa i equidistants.
7. Deixem la placa 20 minuts a temperatura ambient. Després l'incubem a 37° durant 18-24 hores per afavorir el seu creixement.
8. Mesurem el diàmetre dels halus d'inhibició, consultem la taula adjuntada, i extraïem conclusions per elaborar el resultat.

| Agent antimicrobià | Contingut del disc | Diàmetre de zona (mm) | | | Correlació aprox. (µg) amb la CMI (mg/l) | |
|---|--------------------|--------------------------|--------------------|---------|---|---------|
| | | Res. | Intern. | Suscep. | Res. | Suscep. |
| Ampicil.lina ^a per a entèrics grampositius i enterococs | 10 | ≤11 | 12-13 | ≥14 | ≤32 | ≤8 |
| Ampicil.lina ^a per a estafilococs i susceptibles a la penicil.lina G | 10 | ≤20 | 21-28 | ≥29 | ≥32 penicil.linasa ^b | ≤0.2 |
| Ampicil.lina ^a per a <i>Haemophilus</i> | 10 | ≤19 | - | ≥20 | - | ≤2.0 |
| Carbenicil.lina per a <i>Proteus</i> i <i>E. coli</i> | 100 | ≤17 | 18-22 | ≥23 | ≥32 | ≤16 |
| Carbenicil.lina per a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 100 | ≤13 | 14-16 | ≥17 | ≥250 | ≤125 |
| Cefalotina ^c | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | ≤10 |
| Cloramfenicol | 30 | ≤12 | 13-17 | ≥18 | ≥25 | ≤12.5 |
| Clindamicina ^d només susceptibilitat a clindamicina | 2 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥2 | ≤1 |
| Colistina ^e | 10 | ≤8 | 9-10 | ≥11 | - ^e | - |
| Eritromicina | 15 | ≤13 | 14-17 | ≥18 | ≥8 | ≤2 |
| Gentamicina | 10 | ≤12 | - | ≥13 | ≥6 | ≤6 |
| Kanamicina | 30 | ≤13 | 14-17 | ≥18 | ≥25 | ≤6 |
| Metilcil.lina per a estafilococs | 5 | ≤9 | 10-13 | ≥14 | - | ≤3 |
| Neomicina | 30 | ≤12 | 13-16 | ≥17 | - | ≤10 |
| Penicil.lina G ^g per a estafilococs | 10 | ≤20 | 21-28 | ≥29 | penicil.linasa ^b | ≤0.1 |
| Penicil.lina G per a altres microorganismes | 10 | ≤11 | 12-21 ^h | ≥22 | ≥32 | ≤1.5 |
| Polimixina B ^c | 300 | ≤8 | 9-11 | ≥12 | ≥50 | - |
| Estreptomicina | 10 | ≤11 | 12-14 | ≥15 | ≥15 | ≤6 |
| Tetraciclina ⁱ | 30 | ≤14 | 15-18 | ≥19 | ≥12 | ≤4 |
| Tobramicina | 10 | ≤11 | 12-13 | ≥14 | - | - |
| Vancomicina | 30 | ≤9 | 10-11 | ≥12 | - | ≤5 |
| Sulfonamides ^j | 250 o 300 | ≤12 | 13-16 | ≥17 | ≥350 | ≤100 |
| Trimetoprim-sulfametoxazole ^j | 1.25 o 23.75 | ≤10 | 11-15 | ≥16 | ≥200 | ≤35 |
| Nitrofurantoïna ^j | 300 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥100 | ≤25 |
| Àcid nalidíxic ^j | 30 | ≤13 | 14-18 | ≥19 | ≥32 | ≤12 |

Taula 20. Estàndard interpretatiu de diàmetres de zones d'inhibició i correlacions aproximades amb la CMI

Font: Estudi microbiològic de la Facultat de Ciències de la UAB.

RESULTAT:

Un cop hem mesurat el diàmetre de l'halus i consultat la taula, elaborem el resultat final:

| BACTERI | TE | C | NA | E | CN | AMP |
|------------|----|---|----|---|----|-----|
| B.SUBTILIS | I | S | S | S | S | S |
| SALMONELLA | S | S | S | R | S | R |
| S.AUREUS | S | S | R | S | S | S |
| PROTEUS | S | S | S | R | S | R |

Taula 21. Resultat de l'antibiograma

Font: Elaboració pròpia

S: sensible, l'antibiòtic inhibeix el microorganisme.

