

ELS ANTIBIÒTICS I LES RESISTÈNCIES BACTERIANES



M'agradaria donar les gràcies a la tutora del meu treball de recerca, per tota l'ajuda que m'ha ofert durant tot el temps que ha durat la realització del treball. Ella m'ha ajudat a encaminar el meu treball, s'ha preocupat d'aconseguir-me el material necessari per a les pràctiques i m'ha aconsellat en tot moment.

També agrair als Centres Específics de Suport a la Innovació i la Recerca Educativa (CESIRE- CDEC), del Departament d'Educació de la Generalitat de Catalunya, pel subministrament del material de cultiu utilitzat en la part pràctica del treball.

Gràcies també als meus pares, que han cregut en mi des del primer dia i m'han donat la confiança necessària per tirar endavant el treball. Vull agrair-los el seu suport i que, tot i no entendre molt bé la part teòrica del treball, se l'hagin llegit tot per donar-me els seus millors consells.

I a la meva germana Àngels, que compartint els mateixos dubtes pel que fa a la presentació del treball m'ha donat la seva opinió.

Sense vosaltres aquest treball no hauria estat possible i és per això que us vull agrair la vostra dedicació i entrega.

Moltes gràcies a tots.



ÍNDEX

1. Introducció.....	5
2. Microorganismes.....	7
2.1 Els bacteris	8
2.1.1 Característiques generals	8
2.1.2 L'estructura bacteriana	9
2.1.3 Funcions de nutrició.....	12
2.1.4 Funcions de relació	13
2.1.5 Funcions de reproducció	13
2.1.6 Tipus d'eubacteris	14
3. Els bacteris i els humans	16
3.1 Immunitat	16
3.1.1 Actuació del sistema immunitari davant les infeccions bacterianes	17
3.2 La necessitat dels antibiòtics	20
4. Els antimicrobians	21
4.1 Història i evolució.....	22
4.2 Els antibiòtics	24
4.2.1 Mecanismes d'acció dels antibiòtics.....	24
4.2.2 Càlcul de l'activitat antimicrobiana dels antibiòtics	29
4.2.3 Concentració inhibidora mínima	30
5. Resistència bacteriana.....	31
5.1 Tipus de resistència als antibiòtics	31
5.1.1 Resistència natural o primària	31
5.1.2 Resistència adquirida	31
5.2 Adquisició de mecanismes de resistència	32
5.2.1 Transformació.....	33
5.2.2 Transducció.....	34
5.2.3 Conjugació	36
5.3 Factors que intervenen en la resistència bacteriana	37
5.3.1 Augment de les poblacions immunodeprimides.....	38
5.3.2 Prescripció exagerada	38
5.3.3 Incompliment del tractament	38



5.3.4 Factors de creixement.....	38
5.4 Limitació de les resistències	38
5.4.1 Una prescripció raonada	38
5.4.2 Limitar la transmissió d'infeccions.....	39
5.4.3 Investigació sobre molècules noves	39
5.4.4 Augment de la vigilància	39
6. Fonaments bàsics necessaris per a les pràctiques	40
6.1 El medi de cultiu	40
6.1.1 Preparació del medi de cultiu.....	41
6.2 Característiques dels bacteris utilitzats	42
6.2.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	42
6.2.2 <i>Bacillus cereus</i>	44
6.2.3 <i>Escherichia coli</i>	46
6.3 Característiques dels tractaments utilitzats	48
6.3.1 Eritromicina	48
6.3.2 Ketoconazol	49
6.3.3 Amoxicil·lina + àcid clavulànic	49
6.3.4 Azitromicina.....	50
6.3.5 Alcohol etílic	51
6.4 Tinció diferencial	51
6.4.1 La tinció de gram.....	51
7. Experimentació. Aparició de resistències bacterianes.....	57
7.1 Objectius	57
7.2 Introducció	57
7.3 Material	58
7.3.1 Equipament	58
7.3.2 Reactius i altres materials	58
7.4 Procediment.....	59
7.4.1 Execució de l'experiència	59
7.4.2 Adquisició i enregistrament de les dades	61
7.5 Resultats	61
7.5.1 Resultats teòrics.....	61
7.5.2 Resultats de l'experiència 1.....	62
7.5.3 Resultats de l'experiència 2.....	63



7.5.4 Resultats de l'experiència 3.....	64
7.6 Anàlisi dels resultats	68
7.6.1 Gràfics de l'experiència 1	68
7.6.2 Gràfics de l'experiència 2	70
7.6.3 Gràfics de l'experiència 3	73
7.6.4 Exemple de l'evolució de la resistència bacteriana	76
7.7 Factors que han influït en els resultats	78
8. Enquesta	79
8.1 Resultats de l'enquesta	79
8.1.1 Coneixement general dels antibiòtics com a medicaments utilitzats per a combatre infeccions bacterianes	79
8.1.2 Coneixement referent a les malalties per a les quals són útils els antibiòtics	81
8.1.3 Coneixement de la forma de prescripció i d'administració dels antibiòtics	83
8.1.4 Coneixement dels efectes negatius que comporta el mal ús dels antibiòtics a nivell individual i social.....	85
8.1.5 Coneixement del tractament de les possibles restes d'un tractament amb antibiòtics	86
8.2 Anàlisi dels resultats	88
9. Conclusions	89
10. Bibliografia	91
11. Annexos	94
11.1 Annex 1. Classificació dels antibacterians	94
11.2 Annex 2. Calendari del treball de camp	98
11.3 Annex 3. Fotografies del procediment de l'experiència	101
11.4 Annex 4. Model de l'enquesta.....	104



1. Introducció

Vivim en una època en què des que naixem vivim envoltats de medicaments. Uns que tenen especial importància són els antibiòtics. Tots n'hem pres no un cop ni dos ni tres, sinó diverses vegades. Però què són realment els antibiòtics? Unes substàncies químiques produïdes per uns microorganismes capaces d'inhibir el creixement d'altres microorganismes o d'eliminar-los.

De ben segur que també hem sentit parlar, ja sigui a la televisió o als diaris, de les resistències als antibiòtics. No és pas un concepte difícil d'entendre: els causants de les malalties s'han acostumat als antibiòtics i aquests han esdevingut inservibles. El tema, però, és força més complicat. Els desigs d'aprendre què són i com actuen els antibiòtics i d'entendre millor què són les resistències i com s'adquireixen són les motivacions que m'han dut a iniciar una investigació sobre aquest tema, la investigació bioquímica i microbiana. D'aquesta manera es complien dues condicions que tenia molt clares a l'hora de triar el tema del treball: d'una banda, s'adequa a la modalitat de batxillerat que estic cursant, està relacionat amb les assignatures que més m'entusiasmen i es correspon amb la branca d'estudis universitaris que m'agradaria seguir; i de l'altra, és un tema que m'agrada i que m'ha motivat, ja que les hores que li he hagut de dedicar són moltes.

Tenia clar des del principi que no seria un treball fàcil tot i disposar del material necessari i de les instal·lacions del laboratori de l'institut de Flix, de manera que m'hi hauria d'abocar amb ganes i il·lusió. De fet, seria la meva primera experiència "professional" en la investigació científica i la manipulació de cultius bacterians, la qual cosa suposava una motivació afegida.

Una de les preocupacions més destacades actualment en referència a la microbiologia és l'aparició i l'expansió de les resistències als antimicrobians. Les resistències que presenten els microorganismes és la seva resposta contra aquests fàrmacs, és el seu mecanisme de defensa, la seva manera d'adaptar-se a un nou medi i poder sobreviure en qualsevol situació.

Se sap que, des de fa anys, els diferents microorganismes (fongs, bacteris, virus i paràsits) han començat a mostrar un gran ingeni per evitar l'activitat eliminatòria dels agents antimicrobians. Però és en l'actualitat que aquest fenomen s'ha accelerat i s'ha arribat a convertir en un dels problemes més greus que els investigadors científics de l'àmbit de la salut és veuen obligats a afrontar. D'entre totes les resistències microbianes, el present treball se centra en la investigació de les resistències bacterianes als antibiòtics. Així doncs, s'ha delimitat el camp d'estudi per la seva gran extensió i per la impossibilitat d'abordar-lo en un treball de recerca de batxillerat com aquest. D'aquesta manera, s'ha optat per la resistència bacteriana als antibiòtics pel fet que aquests productes van suposar un dels avenços més rellevants de la història de la medicina. La capacitat dels antibiòtics per curar malalties infeccioses que en el passat eren mortals va desembocar en la falsa creença que aquests "medicaments miraculosos" podien arribar a eradicar aquestes malalties, però la precipitada aparició de resistències en va demostrar la invalidesa.

Es creu que un mal ús dels antibiòtics, com és l'automedicació incorrecta, afavoreix la selecció dels bacteris cada cop més resistents a l'agent. L'antibiòtic selecciona els bacteris d'un mateix cultiu que per mutació del seu ADN són més resistents a l'acció de



l'antibiòtic. Com a conseqüència d'això, el mateix agent es torna inservible per eliminar la generació següent de bacteris, ja que aquesta prové dels bacteris mutants resistents anteriors. L'objectiu que es pretén aconseguir amb la realització d'aquest treball d'investigació és la comprovació que l'ús incorrecte i inadequat dels antibiòtics exerceix una selecció evolutiva bacteriana que porta a l'aparició de soques bacterianes resistents als antibiòtics.

El treball s'estructura en una primera part teòrica que pretén aprofundir en el coneixement general dels bacteris com a espècie de microorganisme que pot ser alhora beneficiós i patògen per a l'ésser humà, i dels antibiòtics com a productes bàsics per ajudar a l'organisme a combatre les infeccions bacterianes perjudicials. A més, també es tracta de forma teòrica el tema de les resistències bacterianes i s'expliquen les diferents formes que tenen els bacteris de fer front als mecanismes d'acció dels antibiòtics.

La segona part del treball correspon a la pràctica, és a dir, a la posada en funcionament dels coneixements assolits en el disseny, l'efectuació i l'avaluació d'una experiència al laboratori que permet comprovar l'aparició de resistències als antibiòtics. Així doncs, aquesta part consta d'un primer apartat en què es descriuen les espècies bacterianes i els productes antibiòtics que s'utilitzaran, d'un altre apartat que s'encarrega de descriure el procediment i els resultats obtinguts. A més, també hi ha present l'anàlisi d'una enquesta realitzada amb l'objectiu de corroborar que la causa de l'aparició de resistències és el mal ús dels antibiòtics.

Es podrà observar que la bibliografia emprada per a la part teòrica és força extensa, tot i que en cap cas s'han extret cites textuais dels llibres, els articles i les pàgines web consultats; mentre que la pràctica es basa fonamentalment en els propis resultats obtinguts tant en l'experiència al laboratori com de l'enquesta efectuada. Cal indicar també que les fotografies presents en l'apartat d'experiència són pròpies.

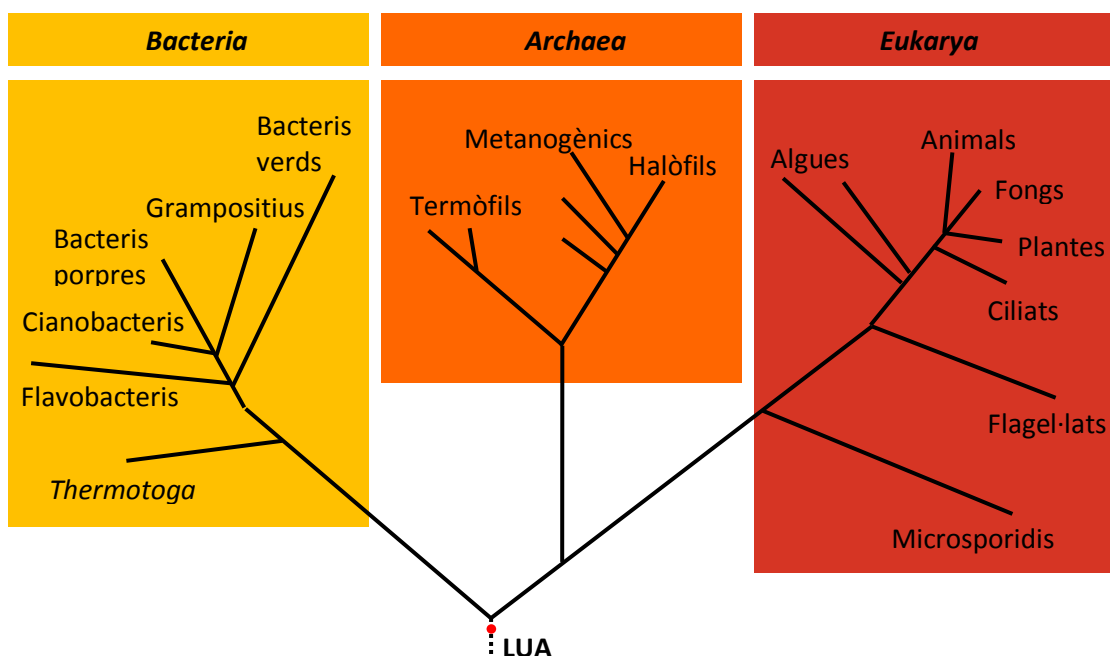
En aquest treball, per tant, podrem entendre i viure de ben a prop com i per què apareixen bacteris resistents als antibiòtics.



2. Microorganismes

El nostre planeta és habitat per un gran nombre d'espècies d'éssers vius. Segons un informe recent del govern australià¹, publicat el setembre de 2009, actualment hi ha classificades 1.750.000 espècies diferents, però s'estima que n'existeixen prop d'uns 11 milions. Els números s'elevan tant que, per facilitar-ne l'estudi, és necessari fer una bona classificació.

Els éssers vius es poden agrupar tenint en compte diversos aspectes; els dos més importants són la filogènia i la fisiologia. El primer es basa en les relacions evolutives que hi ha entre les espècies. Per fer-ho, s'usa l'ARN ribosòmic. A partir d'aquesta classificació s'han deduït tres dominis: *Archaea*, *Bacteria* i *Eukarya* (vegeu la il·lustració 1). El segon aspecte que podem tenir en compte, la fisiologia, es fixa en l'estructura interna, l'embriologia, el tipus de proteïnes que té, l'estructura dels cromosomes, etc. Aquest sistema de classificació s'organitza en cinc grans regnes: Moneres, Protists, Fongs, Plantes i Animals; dels quals es distingeixen diferents subgrups.