I: intermedi, es pot aconseguir un efecte terapèutic, és a dir, que augmenti la seva sensibilitat respecte l'antibiòtic si s'apliquen dosis més grans.

R: resistent, el microorganisme continua desenvolupant-se, sense ser alterat per l'antibiòtic aplicat.

Com podem veure, el bacteri més sensible als agents antimicrobians aplicats és el Bacteri *subtilis*. No és considerat patògen humà però pot contaminar els aliments. El segon bacteri més sensible és el *S.aureus*, encara que es mostra resistent a l'àcid nalidíxic. El *S.aureus* es troba normalment a la pell i fosses nasals d'algunes persones i pot causar diverses infeccions. Els últims dos bacteris mostren diversos fronts de resistències. La *Salmonella* és resistent a Eritromicina i l'Ampicil·lina, tot i que es comporta de manera sensible en contacte amb els antibiòtics restants. El bacteri *Proteus* és molt similar a la *Salmonella*, es mantenen resistents als mateixos antibiòtics. Per tant, podem deduir que els agents antimicrobians més eficaços són: l'Eritromicina, l'Ampicil·lina i l'àcid nalidíxic (minoritàriament).



Figura 72. Inhibició microbiana a una placa de Petri

ANNEX III: NOTÍCIES

"MICROBIOTA INTESTINAL"

Un estudi realitzat per investigadors de la Universitat de València revela que els antibiòtics produeixen canvis als patrons microbians i metabòlics de l'intestí. Els investigadors van analitzar per primera vegada els bacteris, gens, enzims i molècules que formen la microbiota intestinal de pacients tractats amb antibiòtics i van concloure:

-L'intestí està poblat per un trilió de bacteris que es coneixen com a microbiota o flora intestinal, els quals han evolucionat en simbiosi amb l'ésser humà. Segons la investigació realitzada, el tractament amb antibiòtics pot alterar aquesta simbiosi. Andrés Moya, professor a l'Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biologia Evolutiva del Parc Científic de la Universitat de València afirma: "Encara que algun dels canvis produïts són oscil·latoris i poden ser revertits en acabar el tractament, uns altres semblen irreversibles".

Segons els resultats, la biodiversitat de bacteris que formen la microbiota intestinal disminueix durant el tractament fins al punt d'arribar al seu mínim 11 dies després de l'inici. En acabar la teràpia la situació canvia i el pacient presenta un població bacteriana similar a aquella que tenia al principi. La investigació demostra per primera vegada que els bacteris intestinals presenten una menor capacitat de producció de proteïnes, així com també deficiències en activitats determinades, durant i en finalitzar el tractament. La microbiota intestinal presenta una menor capacitat per assimilar ferro i digerir certs aliments i produir molècules essencials per a l'organisme.

Els bacteris poc abundants a la flora intestinal, per poc actives que estiguin a l'inici del tractament, poden arribar a tenir un paper important a l'intestí com a conseqüència directa dels antibiòtics, segons Manuel Ferrer (investigador de CSIC, Centre Superior d'Investigació de Salut Pública) diu que: "Aquests bacteris podrien ser responsables de millorar la interconnexió entre el fetge i el colon, i la producció de molècules essencials com àcids biliars, hormones i derivats del colesterol". Per concloure Andrés Moya afirma: "Només a través d'una ànlisi global i detallada de diferents antibiòtics i persones de diferent origen geogràfic, edat o estat de salut es poden arribar a teràpies i intervencions quirúrgiques personalitzades"

“LA REBEL·LIÓ DELS BACTERIS COBRA VIDES”

És possible arribar a morir nosaltres o els nostres fills de les mateixes infeccions que morien els nostres avis o besavis? Morirem d'una simple pulmonia o una infecció d'orina, com succeïa en temps passat quan no existia l'arma destructiva de bacteris com la penicil·lina? Sí, si tenim la mala sort d'infectar-nos amb un microorganisme resistent a antibiòtics. Els bacteris que provoquen aquestes malalties han après a defensar-se creant resistències que fan que siguin invulnerables.

La lluita contra les infeccions que al segle XX va contribuir a augmentar l'esperança de vida, està endarrerint a nous fronts. La resistència dels patògens va començar a l'àmbit de la medicina, a l'hospital, i continuen prosperant i fent-se més resistents. Uns 50.000 europeus moren cada any per infeccions provocades per colònies bacterianes resistents a antibiòtics durant l'hospitalització del pacient.

Estem davant d'un gran problema, una societat on els microorganismes van més ràpids creant resistències que la indústria farmacèutica produint nous antibiòtics. Encara que no sigui possible comparar la situació dels nostres avis i besavis, ja que ells no tenien cap antibiòtic i nosaltres en tenim molts, les possibilitats de morir d'una infecció relativament comú estan augmentant, diu *Jerónim Pachón*, cap del servei de malalties infeccioses de l'hospital *Virgen del Rocío de Sevilla*.

“És possible que morim de les malalties que creiem totalment controlades. Hem de reconèixer i advertir a la població que cada cop ens trobem més casos d'organismes resistents, de manera que les opcions terapèutiques queden limitades i fins i tot nul·les”, diu *Rafael Cantón*, cap del Servei de Microbiologia de l'hospital *Ramón y Cajal de Madrid*. En primer lloc, el mal ús dels antibiòtics està donant oportunitats als bacteris d'adaptar-se i crear noves defenses. Els pacients no compleixen les pautes de dosis i temps prescrites. També s'ha de tenir en compte l'efecte indirecte del progrés mèdic, nosaltres vivim més anys, però també hi ha més malalts crònics, que ingressen més cops aportant bacteris patògens. Els hospitals atenen cada cop pacients amb més risc, per tant, més fràgils. Entre set i quinze pacients de cada cent que ingressen contreïen una infecció a l'hospital, i el 10% d'ells, és a dir, un de cada cent morirà, no per la malaltia que el va portar a l'hospital, sinó per la infecció que ha contret allà.

Estem veient alguns tipus d'infeccions hospitalàries pels que no hi ha cap alternativa de tractament, per exemple la *Pseudomona aeruginosa*, és un dels bacteris més temibles. Algunes subespècies de pseudomones són tan resistents que quan infecten a pacients amb problemes respiratoris, pràcticament no tenen opció terapèutica. Un altre exemple, *Staphylococcus aureus*, bacteri resistent a la meticil·lina, infecta les ferides quirúrgiques i provoca pneumònia o infeccions de la sang i teixits tous. Habita sobretot a zones de l'hospital.

Primer va crear resistències a la penicil·lina, i després a la meticil·lina. En aquests moments, entre el 20% i el 40% de les colònies són també resistents a la meticil·lina.

El 45% de les infeccions per *Staphylococcus aureus* són resistents a diversos fàrmacs i el 8% del total s'han contret fora de l'hospital. Les pneumònies poden ser provocades per diferents patògens però el més freqüent és el pneumococ. El mal ús i l'automedicació amb antibiòtics, ha conduït a Espanya entre els països amb major taxa de resistència d'aquest patògen a la penicil·lina. Van arribar a taxes del 40%.

El cas de l'*Escherichia coli* (E. coli) és un bon exemple de com les resistències s'escampen fora de l'hospital. E. coli provoca infeccions d'orina molt comuns que fins ara es combatien fàcilment amb antibiòtics d'ús habitual. Algunes subespècies d'aquest bacteri ja no respon a ells, per tant s'ha de recórrer als antibiòtics d'amplic espectre, i una infecció que abans es podia controlar fàcilment a casa, ara pot requerir hospitalització. El 8% de les subespècies d'E.coli que s'analitzen als laboratoris espanyols són també resistents als antibiòtics d'amplic espectre, i en aquests casos, les alternatives que queden són poques. L'Agència de Protecció de Salut del Regne Unit ha publicat una alerta en comprovar que cada any es produeixen al país 20.000 casos d'infeccions sanguínies per E. coli i el 12% no respon al tractament.

Rafael Cantón diu: " les resistències creixen perquè els diversos microorganismes no només tenen la capacitat de mutar i canviar la seva estructura per defensar-se sinó que poden transferir-se d'uns a altres aquesta propietat. Molts comparteixen hàbitat, el nostre propi cos. Per defensar-se produeixen uns enzims que destrueixen l'antibiòtic, i els gens que controlen aquests enzims es troben dintre d'uns elements mòbils de l'estructura del microorganisme que poden passar d'un a l'altre". Així s'explica l'aparició de nous bacteris intestinals- els enterobacteris-.