Il·lustració 1. Classificació dels éssers vius en els tres dominis

Una de les teories sobre l'origen de la vida explica que els primers colonitzadors de la Terra van ser els bacteris, alguns dels quals feien la fotosíntesi i van produir l'oxigen necessari per afavorir l'evolució dels petits organismes que podien respirar oxigen i que posteriorment originarien els éssers pluricel·lulars. Lynn Margulis, una biòloga americana molt reconeguda per diverses institucions, en la seva teoria endosimbiòtica explica que les cèl·lules eucariotes van aparèixer a partir de la simbiosi² entre diverses

¹ AUSTRALIAN GOVERNMENT. DEPARTMENT OF THE ENVIRONMENT, WATER, HERITAGE AND THE ARTS. Numbers of Living Species in Australia and the World. Second edition. Canberra: Australian Biological Resources Study, 2009 [en línia]

² Fet de viure dos organismes diferents associats o units més o menys íntimament, habitualment amb benefici recíproc.



cèl·lules procariotes, és a dir, entre bacteris. Així doncs, els microbis, han tingut i tenen un paper molt important en el nostre planeta i, en definitiva, en la vida dels éssers humans.

A més dels bacteris existeixen altres microorganismes com els protozous, les algues microscòpiques i alguns fongs; però en aquest treball aprofundirem en el coneixement dels bacteris.

2.1 Els bacteris

Els bacteris són éssers vius microscòpics, unicel·lulars i procariotes que presenten una gran varietat de vies metabòliques, morfologies i formes de vida. Aquesta gran diversitat és producte de l'evolució que han patit durant els seus milers de milions d'anys de vida.

Dins del regne de les Moneres, al qual pertanyen aquests petits organismes, es diferencien dos grans grups que, a la vegada, són dos dels tres dominis evolutius esmentats anteriorment: els arqueobacteris (Archaea) i els eubacteris (Bacteria).

Els arqueobacteris van aparèixer fa uns 3.000 milions d'anys. Són considerats la forma de vida més antiga. La majoria d'espècies són extremòfiles, és a dir, viuen en condicions extremes de temperatura, acidesa, salinitat o radiació entre altres. Alguns, però, viuen en hàbitats normals com és el cas dels arqueobacteris metanògens que viuen al nostre intestí obtenint energia a partir de la producció de metà.

Els eubacteris són anomenats els «bacteris veritables» i són més complexos que els arqueobacteris. Els cianobacteris, un tipus d'eubacteris, van ser els primers organismes fotosintetitzadors coneguts i molt possiblement van participar en la producció d'oxigen a la Terra ara fa uns 2.000 milions d'anys. Tots els procariotes coneguts que causen alguna malaltia són eubacteris. Els bacteris que es tracten en aquest treball de recerca pertanyen a aquest domini.

2.1.1 Característiques generals

Els bacteris, tot i que són organismes molt simples, amb escasses estructures internes, presenten una gran varietat de metabolismes, des de l'heteròtrof fins a l'autòtrof (bacteris fotosintètics i quimiosintètics) i des de l'aerobi³ fins a l'anaerobi⁴. A més, tenen una mida que pot oscil·lar entre els 1,5µm d'*Escherichia coli*, els 7µm dels cianobacteri *Oscillatoria* o els 600µm del bacteri "gegant" *Epulopiscium fishelsoni*.

Pel que fa a la morfologia, distingim quatre tipus de bacteris:

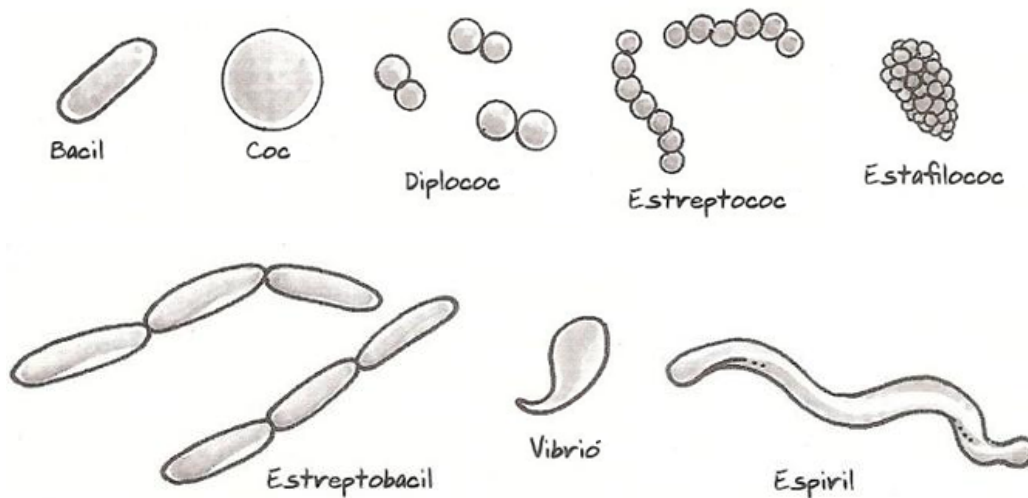
- Els **bacils**, en forma de bastó.
- Els **cocs**, en forma esfèrica.

³ Microorganisme, bacteri, que pot créixer en presència d'oxigen.

⁴ Microorganisme, bacteri, que no necessita oxigen lliure per a viure o que necessita viure en un medi on no hi hagi oxigen lliure.



- Els **espirils**, en forma de bastó cargolat.
- Els **vibrions**, en forma de coma ortogràfica.



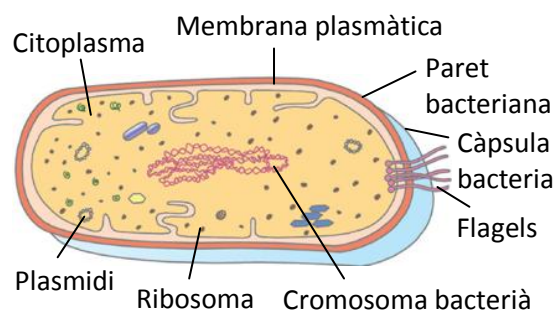
Il·lustració 2. Morfologies bacterianes

Ara bé, alguns bacteris poden formar agrupacions d'individus (vegeu la il·lustració 2), ja que, quan es divideixen, els bacteris fills es mantenen units entre si per mitjà de components químics de les càpsules. Així, els bacils poden formar cadenes lineals d'individus, ja que el procés de divisió té lloc en una sola direcció; i els cocs, gràcies a que poden dividir-se en diferents direccions, poden presentar diferents agrupacions que reben el nom de diplococs si formen parelles, estreptococs si formen cadenes, estafilococs si formen raïms d'individus, o sarcines si formen associacions tridimensionals regulars.

2.1.2 L'estructura bacteriana

L'estructura interna dels bacteris és molt més simple que la de les cèl·lules eucariotes, però, en canvi, l'estructura superficial és més complexa. Els components estructurals més importants són (vegeu la il·lustració 3):

- La càpsula bacteriana, que pot faltar
- La paret bacteriana
- La membrana plasmàtica
- El citoplasma, que inclou el hialoplasma i el morfoplasma (ribosomes i inclusions)
- El DNA bacterià



Il·lustració 3. Estructura bacteriana



2.1.2.1 La càpsula bacteriana

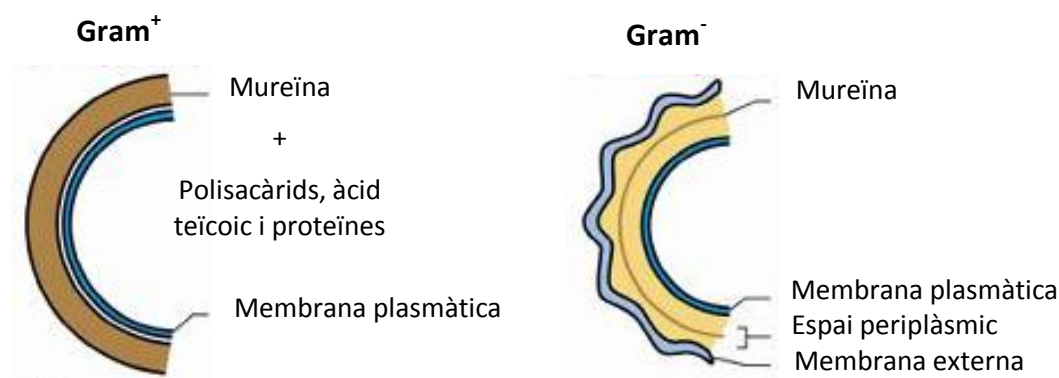
La càpsula és una capa mucosa composta de polisacàrids que envolta la paret bacteriana i que només presenten alguns bacteris. Pot presentar un gruix molt variable (entre 100 i 400 Å).

Molts bacteris patògens tenen càpsula, la qual dificulta que els anticossos i les cèl·lules fagocítiques de l'hoste els reconguin i els destrueixin. La càpsula també permet l'adhesió dels bacteris a les cèl·lules hostes o l'adhesió dels bacteris fills entre si, fet que facilita la formació de colònies. A més, les càpsules intervenen en els processos d'intercanvi d'aigua, ions i substàncies nutritives i actuen com un mecanisme de defensa davant la dessecació del medi.

2.1.2.2 La paret bacteriana

És una coberta rígida que dóna forma a les cèl·lules bacterianes. Té una amplada d'entre 50 i 100 Å i està constituïda principalment per mureïna, que és un peptidoglicà o macromolècula formada per cadenes de glúcids i oligopèptids, que és responsable de la resistència de la paret cel·lular. La paret cel·lular permet classificar els eubacteris en grampositius (gram⁺) i gramnegatius (gram⁻) en funció de la manera en què reaccionen quan es tracten amb els tres compostos de l'anomenada tinció de Gram (vegeu l'apartat 6.4).

La paret dels bacteris gram⁺ és monoestratificada, és a dir, està formada per un única capa gruixuda de peptidoglicans (mureïna), a la qual s'associen àcids teicoics⁵. En canvi, la paret dels gram⁻ és biestratificada, ja que té una capa fina de peptidoglicans sobre la qual hi ha una membrana externa constituïda per una doble capa lipídica que conté un gran nombre de proteïnes, la majoria amb activitat enzimàtica, i lipopolisacàrids (vegeu la il·lustració 4).



Il·lustració 4. Estructura de la paret cel·lular de bacteris grampositius i gramnegatius

La paret bacteriana és permeable a les sals i a moltes molècules orgàniques de baix pes molecular, i la seva destrucció deixa inermes el bacteri davant dels canvis de salinitat del medi. El lisozim, un enzim present en les llàgrimes i les secrecions nasals, actua

⁵ Nom genèric dels polímers de poliols (principalment glicerol i ribitol) units per enllaços fosfodiester, i amb caràcter àcid que es troben formant part de la paret dels bacteris grampositius, per bé que hom en troba també a l'interior de la cèl·lula.



trencant enllaços glicosídics dels peptidoglicans, i per això té acció bactericida. En canvi, molts antibiòtics, com ara la penicil·lina, no destrueixen la paret bacteriana, sinó que actuen impedit els enllaços peptídics de la xarxa de mureïna durant la seva síntesi, i això impedeix la proliferació bacteriana (vegeu l'apartat 4.2.1).

2.1.2.3 La membrana plasmàtica

És una coberta d'uns 75 Å de gruix que envolta el citoplasma. Està constituïda per una bicapa lipídica d'estructura i composició idèntica a la de les cèl·lules eucariotes, excepte per l'absència de colesterol. Les funcions de la membrana plasmàtica són les mateixes que en les cèl·lules eucariotes, és a dir, delimitar el bacteri i regular el pas de substàncies. A més, però, conté diversos sistemes enzimàtics que tenen les funcions de dirigir la replicació del DNA bacterià, fer la respiració bacteriana, fer la fotosíntesis en els bacteris fotosintètics i assimilar nitrogen en forma de NO_3^- o NO_2^+ (bacteris nitrificants) o el N_2 atmosfèric.

2.1.2.4 Ribosomes

Són partícules globulars d'uns 200 Å de diàmetre que es troben en gran nombre (5.000-20.000) lliures en el citoplasma bacterià o formant llargues cadenes anomenades poliribosomes. Els ribosomes bacterians són una mica més petits que els de les cèl·lules eucariotes (tenen una velocitat de sedimentació de 70 S⁶ i estan compostos per RNA i proteïnes. La seva funció és la síntesi de proteïnes.

2.1.2.5 Inclusions

Són grànuls de substàncies de reserva que el bacteri sintetitza en moments d'abundància i que es troben dispersos en el citoplasma. Alguns exemples són els grànuls de midó, els dipòsits de lípids, les reserves de fòsfor o grànuls de volutina, i els grànuls de sofre.

2.1.2.6 Orgànuls especials

Alguns grups de bacteris presenten orgànuls especials. Els principals tipus són:

- **Vacúols de gas.** Aquests orgànuls tenen a veure amb la flotació dels bacteris. Es donen en bacteris que viuen en medis aquosos i que precisen mantenir-se en una determinada profunditat.
- **Clorosomes.** Són orgànuls que contenen pigments fotosintètics.
- **Carboxisomes.** Contenen l'enzim ribulosa-difosfat-carboxilasa, responsable de la fixació del CO_2 de l'aire.

⁶ Velocitat constant de sedimentació que s'aconsegueix quan se sotmet una dissolució aquosa d'una determinada partícula a ultracentrifugació. Depèn de la mida, el pes i la morfologia de la partícula i es mesura en Svedbergs (S), que equivalen a 1×10^{-13} segons (s). La mida dels ribosomes es mesura amb aquesta magnitud.



2.1.2.7 El cromosoma bacterià

Està constituït per una doble cadena circular de DNA, generalment condensada en una regió del citoplasma anomenada nucleoide, i es troba associat a proteïnes i RNA.

La funció del cromosoma bacterià és contenir la informació genètica, així com dirigir el funcionament de tot el metabolisme bacterià. Els bacteris també poden tenir petites molècules de DNA circular bicatenari anomenades **plasmidis**, que disposen també de capacitat de replicació pròpia. El plasmidi no conté gens imprescindibles per al desenvolupament del metabolisme bacterià, sinó que la informació que porta pot ser útil per sobreviure a l'acció d'algun antibiòtic o per produir una proteïna determinada.

2.1.2.8 Flagels

Són prolongacions fines amb una longitud que pot ser diverses vegades més gran que la del bacteri. N'hi pot haver des d'un sol fins a 100 per cèl·lula bacteriana i, en girar, permeten el moviment dels bacteris.

2.1.2.9 Pilis

Són estructures allargades i buides que els bacteris fan servir per adherir-se a diferents superfícies. Només es troben en els bacteris gram⁺. N'hi ha de dos tipus: els pilis de conjugació o pilis sexuals i els pilis d'unió o fimbries.

Els pilis de conjugació són llargs i uneixen dos bacteris perquè s'intercanviïn material genètic (conjugació) (vegeu l'apartat 5.2.3). Els presenten els individus que tenen plasmidis que poden ser transferits a altres bacteris.

Els pilis d'unió o fimbries són curts i abundants i els bacteris els utilitzen per adherir-se a diferents superfícies com la interfase aigua/aire i la superfície de les cèl·lules. Per tant, poden contribuir a augmentar el caràcter patògen dels bacteris, i pot haver soques que en tenen i d'altres de la mateixa espècie que, per mutació, no en tenen.

2.1.3 Funcions de nutrició

Tal com s'ha esmentat anteriorment, els bacteris presenten una gran varietat de vies metabòliques. A més, una mateixa espècie pot, fins i tot, tenir dos tipus de metabolisme diferents, segons les característiques del medi i l'abundància de nutrients. Els bacteris poden ser:

- **Fotoautòtrofs:** produeixen matèria orgànica a partir de matèria inorgànica i de l'energia de la llum. És el cas dels bacteris verds i porpres sulfuris i els cianobacteris.
- **Fotoheteròtrofs:** requereixen energia lluminosa però també molècules orgàniques com ara alcohols, àcids grassos i hidrats de carboni com a font de carboni. Es tracta dels bacteris verds i porpres no sulfuris.
- **Químioautòtrofs:** aprofiten l'energia alliberada per l'oxidació d'un compost inorgànic per obtenir matèria orgànica a partir de CO₂; com els bacteris nitrificants.



- **Quimioheteròtrofs:** obtenen energia a partir de l'oxidació de matèria orgànica morta, que són la gran majoria, o de matèria orgànica viva, que són els bacteris patògens.

Alguns bacteris necessiten oxigen per poder produir energia: són els bacteris aerobis. Els bacteris que no precisen d'oxigen s'anomenen anaerobis. D'aquests últims n'hi ha de dos tipus: els anaerobis facultatius, que tot i que habitualment no els cal oxigen, l'aprofiten quan és present al medi, i els anaerobis estrictes, als quals els pot arribar a resultar tòxic.

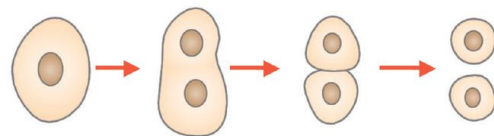
2.1.4 Funcions de relació

Moltes espècies de bacteris disposen de mobilitat. El desplaçament pot efectuar-se a través de reptació sobre un substrat sòlid, per mitjà de moviments de contracció i dilatació o bé per mitjà de flagels.

També s'han comprovat respostes davant d'estímuls lluminosos (fototactisme) en bacteris fotosintètics, i també d'estímuls químics (quimiotactisme). Però una de les respostes més conegudes respecte a variacions del medi és la formació d'espores, que són formes de resistència. Els bacteris que viuen al sòl, enfrontant-se a les condicions adverses del medi, entren en períodes de metabolisme reduït i protegeixen el seu DNA, al voltant del qual formen una complexa coberta que dóna lloc a l'endòspora. Quan la resta de la cèl·lula bacteriana es destrueix, les endòspores queden lliures al sòl i s'anomenen exòspores, que poden sobreviure molt de temps en condicions ambientals adverses; però quan les condicions ambientals tornen a ser adequades, germinen i donen lloc a bacteris amb totes les seves funcions.

2.1.5 Funcions de reproducció

La reproducció dels bacteris és de tipus asexual i es duu a terme per mitjà de bipartició o fissió binària (vegeu la il·lustració 5), a la qual precedeix una duplicació del DNA bacterià i una separació de les dues molècules obtingudes. Els bacteris fills són genèticament idèntics, per la qual cosa les colònies de bacteris estan formades per individus clònics. Aquest tipus de reproducció provoca que el creixement bacterià sigui exponencial. A més, com que els bacteris tenen un cicle vital molt curt (entre quinze minuts i una hora), en un curt període de temps, d'una cèl·lula inicial en neixen moltes més.



Il·lustració 5. Reproducció per bipartició en els bacteris

Els bacteris tenen mecanismes relacionats amb la reproducció anomenats parasexuals, per mitjà dels quals intercanvien informació genètica amb altres bacteris, siguin o no de la mateixa espècie. Hi ha tres tipus de mecanismes d'intercanvi genètic: conjugació, transducció i transformació (vegeu l'apartat 5.2). Aquests mecanismes no tenen finalitat reproductiva però contribueixen a augmentar la variabilitat genètica dels individus. Això explica, per exemple, que alguns bacteris d'una mateixa espècie siguin resistents a un determinat antibiòtic i altres no.



2.1.6 Tipus d'eubacteris

La classificació dels bacteris és extremadament complexa i es basa no només en les característiques morfològiques sinó també en la manera en què es tenyeixen amb els colorants (gram⁺ i gram⁻), en la manera de formar colònies, en el tipus de nutrició, en la fisiologia (tolerància a la temperatura i al pH, requeriments d'oxigen i sals), en la bioquímica, la genètica i les anàlisis moleculars.

Actualment es coneixen unes 9.000 espècies de bacteris, però s'estima que hi poden haver més de 10 milions d'espècies per descobrir. Les espècies conegudes s'agrupen en més de 20 fílums. Els grups més importants de bacteris són els següents:

- **Bacteris porpres i verds.** Són bacteris fotosintètics i anaerobis que tenen un pigment semblant a la clorofil·la, anomenat bacterioclorofil·la, i un sol fotosistema en el seu mecanisme fotosintètic, per la qual cosa no poden utilitzar l'aigua com a font d'hidrogen i, per tant, no generen oxigen. Els bacteris porpres deuen el seu color a la combinació de la bacterioclorofil·la verda amb els carotenoides, de color vermellós o taronja.

Els bacteris porpres i els verds s'anomenen sulfurosos si utilitzen el H₂S com a font d'hidrogen, i no sulfurosos si utilitzen molècules orgàniques.

- **Cianobacteris.** També s'anomenen cianofícies o algues verdes blavoses i es tracta de bacteris fotosintètics aerobis. El nom fa referència a la presència d'un pigment blau anomenat ficocianina, que s'afegeix a la clorofil·la. Poden existir com a cèl·lules aïllades o formar colònies filamentoses.
- **Bacteris nitrificants.** Són bacteris quimioautòtrofs capaços de formar compostos orgànics gràcies a l'energia alliberada en reaccions d'oxidació de compostos nitrogenats inorgànics. Hi ha dos grups de bacteris nitrificants: els bacteris oxidants d'amoni (NH₄⁺), com ara els del gènere *Nitrosomonas*, que transformen l'amoni en nitrit (NO₂⁻); i els bacteris oxidants de nitrits, com ara els del gènere *Nitrobacter*, que oxiden nitrits a nitrats (NO₃⁻). Els bacteris nitrificants viuen als sòls i també als sediments marins, i són molt importants, ja que transformen els nutrients inorgànics en substàncies que les plantes poden aprofitar.
- **Bacteris fixadors de nitrogen.** Són bacteris aerobis gramnegatius capaços de fixar el nitrogen de l'atmosfera. Viuen preferentment als sòls, com ara els gèneres *Azotobacter* i *Rhizobium*; aquest darrer sol establir simbiosi amb plantes lleguminoses.
- **Bacteris entèrics.** Són els bacteris que viuen a l'intestí humà i d'altres espècies, s'alimenten de la matèria orgànica que hi ha a l'intestí i contribueixen a la formació dels excrements. En conjunt, els bacteris entèrics acostumen a anomenar-se flora intestinal. Solen ser bacteris gramnegatius, i són anaerobis facultatius i oxiden glucosa. *Escherichia coli* és l'espècie més important dels bacteris entèrics (vegeu l'apartat 6.2.3).
- **Espiroquetes.** Són eubacteris primis, llargs i lleugerament ondulats. Presenten fibril·les internes al citoplasma que, en rotar, proporcionen moviment al bacteri. Viuen generalment en medis aquàtics; d'altres produeixen malalties als



animals i l'espècie humana, com ara *Treponema pallidum*, que causa la sífilis humana.

- **Bacteris de l'àcid làctic.** Són bacteris anaerobis tolerants a l'oxigen, grampositius i fermentatius, que produeixen àcid làctic com a producte final. Viuen en productes d'origen animal o vegetal que estan en fermentació i en el tracte digestiu o urogenital de l'espècie humana i normalment no són patògens. Entre els gèneres més importants cal destacar, principalment, els bacteris *Streptococcus* i *Lactobacillus*, que és utilitzat per a la producció de formatges, iogurts o altres aliments fermentats.
- **Micoplasmes.** Són bacteris sense paret bacteriana, la membrana plasmàtica dels quals conté esterols, que li donen gran estabilitat. Poden tenir forma de cocos diminuts i poden formar colònies esfèriques en forma d'ou ferrat o formar filaments com els dels fongs. La major part dels micoplasmes són patògens, i produeixen malalties a les plantes i a l'espècie humana, com per exemple la pneumònia atípica.



3. Els bacteris i els humans

Per al bacteri, el cos humà és un refugi ambiental que li proporciona la calor, la humitat i l'aliment necessaris per al creixement. Els bacteris han adquirit característiques genètiques que els permeten entrar en aquest refugi (invasió), romandre-hi (colonització), aconseguir l'accés a les fonts de nutrients i evitar les respostes protectores immunitàries i no immunitàries de l'organisme hoste. Així doncs, molts dels mecanismes que els bacteris utilitzen per sobreviure a l'interior de l'organisme hoste i aprofitar les substàncies que produeixen les seves cèl·lules per al creixement bacterià produeixen danys i problemes en l'individu. D'aquesta manera, molts bacteris produeixen malalties en els humans a causa de la destrucció dels seus òrgans i teixits, o també com a conseqüència de les toxines que alliberen directament a la sang, que les dissemina per tot el cos.

No obstant això, no tots els bacteris produeixen malalties. L'organisme humà està colonitzat per nombrosos microorganismes, com és el cas dels bacteris de la flora intestinal. Molts d'aquests microorganismes desenvolupen funcions importants per a l'individu hoste, com ajudar en la digestió del menjar, produir vitamines (per exemple, vitamina K) i protegir l'organisme davant la colonització d'altres microorganismes que sí són patògens.

Els bacteris virulents tenen mecanismes que afavoreixen el seu creixement en l'individu hoste a costa dels teixits d'aquest o de la funció dels òrgans. Les malalties són resultat del dany o la pèrdua de la funció del teixit o de l'òrgan, o bé del desenvolupament d'una resposta inflamatòria per part de l'organisme. A més, hi ha els que es coneixen com a bacteris oportunistes. Aquests microorganismes aprofiten les condicions preexistents que potencien la vulnerabilitat del pacient, com la immunosupressió⁷, per desenvolupar i originar una malaltia de major gravetat. Per exemple, el bacteri *Pseudomonas aeruginosa* infecta els pulmons dels pacients que sofreixen de fibrosi quística, mentre que els infectats pel síndrome de la immunodeficiència adquirida (SIDA) són molt susceptibles a la infecció per part de bacteris de creixement intracel·lular, com els micobacteris.

3.1 Immunitat

El cos humà té la capacitat de resistir a gairebé tots els tipus de microorganismes o toxines que tendeixen a danyar els teixits i els òrgans. Reconeix els materials estranys que penetren al seu interior i intenta eliminar-los abans que provoquin algun dany. Aquesta capacitat de defensa s'anomena immunitat.

Per defensar-se davant les infeccions, els animals disposen de dues estratègies bàsiques: utilitzen barreres passives, com ara la pell, per impedir que els agents patògens penetrin al seu organisme, i ataquen activament els agents patògens que han aconseguit entrar i allotjar-se als seus teixits. Si els agents patògens han aconseguit entrar a l'organisme malgrat les barreres passives, l'atac actiu és dut a terme pels

⁷ Supressió de la resposta immunitària deguda a l'administració de fàrmacs, a la irradiació o a agents com el sèrum antilinfocitari.



processos immunitaris de l'organisme, que duu a terme el sistema immunitari, una xarxa complexa d'òrgans, cèl·lules i proteïnes circulants.

D'altra banda, cada microorganisme o toxina invasora conté unes molècules o part de molècules que són les que generen la resposta immune perquè són reconegudes com a estranyes a l'organisme; són els anomenats antígens.

3.1.1 Actuació del sistema immunitari davant les infeccions bacterianes

Davant les infeccions bacterianes, el nostre organisme desenvolupa una sèrie de respostes immunològiques. El sistema immunitari té la principal funció de protegir l'individu davant dels microorganismes patògens.

La defensa contra els microorganismes pot estar regulada per la immunitat natural o innata o per la immunitat adquirida. La immunitat innata, també anomenada inespecífica, és deguda al sistema immune natural, que s'ocupa de processos generals de defensa no específics per a un determinat invasor. La immunitat adquirida és deguda al sistema immune adaptatiu, que forma anticossos i limfòcits activats que ataquen i destrueixen els organismes o toxines danyoses, de manera específica. D'acord amb la manera diferent d'actuar dels limfòcits T i B en el procés immunitari específic, podem dir que hi ha dos tipus d'immunitat adquirida:

- **Immunitat humoral** o immunitat deguda a unes molècules anomenades anticossos, produïdes pels limfòcits B.
- **Immunitat cel·lular** o immunitat deguda als limfòcits T.

La major part dels microorganismes que entren en contacte amb l'home no arriben mai a contactar amb les molècules encarregades de la immunitat específica, sinó que són neutralitzats per les barreres físiques i bacterianes de la pell i les mucoses.

Diferents microorganismes estimulen diferents mecanismes efectors. La magnitud i el tipus de resposta immunològica a una infecció depèn de la pròpia infecció. Es podria dir que cada microorganisme origina una resposta "a la seva mida", i per això hi ha tants tipus de mecanismes efectors com microbis invasors.

La supervivència i la patogenicitat dels microorganismes està relacionada amb la seva habilitat per eludir els mecanismes immunològics de protecció. De fet, els microorganismes han desenvolupat una gran varietat d'estratègies per sobreviure a l'acció del sistema immunològic.

El dany als teixits de l'organisme i la malaltia causada per la infecció poden ser conseqüència de la resposta immunològica i no de l'acció directa del microorganisme. Per tant, la immunitat, encara que és necessària per a la supervivència de l'organisme, té la capacitat de causar danys a l'hoste.