Des de 1998 han aparegut 11 nous agents antimicrobians, però només tres funcionaven. El cost econòmic dels tractaments ha augmentat considerablement. Tractar amb penicilina costa un euro al dia. Per les cepes resistents (vancomicina), costa 34 euros diaris i la seva alternativa (linezolid) 140 euros al dia. L'única forma és millorar l'ús dels antibiòtics i intentar accelerar el coneixement dels mecanismes de les resistències. El diagnòstic de les infeccions és molt més complexe i de major responsabilitat, si no s'encerta amb el tractament ideal, es pot perjudicar molt el pacient.

Els ciutadans no són conscients de com contribueixen a perdre la guerra quan s'automediquen antibiòtics o quan deixen de prendre-se'ls abans del termini.

Reportatge escrit per **Milagros Pérez Oliva** publicat al diari *el País*. L' automedicació i la poca responsabilitat respecte els antibiòtics fa que la societat quedi aturada i no avanci. Amb el pas dels anys, els antibiòtics no realitzaran la seva feina, els bacteris acabaran guanyant, i reviuran aquelles malalties que suposadament tenien cura. Aquest gran reportatge demostra la irresponsabilitat de la gent en automedicar-se i no respectar els terminis, els bacteris continuaran creant resistències i molts agents antimicrobians passaran a la història. Si no aturem això, els bacteris es propagaran, i no hi haurà cap mètode eficaç que elsaturi.

ANNEX IV: SERVEI DE MICROSCÒPIA

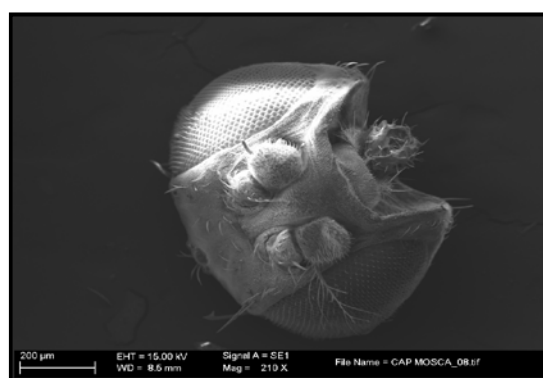


Figura 73. Microscopi electrònic de rastreig



Figura 74. Microscopi electrònic de transmissió

La microscòpia electrònica utilitza fotons en lloc d'electrons per produir imatges de cèl·lules o estructures cel·lulars. Quan només es vol estudiar estructures externes no fa falta realitzar talls ultrafins, mitjançant el microscopi electrònic de rastreig (SEM, de *Scanning Electron Microscope*) es pot realitzar l'observació de cèl·lules intactes o components cel·lulars de manera directa. La mostra a estudiar es cobreix amb una fina capa d'un metall pesant, com l'or. El feix d'electrons rastreja la superfície de la mostra i els electrons desviats de la capa de metall es recullen i es projecten sobre una pantalla per produir una imatge. Permet obtenir una àmplia escala d'augments, des de 15 fins 100.000 , però només es pot veure la superfície dels objectes.

Figura 75. Microscopi electrònic de rastreig.
Cap de mosca

Las micrografies electròniques fetes pel microscopi electrònic de transmissió o de rastreig proporcionen imatges en blanc i negre.

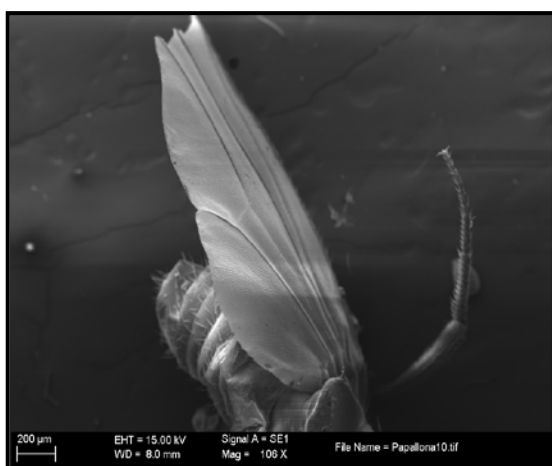


Figura 76. Cos d'una mosca. Microscopi electrònic de rastreig.