3.1.1.1 Immunitat contra bacteris extracel·lulars

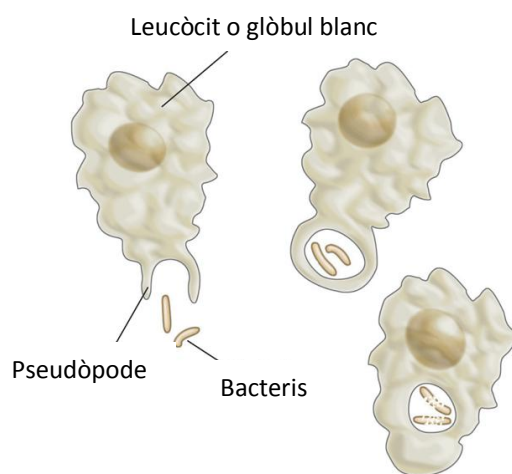
Els bacteris extracel·lulars són aquells capaços de replicar-se fora de les cèl·lules de l'individu hoste, és a dir, en les zones de circulació, teixits connectius i espais intersticials. Aquests bacteris produeixen malalties mitjançant dos mecanismes



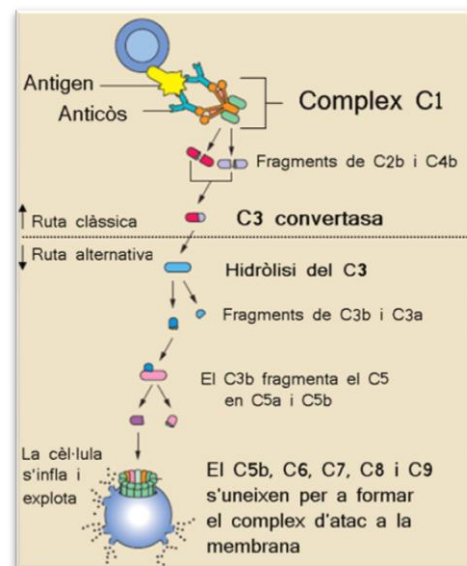
principals: la destrucció local de teixits, que produeixen inflamació; i l'alliberació de toxines, que tenen efectes patològics.

- **Immunitat natural o innata.** Els microbis extracel·lulars són ràpidament matats pels mecanismes microbicides de fagocitosi (vegeu la il·lustració 6). La fagocitosi la realitzen uns tipus de glòbuls blancs o leucòcits especials, com els monòcits i els neutròfils, i és un tipus d'endocitosi que comporta l'englobament o captura del microorganisme en vacúols fagocítics, la incorporació dels enzims hidrolítics dels lisosomes a aquests vacúols (fagolisosomes) i la destrucció dels microorganismes fagocitats, així com l'aprofitament de les biomolècules produïdes en aquest procés. La resistència bacteriana a la fagocitosi és la que determina la virulència de la infecció.

Un altre mètode per eliminar aquests bacteris és l'activació del sistema del complement (vegeu la il·lustració 7). El sistema del complement és el nom que es dona a un grup d'unes 20 proteïnes presents a la sang que s'activen quan són estimulades per un senyal. Aleshores s'inicia una seqüència d'activacions de la resta de proteïnes del complement que condueixen finalment a la formació d'un enzim actiu del grup de les proteases que actua sobre la membrana del microorganisme, la destrueix i hi produeix porus. Per aquests porus surten les petites molècules citoplasmàtiques del microorganisme, mentre que l'aigua extracel·lular hi entra i hi produeix l'inflament i la posterior destrucció.

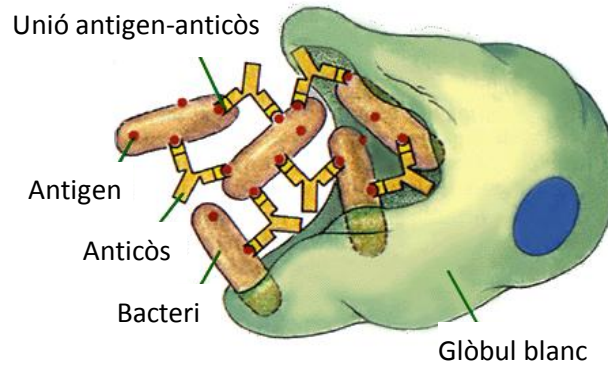


Il·lustració 6. Fagocitosi



Il·lustració 7. Sistema de complement

- **Immunitat adquirida o específica.** El principal mecanisme de defensa davant els bacteris extracel·lulars és la immunitat humoral (vegeu la il·lustració 8), en la qual les cèl·lules no ataquen directament als antígens, sinó que els anticossos alliberats per aquestes cèl·lules plasmàtiques són els que actuen contra els antígens. Aquest tipus d'immunitat s'origina, com hem dit anteriorment, als limfòcits B, que són unes cèl·lules especialitzades produïdes a la medul·la òssia. Els limfòcits B estan dissenyats per a produir anticossos quan són estimulats per fer-ho, generalment pels limfòcits T, que reconeixen els antígens i desencadenen la producció d'anticossos en els limfòcits B.



Il·lustració 8. Immunitat humoral

3.1.1.2 Mecanismes d'escapament dels bacteris extracel·lulars

Els bacteris extracel·lulars disposen de mecanismes d'escapament que afavoreixen la invasió i la colonització de teixits. Aquests mecanismes inclouen les propietats adhesives de les proteïnes de membrana bacterianes, mecanismes anti-fagocítics i d'inhibició del sistema del complement o de les proteïnes activades del complement. Per exemple, alguns bacteris contenen a la paret àcid siàlic, que és un inhibidor de l'activació del complement.

Un mecanisme d'evasió de la immunitat específica utilitzat per alguns bacteris és la variació genètica dels antígens de la seva superfície, amb l'objectiu de reduir l'eficàcia dels mecanismes de resposta específica de l'hoste.

3.1.1.3 Immunitat contra bacteris intracel·lulars

Alguns bacteris viuen i es repliquen dins de les cèl·lules infectades. Aquests microorganismes són capaços d'establir-se en llocs inaccessibles per als anticossos, de manera que els sistemes immunològics necessaris per a la seva eliminació són molt diferents dels que es desenvolupen davant dels bacteris extracel·lulars.

- **Immunitat natural o innata.** El principal mecanisme de defensa contra bacteris intracel·lulars és la fagocitosi. Tot i això, hi ha microorganismes extremadament resistent a la seva degradació per fagocitosi i, per tant, els mecanismes immunes innats no resulten gaire efectius per a la seva eradicació.
- **Immunitat adquirida o específica.** La principal resposta immunològica específica davant de bacteris intracel·lulars és la que duen a terme les pròpies cèl·lules. La immunitat cel·lular comprèn dos tipus de reaccions, que es corresponen amb els dos tipus de limfòcits T existents:
 - Els limfòcits T citotòxics destrueixen les cèl·lules infectades per bacteris patògens endocel·lulars amb l'alliberació d'unes proteïnes que reben el nom de citotoxines, que indueixen l'aparició de porus a la membrana plasmàtica de la cèl·lula infectada i així destrueixen els microorganismes atacants.
 - Els limfòcits T col·laboradors (o cèl·lules Th, de l'anglès *helper T-cell*) s'encarreguen d'activar els limfòcits B i d'iniciar la proliferació de limfòcits T citotòxics per mitjà de la secreció d'unes molècules anomenades interleucines.



3.1.1.4 Mecanismes d'escapament dels bacteris intracel·lulars

Els bacteris intracel·lulars també presenten mecanismes d'escapament per evitar l'acció de les respostes immunològiques. El principal mètode és la seva resistència a ser eliminats per fagocitosi mitjançant el bloqueig de l'activació dels glòbuls blancs amb capacitat fagocitària. També desafien els mecanismes de destrucció neutralitzant el pH del fagosoma, inhibint la fusió del lisosoma o bé escapant des del fagosoma cap a l'interior del citoplasma.

3.2 La necessitat dels antibiòtics

Com hem vist, el sistema immunitari no és invencible. Si no es tracten, moltes malalties bacterianes poden arribar a ser mortals perquè, lamentablement, l'organisme ofereix les condicions ideals per al creixement i la reproducció de determinats organismes patògens. Així, la infecció es converteix en una cursa entre els microbis invasors i la resposta immunitària, i si la infecció inicial és massiva o si els microorganismes produeixen substàncies especialment tòxiques, l'activació de la resposta immunitària del nostre cos pot arribar massa tard. A més, alguns microorganismes han desenvolupat enginyoses defenses per evadir el sistema immunitari (*mecanismes d'escapament*).

És per això que són necessaris els antibiòtics. Aquests medicaments ajuden a combatre les infeccions frenant el creixement i el desenvolupament de molts invasors, entre els quals hi ha els bacteris, els fongs i el protists (però no els virus). Tot i que els antibiòtics habitualment no destrueixen tots i cada un dels microorganismes, donen al sistema immunitari el temps suficient per acabar la seva tasca.

El principal problema que tenen els antibiòtics, però, és que són potents agents de selecció natural. A vegades apareixen microbis mutants que són resistents a l'antibiòtic i transmeten als seus descendents el gen o els gens de la seva resistència (vegeu l'apartat 5). El resultat és una proliferació dels mutants resistents, mentre que els microbis que poden ser afectats per l'antibiòtic s'extingeixen. Així doncs, molts antibiòtics acaben perdent la seva eficàcia per a tractar les malalties.



4. Els antimicrobians

Els antimicrobians són substàncies químiques naturals o sintètiques que tenen la capacitat d'inhibir el creixement i/o destruir els microorganismes. Es tracta d'uns fàrmacs que, per ser efectius, han de tenir una toxicitat selectiva, és a dir, atacar els microbis que causen la malaltia però sense danyar les cèl·lules dels teixits de l'hoste.

Els antimicrobians es poden classificar en funció del seu origen, del tipus de substrat sobre el qual actuen, de l'espectre d'activitat i de la forma en què actuen:

- **Origen.** Fa referència a la manera com han estat obtinguts. Així doncs, podem distingir entre:
 - **Antibiòtic.** És una substància antimicrobiana natural produïda per microorganismes (ex. fongs) com a resultat d'una biosíntesi específica. En són exemples la penicil·lina i l'eritromicina.
 - **Quimioteràpic.** És una substància antimicrobiana obtinguda a partir de la síntesi química que és capaç d'actuar de forma més o menys selectiva sobre paràsits sense lesionar l'hoste afectat. És el cas del cloramfenicol.
 - **Antimicrobià semisintètic.** És el que s'obté a partir de la modificació d'una substància natural mitjançant l'addició o la modificació de radicals per tal de millorar la seva activitat, la farmacocinètica⁸, o disminuir la seva toxicitat. Són els més usats avui dia, com per exemple l'ampicil·lina i la ciprofloxacina.
- **Substrat sobre el qual actuen.** Ens referim al tipus de microorganisme sobre el qual l'antimicrobià realitza la seva acció. Segons aquest criteri, podem diferenciar entre:
 - **Antibacterians.** Són aquells que combaten els bacteris.
 - **Antifúngics.** Eviten el desenvolupament dels fongs, els destrueixen o en deturen el creixement i la reproducció.
 - **Antivírics.** Són els antimicrobians que actuen contra els virus.
 - **Antiparasitaris.** Són aquells que combaten els paràsits.
- **Espectre.** L'espectre d'un antibiòtic és el conjunt d'agents patògens que poden ser afectats per les concentracions de l'antibiòtic a les quals es pot arribar sense produir toxicitat. Segons l'espectre d'activitat, els antimicrobians poden ser:
 - **D'ampli espectre.** És l'antimicrobià que és capaç d'actuar sobre diferents grups de microorganismes. En són exemple les tetraciclins i el cloramfenicol, que actuen sobre bacteris grampositius i gramnegatius.

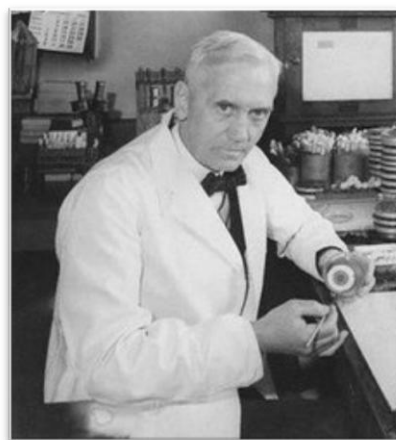
⁸ Branca de la farmacologia que estudia les vies d'introducció del fàrmac dins l'organisme (digestiva, parenteral), el seu repartiment en el medi interior (sang, limfa) i la seva distribució en els òrgans, com també l'acció de certs processos vitals (bioquímics, enzimàtics) sobre la molècula del fàrmac i sobre els metabòlits resultants i llurs vies d'excreció (intestinal, salival, renal, etc).



- **D'espectre reduït.** És l'antimicrobià que actua sobre un petit grup de microorganismes. És el cas dels glucopèptids, que fonamentalment actuen sobre bacteris grampositius.
- **Forma d'acció** (aplicat principalment a antibacterians). Segons la manera en què actuen, els antimicrobians es classifiquen en:
 - **Bacteriostàtic.** Amb la màxima concentració no tòxica que es pot aconseguir en sèrum o en els teixits, s'inhibeix la multiplicació del microorganisme però sense arribar a destruir-lo. Es tracta d'un efecte reversible degut a que, en desaparèixer l'antimicrobià, el microorganisme es pot tornar a multiplicar. Per a ser efectius, necessiten la intervenció dels mecanismes de defensa de l'hoste. És el cas de les tetraciclins, les sulfamides i els macròlids.
 - **Bactericida.** Té una acció letal sobre els microorganismes sobre els quals actua, ja que en provoca la pèrdua de viabilitat, és a dir, de la probabilitat que tenen de prosperar o de sobreviure, o bé la lisi o destrucció total dels microorganismes. Són els antimicrobians més eficaços. Per exemple, els beta-lactàmics, els aminoglicòsids i les quinolones.

4.1 Història i evolució

Quan parlem de l'inici de la història dels antimicrobians sovint ens referim a l'any 1929, quan el bacteriòleg britànic Alexander Fleming (vegeu la il·lustració 9) va publicar el que és considerat arreu del món com el treball que va obrir l'era dels antimicrobians. En aquest treball va descriure la penicil·lina, que és considerat l'antibiòtic per excel·lència. Fleming va descobrir aquest agent antimicrobià quan va observar que el creixement d'uns bacteris del gènere *Staphylococcus* era inhibit per la floridura *Penicillium* (vegeu la il·lustració 10), que havia contaminat accidentalment la placa de cultiu.



Il·lustració 9. Alexander Fleming, descobridor de la penicil·lina

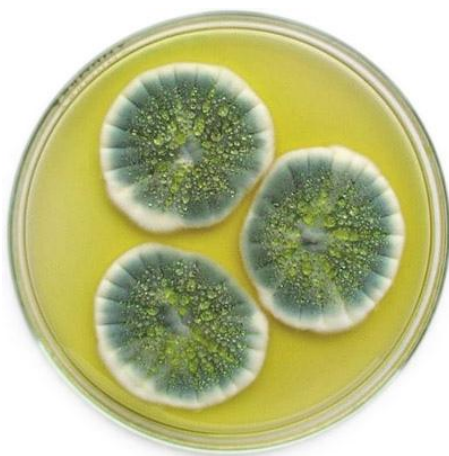
Malgrat això, cal dir que, ja des de l'Edat Antiga, moltes cultures com els antics grecs i els indis utilitzaven les floridures i altres plantes per tractar infeccions. A més, ja a mitjans del segle XIX s'havien fet les primeres observacions empíriques de caire científic que posaven de manifest fenòmens deguts a la producció natural d'antibiòtics. Aquestes observacions van ser l'origen dels primers treballs sobre antimicrobians, que es van començar a desenvolupar durant la segona meitat d'aquest mateix segle. L'anglès Joseph Lister, per exemple, el 1871 va observar que en orines contaminades amb fongs els bacteris no podien desenvolupar-se. Al voltant d'aquesta mateixa data, el metge alemany Billroth va proposar que la floridura *Penicillium* era capaç de modificar els medis de cultius i els feia inútils per als bacteris. El científic francès Garré, l'any 1877 ja parlava de la capacitat que presentaven alguns



microorganismes d'impedir la capacitat de creixement d'altres, i va dissenyar una metodologia per al desenvolupament d'aquesta mena d'estudis. Encara més, l'any 1899 ja es va introduir un producte antibiòtic en la pràctica clínica, la piocianina, substància de color blau produïda pel bacil piociànic (*Pseudomonas aeruginosa*), tot i que l'experiència no va resultar gens positiva, degut a la toxicitat que presentava aquest producte per a les persones. Però no va ser fins al 1901 que Emmerich i Low van descriure l'acció antibiòtica de la piocianina, actualment considerat el primer antibiòtic conegut. Aquests dos científics van descobrir, també, que l'acció d'aquest antimicrobià resulta força tòxica per als organismes pluricel·lulars, i la piocianina, per tant, no ha pogut ésser utilitzada amb finalitat terapèutica.

Fins i tot es van arribar a desenvolupar dos treballs independents a finals del segle XIX per l'italià Vincenzo Tiberio (1895) i el francès Louis Duchesne (1897), els quals van descriure la penicil·lina i van demostrar, no només la seva acció bactericida al laboratori, sinó que també van demostrar la seva capacitat per curar infeccions experimentals en ratolins, anant més enllà encara que Fleming. Així doncs, parlariem de Tiberio i Duchesne en quant al desenvolupament dels primers antimicrobians si no fos que els seus estudis no van ésser continuats.

Abans, però, de la intervenció d'Alexander Fleming en el desenvolupament dels agents antimicrobians, va tenir lloc un descobriment igualment important. Ens referim a l'arsfenamina, la primera substància útil amb capacitat antibiòtica. Es tracta d'un compost arsenical que es va comercialitzar amb el nom de Salvarsán. La va descobrir un metge alemany, Paul Ehrlich, l'any 1909. Amb aquest medicament es va assolir el que semblava impossible, el control de la sífilis, i no hi va haver res millor durant 32 anys, fins el 1941, quan la penicil·lina finalment va substituir el Salvarsán.



Il·lustració 10. Fong *Penicillium*, del qual s'obté la penicil·lina

Van haver de passar dotze anys des que Fleming va descobrir la penicil·lina fins que l'any 1940, gràcies als treballs del metge australià H. Florey i del bioquímic alemany E.B. Chain, es va aconseguir una molècula prou estable per fabricar un medicament. El 1945, Fleming fou distingit, amb Florey i Chain, amb el premi Nobel per la seva contribució en l'estudi i l'aplicació de la penicil·lina.

Finalment la penicil·lina va ser introduïda de manera estable en els hospitals, cap als anys quaranta, i moltes substàncies van ser aïllades o sintetitzades, les quals van permetre atacar els bacteris d'una manera directa. Els primers pacients en rebre penicil·lina van ser els soldats de la Segona Guerra Mundial, i no pas per combatre infeccions de guerra, sinó per combatre malalties venèries⁹.

⁹ Nom donat tradicionalment a les malalties de transmissió sexual que afecten principalment els òrgans sexuals, com la sífilis, la blennorràgia, el xancre tou, etc.



Continuant amb la història dels antimicrobians, l'any 1944, el microbiòleg ucraïnès nacionalitzat nord-americà S.A. Waksman i el seu equip van donar a conèixer l'estreptomycina, un antibiòtic extret d'un cultiu de *Streptomyces griseus*.

Des d'aleshores, s'estan detectant cada vegada més cultius d'organismes productors d'antibiòtics, es descobreixen noves espècies i soques¹⁰ de productivitat més elevada, i fins i tot s'han arribat a modificar alguns antibiòtics introduint alguns canvis en l'estructura molecular gràcies a la biotecnologia i l'enginyeria genètica, per tal de fer-los més eficaços o simplement actius davant soques que, per mutació, han esdevingut resistents a la seva acció. D'aquesta manera, la ràpida evolució dels antimicrobians en poc més de cent anys ens ha permès disposar no només d'antibacterians, sinó també de substàncies capaces de fer front a infeccions de paràsits, fongs i, encara que de manera més limitada, de virus.

4.2 Els antibiòtics

En aquest treball de recerca en centrarem en l'estudi dels antibacterians, que sovint anomenem antibiòtics sense tenir en compte el seu origen i que, per tant, inclou tant antibiòtics com alguns quimioteràpics.

Els antibiòtics són substàncies químiques produïdes en el metabolisme d'alguns bacteris del grup dels actinomicetals i per determinats fongs filamentosos. La seva composició química és variada, fet que ha determinat que s'hagin establert famílies d'antibiòtics amb una composició semblant (vegeu l'annex 1); així, hi ha antibiòtics que contenen hidrats de carboni, altres que són pèptids o derivats d'aminoàcids, d'altres que són quinones, d'altres que són derivats de molècules aromàtiques, etc. Els antibiòtics són molt útils per al tractament de malalties produïdes per bacteris, i alguns també tenen efectes contra els fongs patògens; però nosaltres ens centrarem en la seva aplicació principal com a antibacterians.

4.2.1 Mecanismes d'acció dels antibiòtics

Els mecanismes mitjançant els quals els compostos amb activitat antibacteriana inhibeixen el creixement o causen la mort dels bacteris són molt variats. A més, cal dir que antibiòtics amb estructures químiques molt diferents poden tenir el mateix mecanisme d'acció.

4.2.1.1 Inhibició de la síntesis de la paret bacteriana

Els antibiòtics que integren aquest grup són generalment bactericides. S'inclouen els següents: beta-lactàmics, bacitracina, cicloserina, ristocetina i vancomicina.

Tots els bacteris posseeixen una paret cel·lular rígida (excepte els micoplasmes), que rodeja per complet la membrana citoplasmàtica. Aquesta paret es comporta com un

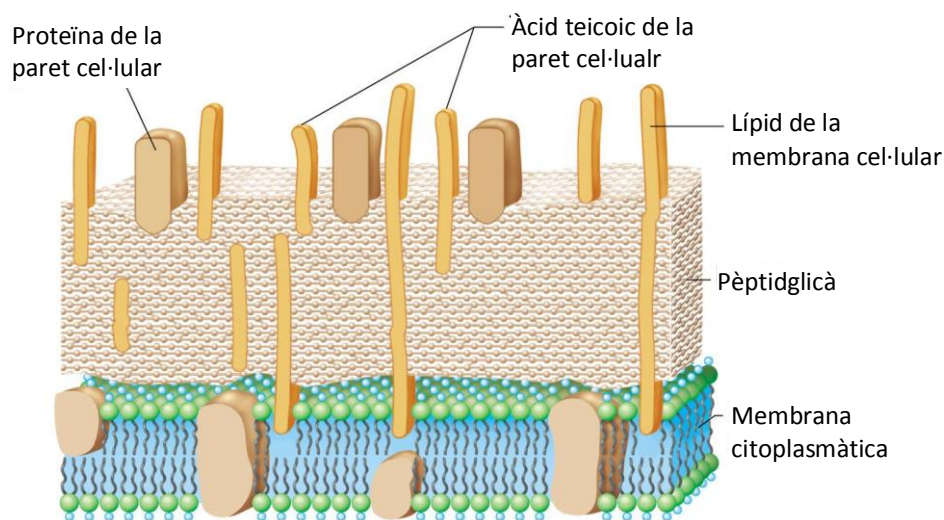
¹⁰ Grup de bacteris amb determinades característiques genètiques que els diferencia dels altres individus de la varietat a la qual pertanyen, en general descendents d'un antecessor comú del qual conserven les seves característiques a través de les generacions.



element protector de la integritat cel·lular i impedeix el seu trencament, ja que existeix una gran pressió osmòtica a l'interior dels bacteris. Per això, qualsevol inhibició de la seva formació o lesió de la paret cel·lular pot conduir a la lisi de la cèl·lula.

Així, els antibacterians que inhibeixen la síntesi de la paret bacteriana necessiten que el bacteri es trobi en creixement actiu per tal d'exercir la seva acció; i a més, necessiten que el medi en què es troba el bacteri sigui isotònic o hipotònic, la qual cosa afavoreix la seva explosió un cop la paret cel·lular ha estat desestructurada.

La paret bacteriana està formada per una xarxa de molècules pèptid-glicà (vegeu la il·lustració 11). Els seus components són sintetitzats al citoplasma i, una vegada transportats a través de la membrana citoplasmàtica s'encaixen amb l'ajut d'uns enzims de la superfície anomenats proteïnes fixadores de la penicil·lina (PBPs). Les PBPs són enzims (carbopeptidases, transpeptidases o endopeptidases) que intervenen en la fase final de la síntesi de la paret, i l'organitzen durant el creixement i la divisió cel·lular. També intervenen les autolisines, que són uns enzims autolítics que condicionen la lisi cel·lular, participen en la renovació de la paret cel·lular i estan regulades per inhibidors enzimàtics. Alguns antibacterians tenen la capacitat de desactivar els inhibidors i, per tant, afavoreixen la lisi cel·lular, provocant un efecte bactericida sobre el microorganisme atacat.



Il·lustració 11. Estructura de la paret bacteriana

Antibacterians que actuen sobre la síntesi de la paret bacteriana:

- **β -lactàmics.** Tenen una estructura espacial similar a un residu de les cadenes de pèptid-glicà, que és el substrat natural de les PBPs. Són agents bactericides que actuen unint-se covalentment amb les PBPs, de manera que inhibeixen la síntesi del pèptid-glicà. La seva acció bactericida només es produeix quan les cèl·lules estan en fase de creixement.
- **Glicopèptids.** Inhibeixen la síntesi del pèptid-glicà en un pas previ al dels β -lactàmics. Eviten el procés de polimerització necessari per a que el complex disacàrid-pentapèptid se separi del fosfolípid de la membrana citoplasmàtica. Com a conseqüència, s'acumula unit a la membrana cel·lular del bacteri. A més, la vancomicina, que és un tipus de glicopèptid, altera la permeabilitat de la membrana i inhibeix la síntesi de l'ARN.



4.2.1.2 Alteració de la permeabilitat de la membrana citoplasmàtica

Aquests antibacterians actuen com a detergents sobre els lípids de la membrana plasmàtica dels bacteris gramnegatius. La desaparició de la funció de barrera amb permeabilitat selectiva d'aquesta membrana condiciona la pèrdua de proteïnes, sals i aigua i, per tant, la viabilitat del microorganisme. Aquests antibacterians són poc utilitzats en les aplicacions terapèutiques habituals, ja que la membrana citoplasmàtica també és un constituent fonamental de les cèl·lules eucariotes i presenten un alt nivell de toxicitat.

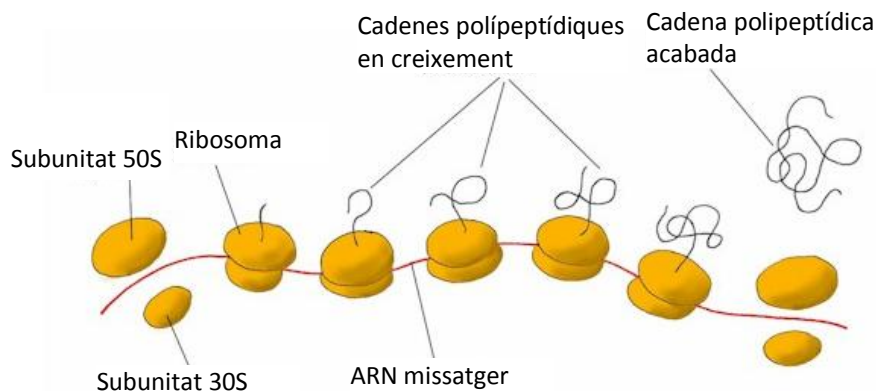
Antibacterians que alteren la permeabilitat cel·lular:

- **Polipèptids.** Aquest grup està representat per les polimixines, que són una família integrada per cinc compostos (polimixines A, B, C, D i E), els més destacats dels quals són la polimixina B i la polimixina E, també coneguda com a colistina. Es tracta de polipèptids cíclics amb una llarga cua hidrofòbica, i actuen com a detergents catiónics: s'uneixen a la membrana cel·lular del bacteri i provoquen la fuga del contingut essencial del citoplasma.

4.2.1.3 Inhibició de la síntesi de proteïnes

La síntesi proteica és un dels processos més freqüents afectats per l'acció dels antimicrobians, i la seva inhibició selectiva és possible gràcies a les diferències estructurals entre els ribosomes bacterians i eucariotes, que són els orgànuls encarregats de la síntesi de les proteïnes. Els ribosomes bacterians estan formats per dos subunitats (30S i 50S), que contenen ARN ribosòmic (ARNr 16S en la subunitat 30S i ARNr 5S i 23S en la subunitat 50S) i diverses proteïnes anomenades S (*small* o petita, en la subunitat 30S) o L (*large* o gran, en la subunitat 50S). Els diferents components d'aquesta estructura poden ser llocs d'unió per als antibacterians (vegeu la il·lustració 12).

Per tant, els antibacterians poden actuar sobre la subunitat 30S del ribosoma, impossibilitant l'inici de la síntesi proteica, com fan els aminoglicòsids, o obstaculitzant la unió de l'ARNt al ARNm-Ribosoma, com fan les tetraciclines; o bé sobre la subunitat 50S del ribosoma, de manera que fan nosa per a la incorporació de nous aminoàcids a la proteïna que s'està sintetitzant. És el cas dels macròlids, els amfenicols i les lincosamides.