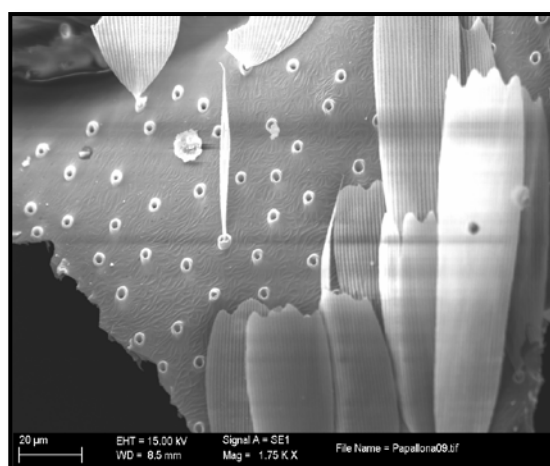


Figura 77. Ala d'una papallona. Microscopi electrònic de rastreig.

Al microscopi electrònic de transmissió (TEM, de *Transmission Electron Microscope*) les lents són electromagnètiques i el sistema funciona al buit. Els microscopis electrònics estan equipats amb càmeres que permeten prendre fotografies. Habitualment el TEM s'utilitza per l'examen d'estructures cel·lulars amb molts augments i elevada resolució. El poder de resolució d'aquest microscopi és molt més gran que el microscopi òptic, per tant es poden veure estructures a nivell molecular. El poder de resolució d'un microscopi òptic és de 0,2 micròmetres; el d'un microscopi electrònic de transmissió és d'uns 0,2 nanòmetres (nm, 10^{-9} m). Per tant amb aquest microscopi es poden arribar a veure molècules com les proteïnes i els àcids nucleics. Tot i així, a diferència de la llum visible, els feixos d'electrons tenen poc poder de penetració, per tant s'han de realitzar diverses tècniques per obtenir talls ultrafins per poder veure la mostra. Una cèl·lula bacteriana es talla amb un ganivet especial que origina diversos talls ultrafins (20-60 nm de gruix). Per obtenir suficient contrast, les mostres es tenyeixen amb colorants com permanganat, sals d'urani o plom, que són substàncies que contenen àtoms pesants capaços de desviar electrons i augmentar el contrast.

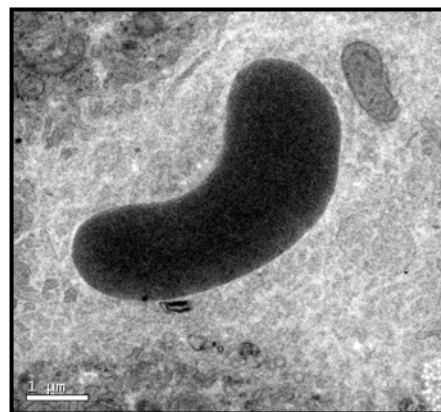


Figura 78. Mitocondri. Microscopi electrònic de transmissió.

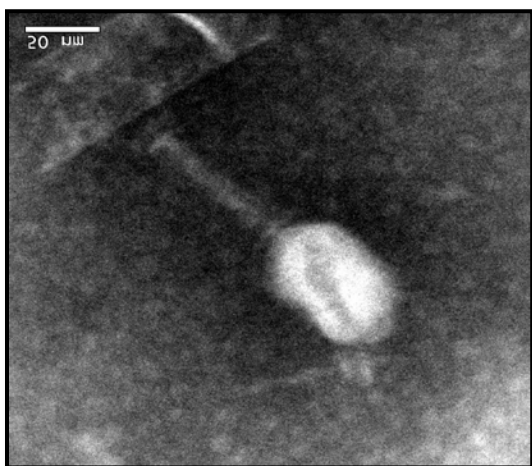


Figura 79. Bacteriòfag. Microscopi electrònic de transmissió.

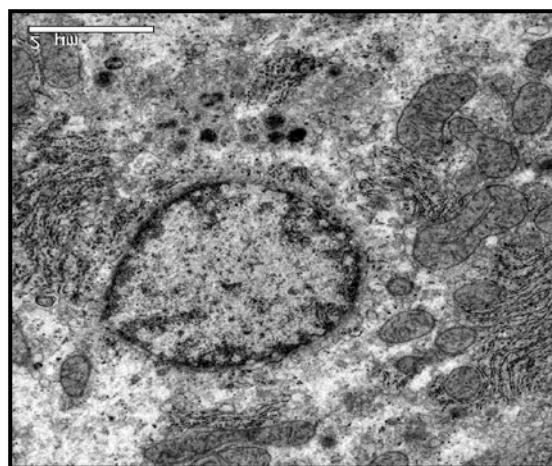


Figura 80. Nucli d'una cèl·lula. Microscopi electrònic de transmissió.