Il·lustració 12. Procés de síntesi de proteïnes



Antibacterians que actuen en les diferents fases de la síntesi proteica:

- **Aminoglicòsids.** S'uneixen a la proteïna S12 de la subunitat 30S del ribosoma, bloquejant la formació del complex d'iniciació de la síntesi proteica. Així, produeixen una lectura errònia del missatge i la proteïna sintetitzada és defectuosa. El resultat final és la mort del bacteri (efecte bactericida).
- **Tetraciclins.** Actuen bloquejant la unió entre el grup ARNm-ribosoma i l'ARNt que conté l'aminoàcid corresponent. La seva acció és transitòria, de manera que el seu efecte és reversible (efecte bacteriostàtic).
- **Anfenicols.** S'uneixen a l'enzim peptidil transferasa en la subunitat 50S del ribosoma, de manera que inhibeixen la formació de l'enllaç peptídic que uneix els diversos aminoàcids i detenen la síntesi de proteïnes (efecte bacteriostàtic).
- **Lincosamides.** S'uneixen a la subunitat 50S del ribosoma bacterià inhibint la replicació primerenca de la cadena polipeptídica, a través de la inhibició de l'acció de l'enzim transpeptidasa.
- **Macròlids.** S'uneixen a la subunitat ribosòmica 50S i, o bé interfereixen en la formació del complex d'inici de la síntesi de les cadenes polipeptídiques, o bé impedeixen les reaccions de translocació de l'aminoacil¹¹.
- **Ketòlids.** Interaccionen amb la subunitat ribosòmica 50S quan la síntesi de proteïnes ja s'ha iniciat, bloquejant la incorporació d'aminoàcids a la cadena polipeptídica.
- **Estreptogramines.** Aprimen el canal a través del qual el nou polipèptid és alliberat del ribosoma, de manera que impedeixen la síntesi completa de les proteïnes.
- **Oxazolidinones.** Es fixen a la subunitat 50S del ribosoma, inhibint la formació del complex d'iniciació 70S.

4.2.1.4 Alteració de la síntesi dels àcids nucleics

El genoma bacterià conté informació per a la síntesi de proteïnes, que es transmet a través de l'ARN missatger produït a partir de l'ADN (transcripció), i per a la síntesi de l'ARN ribosòmic que formarà part dels ribosomes del bacteri. La informació de l'ADN ha de duplicar-se (replicació) quan el microorganisme es divideix, per transmetre aquesta informació a la descendència. La replicació i la transcripció de l'ADN es realitzen en diverses fases gràcies a la participació de diferents enzims i substrats, a més de l'ADN inicial. És sobre aquestes molècules que poden actuar els antibacterians.

Antibacterians que actuen sobre la síntesi dels àcids nucleics:

- **Quinolones.** El cromosoma bacterià està format per una doble cadena d'ADN que és mil vegades més llarg que el propi bacteri, de manera que es troba retorçat sobre si mateix en forma d'ADN superenrotllat. En aquesta configuració, els processos de replicació i transcripció de l'ADN bacterià no es poden realitzar, per la qual cosa s'ha de desenrotllar. Els enzims topoisomerases i l'ADN girasa són els encarregats del superenrotllament i del desenrotllament de l'ADN, així com del tall, la unió i la separació de les cadenes

¹¹ Radical que prové d'un aminoàcid que ha perdut l'hidroxil del grup carboxil -CO.OH.



d'ADN. Són, doncs, necessaris per als processos de síntesi de l'ADN i de repartició de la informació genètica a les cèl·lules filles, quan el bacteri es divideix. Les quinolones actuen inhibint l'acció d'aquests enzims.

- **Rifamicines.** Inhibeixen la síntesi d'ARN ribosòmic i missatger, ja que bloquegen l'enzim ARN polimerasa, de manera que impedeix el procés de transcripció de l'ARNm en proteïnes. Les rifamicines no tenen efecte antibacterià si la transcripció ja s'ha iniciat.
- **Nitrofurans.** Es redueixen al citoplasma bacterià, generant derivats tòxics que danyen l'ADN mitjançant un mecanisme que fragmenta les cadenes. També interfereixen en la síntesi proteica del bacteri, ja que s'uneixen al ribosoma 30S i bloquegen el reconeixement codó-anticodó.
- **Nitroimidazoles.** Penetren fàcilment al citoplasma i allí el grup NO_2 de l'anell imidazòlic característic d'aquest producte antibacterià, que es comporta com acceptor d'electrons, es redueix a causa dels enzims nitroreductases del metabolisme bacterià, alliberant així radicals nitrats que danyen l'ADN per oxidació.

4.2.1.5 Interferència en el metabolisme bacterià

Per obtenir determinats elements essencials com els aminoàcids o les bases púriques i pirimidíniques que formen els nucleòtids, es necessita la síntesi d'uns compostos anomenats folats que, a diferència de les cèl·lules eucariotes, els bacteris són incapaços d'obtenir del medi. L'han de sintetitzar els propis microorganismes mitjançant un seguit de reaccions metabòliques. Els components antibacterians que actuen sobre la síntesis metabòlica, en general, competeixen amb els precursors dels aminoàcids i així eviten la síntesi d'àcid fòlic necessari per a molts microorganismes.

Antibacterians que interfereixen en el metabolisme del bacteri:

- **Sulfamides.** Tenen una estructura química molt semblant a l'àcid paraminobenzanoic o PABA, imprescindible per a la síntesi de l'àcid fòlic bacterià. Així doncs, són anàlegs estructuralment, i inhibeixen els enzims que s'encarreguen de sintetitzar els folats, impedit d'aquesta manera la formació d'àcid fòlic i d'àcid folínic i inhibint, per tant, el creixement i la reproducció dels bacteris. Aquest antibiòtic no afecta a les cèl·lules humanes, que obtenen els folats en la dieta.
- **Trimetoprim.** És un anàleg de l'àcid dihidrofòlic i inhibeix l'enzim dihidrofolat reductasa. Aquest enzim participa en la conversió de l'àcid dihidrofòlic en la seva forma funcional, l'àcid tetrahidrofòlic. La seva inhibició esgota les reserves de folat, un cofactor essencial per a la biosíntesi de purines i, per tant, de l'ADN bacterià. Per tant, la seva inhibició impedeix la divisió del microorganisme.
- Tot i que les sulfamides i el trimetoprim tenen efecte bacteriostàtic per si sols, combinats entre si es converteixen en un bactericida, comparable als antibiòtics d'ampli espectre.



4.2.1.6 Inhibició de les betalactamases

Són un grup de substàncies farmacològiques que s'associen a antibiòtics β -lactàmics amb la fi d'impedir la inactivació enzimàtica de l'anell β -lactàmic per part d'alguns microorganismes.

El mecanisme més important de resistència als antibiòtics β -lactàmics és la producció d'enzims inactivador per part dels bacteris, les β -lactamasas, que hidrolitzen l'anell β -lactàmic de penicil·lines, cefalosporines i altres β -lactàmics, fent que perdin la capacitat d'unir-se a les PBP i que no tinguin activitat antibacteriana.

Inhibidors de betalactamases

- **Sulbactam**
- **Àcid clavulànic**
- **Tazobactam**

Tots tres tenen una estructura semblant a un anell β -lactàmic que l'enzim bacterià trenca i hidrolitza. Però, a diferència del que passaria amb un antibiòtic convencional, aquests queden units a les β -lactamasas de forma permanent i els enzims no poden seguir actuant sobre altres molècules β -lactàmiques. El resultat d'aquesta reacció és la destrucció de l'inhibidor de β -lactamasas i de la β -lactamasa. És per això que els inhibidors de β -lactamasas han estat anomenats inactivadors "suïcides" de β -lactamasas.

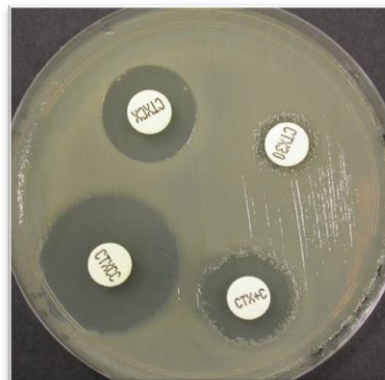
Associació de β -lactàmics amb inhibidors de β -lactamasas

Amb l'objectiu d'impedir l'acció de les β -lactamasas es va proposar la conveniència de l'associació dels antibiòtics β -lactàmics amb inhibidors de β -lactamasas en condicions especials, principalment quan es demostra la presència de bacteris resistents per la producció de β -lactamasas. Alguns exemples són els següents:

- Amoxicil·lina + àcid clavulànic
- Ticarcilina + àcid clavulànic
- Ampicil·lina + sulbactam

4.2.2 Càlcul de l'activitat antimicrobiana dels antibiòtics

L'activitat antimicrobiana dels antibiòtics es pot calcular fent proves de laboratori com ara amb el mètode de difusió en agar-agar, que consisteix a col·locar discos petits de paper impregnats de diferents antibiòtics en un cultiu homogeni en agar-agar d'un determinat bacteri. Al cap de poca estona s'observa un halo al voltant de cada disc, que indica l'efecte de l'antibiòtic en inhibir el creixement dels bacteris. El disc que tingui un halo d'inhibició amb un diàmetre més gran vol dir que conté l'antibiòtic més efectiu per combatre aquell bacteri (vegeu la il·lustració 13).



Il·lustració 13. Mètode de difusió amb discos



En la part pràctica d'aquest treball recorrem a aquesta tècnica per tal d'estudiar i crear soques bacterianes cada cop més resistents a determinats productes antibacterians (vegeu l'apartat 7).

4.2.3 Concentració inhibidora mínima

La concentració mínima d'antibiòtic que és capaç d'inhibir el creixement bacterià es calcula a través d'una altra prova anomenada tècnica de concentració en tubs. En aquesta prova es preparen solucions de concentracions creixents de l'antibiòtic en tubs d'assaig i posteriorment s'inocula en els tubs el bacteri que es vol provar. En els tubs amb una concentració petita d'antibiòtic els bacteris creixeran, cosa que es podrà observar per l'enterboliment del líquid. A partir d'una determinada concentració d'antibiòtic, els bacteris no creixeran i el líquid dels tubs es mantindrà transparent. La concentració mínima d'antibiòtic en la qual no creixen els bacteris s'anomena concentració inhibidora mínima.



5. Resistència bacteriana

L'avenç en la investigació i el desenvolupament d'antimicrobians s'ha vist afectat pel fet que els microorganismes, sobretot els bacteris, han desenvolupat mecanismes de resistència als agents antimicrobians.

Tot i que la situació actual de resistència als antimicrobians que presenten molts bacteris ens podria fer pensar que estem davant d'un fenomen relativament recent, si fem una visió a l'evolució de la microbiologia ens adonarem que el problema de la resistència bacteriana va aparèixer alhora que es descobria que determinades substàncies podien destruir els microorganismes. De fet, a finals del segle XIX ja es va observar que alguns microorganismes podien sobreviure en presència de dosis letals dels antimicrobians coneguts fins aleshores. Va ser el bacteriòleg alemany Paul Ehrlich qui va introduir el concepte d'organisme resistent l'any 1907 en observar com el paràsit *Trypanosoma brucei* desenvolupava resistència a la p-roseanilina.

Així doncs, els bacteris i la resta de microorganismes patògens han començat a mostrar un gran ingeni per evitar l'activitat eliminatòria dels agents antimicrobians. És el que coneixem com mecanismes de resistència.

5.1 Tipus de resistència als antibiòtics

Els bacteris han estat capaços de desenvolupar, bàsicament, dos tipus de resistència als antibiòtics:

- Resistència natural o primària
- Resistència adquirida

5.1.1 Resistència natural o primària

Els bacteris presenten una resistència natural a un antibiòtic determinat, ja sigui a causa de la impermeabilitat de la seva membrana, per la manca d'un sistema de transport de l'antibiòtic o per la desactivació de l'antibiòtic. És a dir, totes les soques d'una mateixa espècie poden simplement ser resistents a un antibiòtic, i de manera natural, perquè l'antibiòtic actua per un mecanisme d'acció que a elles no els afecta.

5.1.2 Resistència adquirida

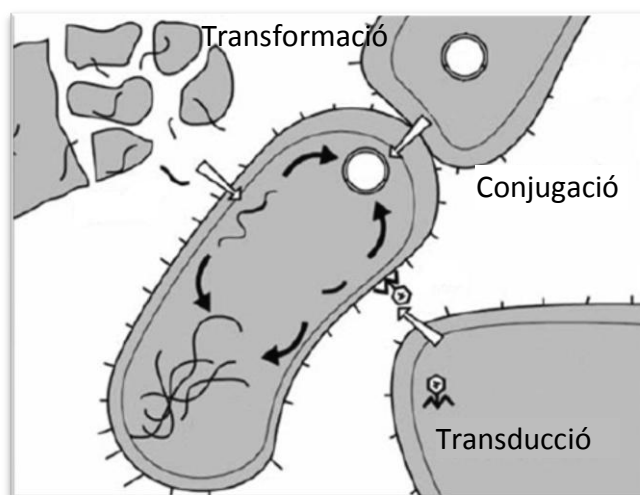
Pot haver-hi una mutació d'algun gen propi del bacteri en un determinat grup o soca d'una espècie que li confereixi un avantatge en el moment en què l'antibiòtic comença a utilitzar-se; o bé els bacteris poden tornar-se resistents a causa de l'adquisició de gens de resistència exògens. Aquest últim és el motiu majoritari de l'aparició de noves resistències i, encara pitjor, de multiresistències.



5.2 Adquisició de mecanismes de resistència

L'adquisició d'un mecanisme de resistència pot ser originada pel mateix microorganisme, com a conseqüència d'errors en la seva replicació (mutacions), o bé per l'adquisició de material genètic que codifiqui gens de resistència. En el primer cas, parlariem d'una difusió vertical, és a dir, les mutacions es transmetran de la cèl·lula mare a les cèl·lules filles. En aquest cas, una determinada resistència pot aparèixer en una sola generació, com és el cas de la resistència a la rifampicina, o bé en diverses generacions simultàniament, com en el cas de la resistència a fluoroquinolones. Les mutacions poden tenir lloc per substitució d'una base nitrogenada d'un nucleòtid, o bé per addició o pèrdua d'una o més bases. També poden ser conseqüència de la còpia de múltiples segments d'ADN, de la inserció o l'escissió d'un segment mòbil d'ADN que codifica o regula la seqüència d'un gen, o de la inversió d'un segment. La interacció de l'antibiòtic amb la seva diana sol ser específica, de manera que un simple canvi de base al gen, que provoqui un canvi d'aminoàcid a la proteïna codificada, pot alterar aquesta interacció entre antibiòtic i diana, i pot donar lloc a fenotips¹² resistents a aquest antibiòtic. L'adquisició de mecanismes de resistència per mutacions és bastant freqüent, i alguns exemples són la resistència a estreptomycin per mutació ribosòmica, a rifampicina per mutacions a l'enzim ARN-polimerasa, a fluoroquinolones a causa de mutacions a les topoisomerases i la resistència al linezolid per mutacions a l'ARN ribosòmic. A més, les mutacions també poden afectar els gens encarregats de regular els processos cel·lulars.

El segon cas, fa referència al conjunt de mecanismes d'adquisició de material genètic mitjançant els quals la resistència pot ser difosa d'una cèl·lula a una altra, que pot ser o no de la mateixa espècie, cosa que contribueix a la difusió horitzontal de la resistència als antimicrobians. La difusió horitzontal es pot donar per transformació, transducció i conjugació (vegeu la il·lustració 14).



Il·lustració 14. Mecanismes de resistència als antimicrobians

¹² Conjunt de caràcters visibles que un organisme presenta com a resultat de la interacció entre el seu genotip i el medi ambient (gènic, físic, hormonal, etc)



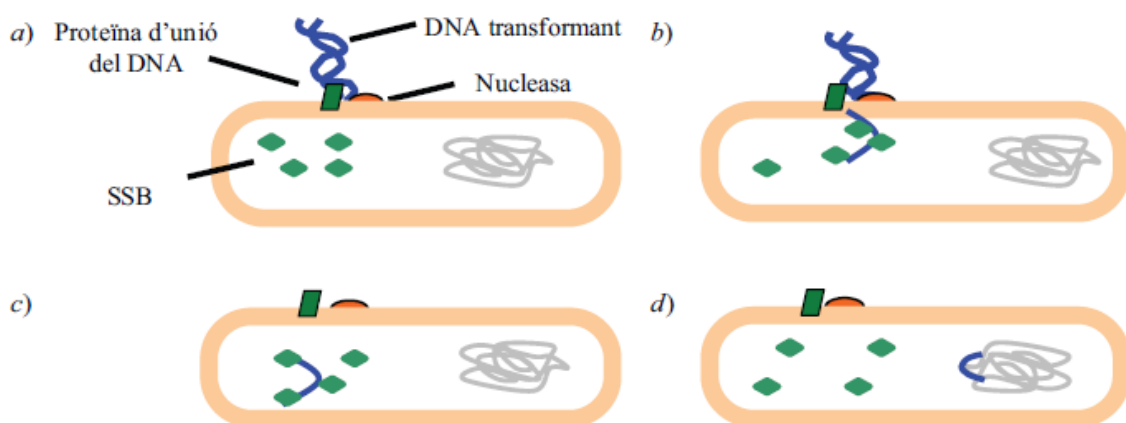
5.2.1 Transformació

La transformació natural és l'habilitat d'algunes espècies bacterianes d'absorbir, sota determinades circumstàncies, molècules d'ADN nu lliure de l'ambient, provinent d'un bacteri donant. Aquest ADN serà adquirit per un bacteri receptor, que s'anomena *transformant*, serà incorporat a la cèl·lula i, en expressar-se, podrà comportar un canvi fenotípic. Per tal que el material genètic s'incorpori al genoma bacterià, després de travessar la membrana citoplasmàtica, i pugui, per tant, comportar un canvi fenotípic, és necessari que existeixin regions de certa homologia entre el nou ADN incorporat per la cèl·lula i l'ADN del bacteri en qüestió. Si no existeix aquesta homologia, l'ADN incorporat serà degradat, mentre que si existeix homologia, el nou ADN podrà ser incorporat mitjançant un procés de recombinació.

Els mecanismes pels quals tenen lloc els fenòmens de transformació són variants. Perquè una cèl·lula pugui captar l'ADN nu ha de trobar-se en un estat de "competència"¹³. Aquest estat de "competència" pot ocórrer naturalment (competència fisiològica), o bé pot ser induït artificialment (competència artificial) per diferents mecanismes. En qualsevol cas, perquè la transformació tingui lloc és necessari disposar d'ADN lliure, principalment de doble cadena, que s'unirà a la cèl·lula mitjançant un receptor localitzat a la seva superfície.

La transformació pot dividir-se en diferents etapes, que són comunes a tots els bacteris (vegeu la il·lustració 15):

- Desenvolupament de la competència i unió de l'ADN provinent de la cèl·lula donant, a través d'un receptor localitzat a la superfície cel·lular.
- Processament i captació de l'ADN. Un cop fixat l'ADN de doble cadena a la cèl·lula, tenen lloc diversos processos que porten a la captació de només una de les dues cadenes.
- Les proteïnes específiques (SSB) s'uneixen i protegeixen l'ADN exogen monocatenari.



Il·lustració 15. Etapes del mecanisme de transformació

¹³ Estat transitori dels bacteris durant el qual la cèl·lula pot unir i introduir en el seu interior molècules foranes d'ADN, fent possible la transformació.



- d) Integració de l'ADN per recombinació i expressió. L'ADN transformant s'integra a l'ADN cel·lular en regions homòlogues mitjançant un procés anomenat *desplaçament de la cadena*, mitjançant el qual la cadena envaeix la doble hèlix i desplaça la cadena homòloga vella, que és degradada.

Són exemples d'adquisició de resistències en microorganismes per transformació la resistència a β -lactàmics, a quinolones i a la penicil·lina en el bacteri *S. pneumoniae* i la resistència a tetraciclina en *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum*.

5.2.2 Transducció

La transducció és el procés mitjançant el qual es transfereix a un bacteri un fragment d'ADN provinent d'una cèl·lula prèviament infectada. El procés de transferència és dut a terme per partícules víriques o bacteriòfags a les noves cèl·lules que seran infectades. Els bacteriòfags o fags implicats en la transducció reben el nom de *fags transductors* o *partícules transductures*. La soca bacteriana original en la qual aquests fags s'han multiplicat s'anomena *cèl·lula donant*, mentre que la soca bacteriana infectada s'anomena *cèl·lula receptora*. Finalment, les cèl·lules que han rebut l'ADN per transducció s'anomenen *transductants*.

Basant-se en el seu patró de reproducció, hi ha dos tipus de fags i, per tant, dos tipus de transducció. Alguns fags virulents (sempre maten les cèl·lules hostes) fan de mitjancers en la transducció generalitzada. Alguns fags temperats (poden estar passivament en els seus hostes sense fer-los cap mal) realitzen la transducció especialitzada, i també la generalitzada.

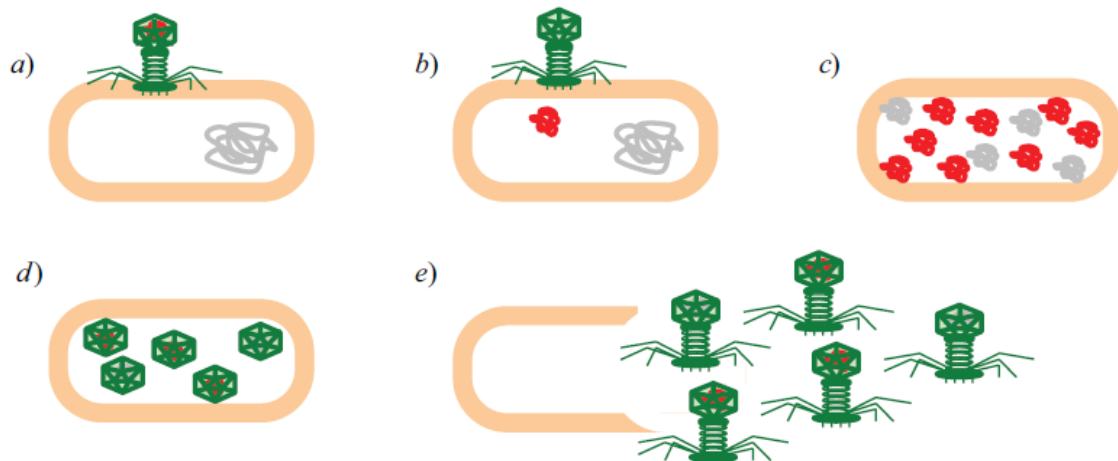
- **Transducció generalitzada.** Els fags virulents infecten els bacteris adherint-se ells mateixos a la superfície de la cèl·lula víctima i injectant-ne el seu ADN. L'ADN del fag, ara dins la cèl·lula bacteriana, fa que la cèl·lula infectada sintetitzi components del fag enlloc de seguir realitzant les seves funcions metabòliques normals. L'ADN del fag i les proteïnes fabricades per la cèl·lula infectada s'acoblen per formar partícules de fag que són, aleshores, alliberades. Finalment, els nous fags infecten altres cèl·lules. Pot passar, però, que en els passos finals del muntatge de la partícula de fag hi hagi un error (és molt poc freqüent, aproximadament passa 1 de cada 1000 vegades). Així, enlloc de muntar una partícula de fag que conté només ADN del fag, se'n munta una que conté també ADN bacterià. Quan aquesta és alliberada, pot unir-se a una altra cèl·lula bacteriana i injectar-li el seu ADN. La transducció que duen a terme els fags virulents s'anomena transducció generalitzada perquè qualsevol gen bacterià pot ser transferit d'una cèl·lula a una altra. Això és degut a que el segment és triat a l'atzar i té lloc l'empaquetament accidental d'una porció d'ADN bacterià en una partícula vírica normal.

El procés pel qual té lloc el mecanisme de transducció generalitzada (vegeu la il·lustració 16) consta de les fases següents:

- a) Fixació del fag a la cèl·lula.
- b) Injecció del material genètic víric.
- c) Degradació de l'ADN bacterià i replicació del genoma víric.



- d) Síntesi de les càpsides i empaquetament del material genètic bacterià i víric. El fag pot reconèixer seqüències semblants a l'ADN víric, i es produeix així l'encapsidació errònia d'ADN bacterià.
- e) Lisi cel·lular i alliberació de les noves partícules transductores víriques, les quals, tot i que tenen la totalitat de l'ADN bacterià, continuen sent capaces d'adherir-se a una nova cèl·lula i injectar aquest ADN. I si existeixen regions homòlogues, aquest ADN transductor pot ser incorporat al genoma de la cèl·lula receptora.



Il·lustració 16. Etapes del mecanisme de transducció generalitzada

- **Transducció especialitzada.** Els fags temperats tenen dos cicles de vida diferents. Un, el cicle lític, és com el cicle de vida dels fags virulents. L'altre, anomenat cicle lisogen, no mata la cèl·lula, sinó que en lloc de fer que la cèl·lula hoste fabriqui més partícules de fag, l'ADN del fag esdevé part del genoma de la cèl·lula hoste i en aquest estat s'anomena profag. Els profags d'alguns fags temperats existeixen com a plasmidis, mentre d'altres s'incorporen al cromosoma de la cèl·lula hoste.

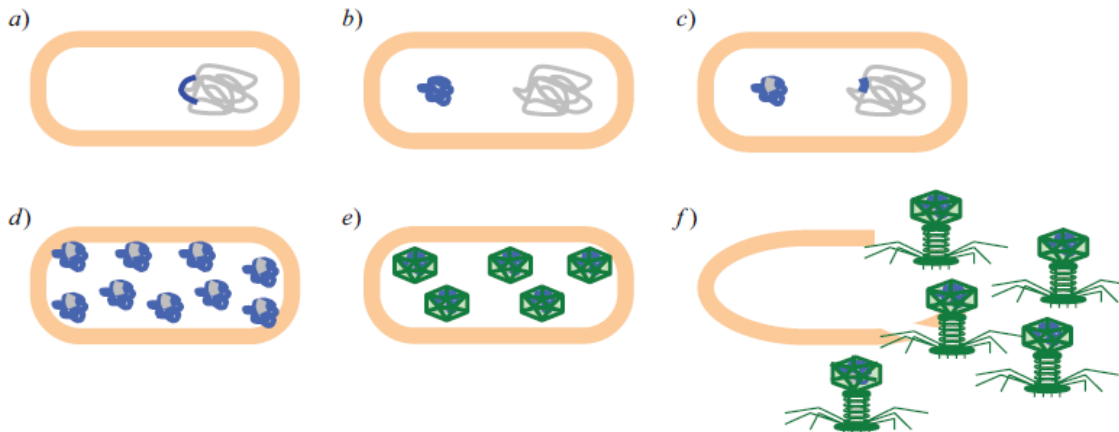
Aquest últim cas pot dur a terme la transducció especialitzada perquè els profags són ocasionalment reactivats i entren en un cicle lític en què es produeixen partícules de fag. Les partícules transductores especialitzades es formen quan es produeix un error durant la reactivació. En aquest cas, no és només el profag que deixa el cromosoma, sinó també uns quants gens bacterians. Quan la partícula transductora especialitzada s'enganxa a un altre bacteri hoste i li injecta el seu ADN, li injecta també els gens bacterians. Així, la transducció especialitzada es diferencia de la generalitzada en el fet que només poden transferir-se els gens adjacents a la regió on el fag s'integra al cromosoma bacterià.

El mecanisme de transducció especialitzada té lloc en diferents fases (vegeu la il·lustració 17), que són les següents:

- a) En la cèl·lula bacteriana, l'ADN del bacteriòfag es troba inserit dins de l'ADN bacterià.



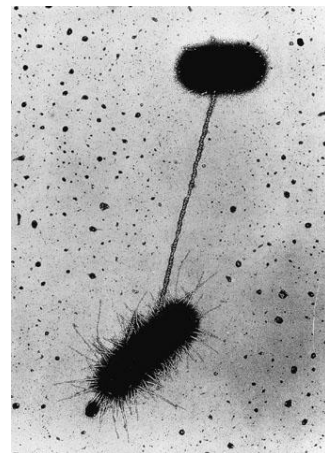
- b) Circulació i escissió de l'ADN del fag.
- c) Escissió anormal que produeix la pèrdua d'alguns gens del fag, que es mantenen inserits al cromosoma bacterià. En canvi, alguns gens bacterians s'han circularitzat juntament amb l'ADN del fag.
- d) Degradació de l'ADN bacterià i replicació del genoma víric.
- e) Síntesi de les càpsides i empaquetament del material genètic bacterià i víric.
- f) Lisi cel·lular i alliberació de les noves partícules víriques.



Il·lustració 17. Etapes del mecanisme de transducció especialitzada

5.2.3 Conjuguació

La conjugació és el procés de transferència de gens entre dues cèl·lules que estan en contacte (vegeu la il·lustració 18). Aquest tipus de transferència de gens és possible gràcies al fet que els bacteris poden ser portadors d'estructures genètiques anomenades *plasmidis*. Els plasmidis i el cromosoma bacterià constitueixen el que es coneix amb el nom de *genoma bacterià*. Els plasmidis són molècules circulars d'ADN de doble cadena, superenrotllades. Són material genètic accessori; és a dir, no codifiquen funcions essencials per a la cèl·lula, i la seva mida és variable (vegeu apartat 2.1.2.6). Els plasmidis es repliquen autònomament, independentment del cromosoma de la cèl·lula. Són els mateixos plasmidis els responsables del procés de conjugació; ells aporten els gens necessaris per sintetitzar el pili sexual¹⁴ o fímbria, així com altres gens que controlen el procés.



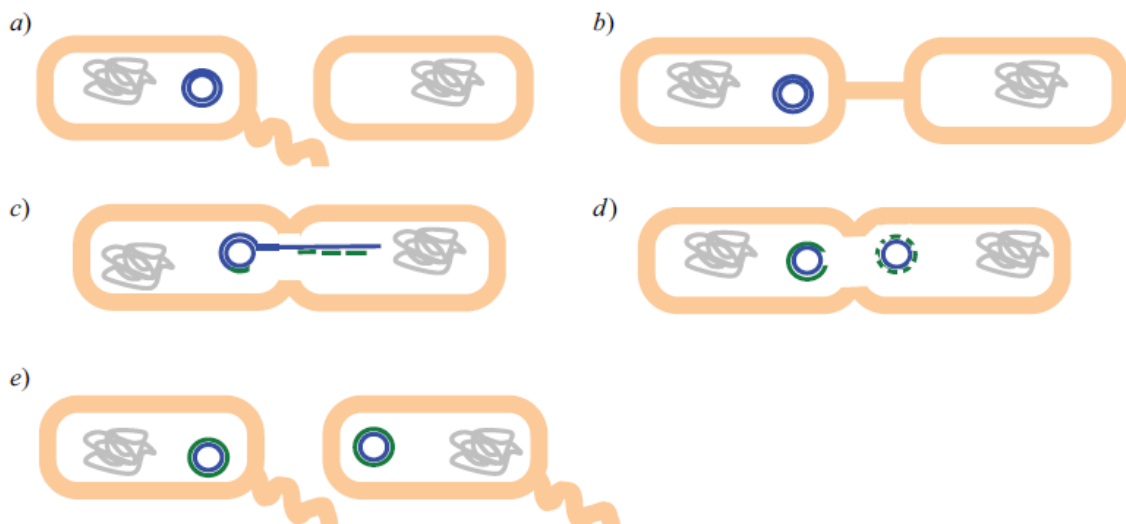
Il·lustració 18. Procés de conjugació

En el procés del mecanisme de conjugació (vegeu la il·lustració 19) distingim les etapes següents:

¹⁴ Estructura que connecta dos bacteris de la mateixa espècie o d'espècie diferent construint un pont entre els dos citoplasmes. Això permet la transferència de plasmidis entre els bacteris.



- Presència d'una cèl·lula conjugativa (F+), conté el factor F o plasmidi que codifica funcions de transferència conjugativa i que, per tant, té pili sexual, i cèl·lula no conjugativa (F-), que no conté el factor F i no té pili.
- Establiment del contacte entre les dues cèl·lules mitjançant el pili sexual. El procés de conjugació s'inicia precisament quan el pili sexual de la cèl·lula donant entra en contacte amb la membrana d'una cèl·lula receptora.
- Contracció del pili sexual i contacte cèl·lula-cèl·lula. El contacte cèl·lula-cèl·lula s'aconsegueix també amb el desacoblament del pili sexual. Formació d'un porus per on passa l'ADN de cadena senzilla des de la cèl·lula donant a la receptora.
- Síntesi de les cadenes d'ADN conjugatiu (línia contínua a la cèl·lula donant i discontinua a la receptora). Això significa que el plasmidi F es replica mitjançant un mecanisme de cercle rodant (es fa el buit a l'ADN bicatenari i es forma una forqueta de replicació on es produeix la replicació de l'ADN). En conseqüència, se sintetitza la cadena senzilla de l'ADN del plasmidi F, que entra a la cèl·lula F-.
- Segellament del porus i separació de les dues cèl·lules. Cadascuna conté una còpia del factor F i poden, per tant, sintetitzar el pili.



Il·lustració 19. Etapes del mecanisme de conjugació

5.3 Factors que intervenen en la resistència bacteriana

Aquests fets s'inscriuen en un context de reducció de les despeses sanitàries. Les infeccions greus són costoses a causa que s'han d'associar diversos tractaments, les hospitalitzacions són més llargues... Però, com s'ha arribat a un situació que es qualifica de crisi?

Més que les resistències en si, que és un fenomen inevitable que s'associa a l'evolució natural dels bacteris, és la rapidesa amb què s'expandeixen les multiresistències el que suscita més preocupació.



5.3.1 Augment de les poblacions immunodeprimides

S'ha vist afavorit per l'envelliment de la població: són nombroses les persones amb un sistema immunitari deprimat, i són més sensibles als bacteris del medi. L'epidèmia de la sida contribueix també a augmentar aquest nombre: han aparegut nous problemes infecciosos, de la mateixa manera que han reaparegut malalties que es consideraven eradicades. És el cas de la tuberculosi, causada per un bacil que ha passat a ser resistent en nombrosos països.

També als hospitals, degut als avenços terapèutics (cirurgia extensiva, tractaments oncològics i malalties hematològiques, transplantaments, etc.), són més nombrosos els pacients immunodeprimits. Això explica la major freqüència d'infeccions degudes a bacteris.

5.3.2 Prescripció exagerada

L'ús intensiu d'antibiòtics és la principal causa d'aparició de resistències. El fenomen de la prescripció exagerada existeix, però és difícil establir a quin nivell d'excés se situa, ja que com menys maligna sigui una malaltia, més difícil és el seu diagnòstic. No sempre és evident per al metge saber si una infecció és deguda a un virus, en el cas de la qual els antibiòtics són inútils, o a un bacteri.

La pressió dels malalts sobre el col·lectiu mèdic per obtenir receptes que incloguin un antibiòtic també és responsable, en part, de la prescripció exagerada i de l'evolució cap a les resistències.

5.3.3 Incompliment del tractament

La prescripció exagerada s'accentua pel seguiment incorrecte dels tractaments: interrompre la ingesta de l'antibiòtic massa aviat perquè han remès els símptomes, o prendre una dosi inferior a la descrita, és un bon mètode per seleccionar soques resistents a l'interior del nostre propi organisme.

5.3.4 Factors de creixement

Un altre factor que incideix en l'evolució dels bacteris cap a la resistència és l'ús d'antibiòtics en medicina veterinària i en alimentació animal. En aquest últim cas, s'administren dosis baixes durant períodes prolongats per obtenir un major guany de pes en els animals de granja i permeten reduir el cost de producció de la carn. Aquests suplementos, o factors de creixement, sovint són antibiòtics semblants a les molècules que s'utilitzen en tractaments humans.

5.4 Limitació de les resistències

5.4.1 Una prescripció raonada

La primera solució al problema de la resistència bacteriana és la prescripció raonada i més prudent dels antibiòtics, intentant almenys conservar els antibiòtics eficaços



actuals. La disponibilitat de proves de diagnòstic ràpid podria evitar l'ús d'antibiòtic per a infeccions víriques i permetria atacar els agents patògens amb medicaments específics. Tot i això, no hem d'esperar que els bacteris tornin a ser sensibles als antibiòtics per als quals ja han desenvolupat resistència.

5.4.2 Limitar la transmissió d'infeccions

Altres solucions es dirigeixen a evitar la transmissió d'infeccions, com per exemple mitjançant la millora de les mesures d'higiene als hospitals, el desenvolupament de noves vacunes...

5.4.3 Investigació sobre molècules noves

Tenim una necessitat urgent de nous antibiòtics. Tot i això, per tal que tinguin un caràcter vertaderament útil, aquests antibiòtics nous no han d'enfrontar-se als mecanismes de resistència que existeixen contra les molècules anteriors. Per tant, han d'actuar en nous punts en els bacteris.

Degut a l'extensió i la gravetat del problema, i per tant la possibilitat de beneficis, els laboratoris farmacèutics s'han tornat a mobilitzar. Han aparegut empreses de biotecnologia des de l'inici dels anys 90 que exploten les troballes més recents de la biologia molecular i de la fisiologia, i de les noves tecnologies, química combinatòria, robòtica, etc.

Malgrat tot, aquests plantejaments s'han desenvolupat recentment, i són necessaris entre deu i quinze anys per desenvolupar un nou antibiòtic.

5.4.4 Augment de la vigilància

És convenient vigilar la resistència als antibiòtics. En primer lloc, la vigilància permet actualitzar els espectres d'acció dels antibiòtics, és a dir, la seva probabilitat de ser actius contra una espècie o un gènere bacterià. Permet, igualment, la prevenció, o com a mínim el retràs, de l'evolució cap a la multirresistència gràcies a l'anàlisi dels factors responsables de la seva disseminació. Per últim, permet l'establiment de sistemes d'alerta i intervenció destinats a detectar l'aparició de nous mecanismes de resistència, al seguiment de la disseminació de caràcters de resistència coneguts a espècies que estaven mancats d'ells, i a la limitació de la seva dispersió.



6. Fonaments bàsics necessaris per a les pràctiques

6.1 El medi de cultiu

Per efectuar la part pràctica del treball necessitarem realitzar cultius bacterians que es duren a terme sobre uns substrats òptims per al desenvolupament bacterià. Els medis de cultiu bacterians són dissolucions aquoses que tenen sal minerals i nutrients orgànics (monosacàrids, àcids grassos, aminoàcids, àcids orgànics i bases nitrogenades, entre d'altres) que satisfan els requeriments d'elements químics que necessiten els bacteris per desenvolupar el metabolisme, créixer i reproduir-se.

Els medis de cultiu de bacteris es preparen en medi líquid en tubs d'assaig, als quals s'afegeix la mostra del bacteri que es vol cultivar; o bé en estat de gel (semisòlid), en càpsules de Petri. Els medis de cultiu semisòlids s'obtenen quan s'afegeix al medi de cultiu líquid una substància gelificant com ara l'agar-agar, que s'obté d'algues marines.

El desenvolupament d'un microorganisme en un medi de cultiu depèn de diversos factors. Els més importants són:

- La disponibilitat dels elements nutritius necessaris
- L'existència de l'oxigen requerit
- Un grau d'humitat apropiat
- Uns valors de pH adequats: normalment neutre o lleugerament alcalí (7,2 – 7,4)
- Una temperatura d'incubació precisa: 35-37°C per a la majoria de bacteris
- Condicions d'esterilitat del medi i protecció de possibles contaminacions

Els bacteris es desenvolupen als medis de cultiu formant agrupacions de milions de cèl·lules o poblacions bacterianes. En els medis líquids els bacteris posseeixen una gran llibertat de moviment i es disposen en funció de les seves necessitats nutritives i dels requeriments d'oxigen: les aeròbies creixen als primers 10-15 mm de la superfície del medi, les anaeròbies estrictes als 10-20 mm del fons i les anaeròbies facultatives enterboleixen tot el medi. En canvi, en els medis sòlids els bacteris creixen formant colònies. Cada colònia procedeix generalment d'un únic bacteri i és el resultat de l'agrupació massiva de la seva descendència. El temps que triga a formar-se una colònia pot variar i depèn de cada espècie, però en la majoria de bacteris és de 18-24 hores.

Les colònies presenten característiques molt variades pel que fa a la mida, la morfologia, la consistència, la textura i el color. Això constitueix un element important per a la seva identificació.



6.1.1 Preparació del medi de cultiu

Els medis de cultiu que utilitzarem per a la nostra pràctica són el brou nutritiu i l'agar nutritiu.

1. **Brou nutritiu:** és un medi líquid complex d'ús general per al cultiu de bacteris.

Ingredients	(g/L)
Peptona de caseïna	5,0
NaCl	8,0
Extracte de carn	3,0
pH	6,5-7,0

- Dissoldre cuidadosament els ingredients en aigua destil·lada estèril en l'ordre indicat.
- Ajustar el pH amb les solucions tampó de NaOH i HCl.
- Distribuir en tubs d'assaig amb tap de rosca.
- Esterilitzar a l'autoclau¹⁵ a 121°C durant 15 minuts.

2. **Agar nutritiu:** és un medi sòlid complex d'ús general per al cultiu de bacteris exigents.

Ingredients	(g/L)
Peptona de caseïna	5,0
NaCl	8,0
Extracte de carn	3,0
Agar	15,0
pH	6,5-7,0

- Dissoldre cuidadosament els ingredients en aigua destil·lada estèril en l'ordre indicat, excepte l'agar.
- Ajustar el pH amb les solucions tampó de NaOH i HCl.
- Afegir l'agar i escalfar fins que arribi a ebullició durant 1 minut.
- Esterilitzar a l'autoclau a 121°C durant 15 minuts.
- Distribuir el medi en volums de 25 ml en càpsules de Petri en condicions asèptiques.

¹⁵ Dispositiu que serveix per esterilitzar material mèdic o de laboratori. Utilitza vapor d'aigua a alta pressió i temperatura, evitant amb les altes pressions que l'aigua arribi a bullir. Els autoclaus funcionen permetent l'entrada o generació de vapor d'aigua però restringint la seva sortida, fins a obtenir una pressió interna de 103 kPa, la qual cosa provoca que el vapor arribi a una temperatura de 121°C. Un temps típic d'esterilització a aquesta temperatura i pressió és de 15-20 minuts.



6.2 Característiques dels bacteris utilitzats

6.2.1 *Staphylococcus epidermidis*

6.2.1.1 Classificació científica

Regne:	<i>Eubacteria</i>
Fílum:	<i>Firmicutes</i>
Classe:	<i>Cocci</i>
Ordre:	<i>Bacillales</i>
Família:	<i>Staphylococcaceae</i>
Gènere:	<i>Staphylococcus</i>
Espècie:	<i>S. epidermidis</i>

6.2.1.2 Característiques del gènere *Staphylococcus*

Reconeguts per primera vegada per Koch l'any 1878, descrits i cultivats per Pasteur al 1880, els estafilococs són cocs o bacteris en forma de gra que s'agrupen en raïms, fet del qual deriva el seu nom. Són grampositius, no formen espores, pilis ni flagels; algunes soques poden formar càpsula en condicions especials i són aerobis o anaerobis facultatius. El gènere *Staphylococcus* comprèn actualment 32 espècies i 15 subespècies; les espècies més importants des del punt de vista mèdic són: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* i *S. saprophyticus*.

Staphylococcus aureus és, des del punt de vista de la medicina, el bacteri més important d'aquest gènere que, a diferència de les altres espècies, produeix coagulasa. La coagulasa és una proteïna capaç de coagular el plasma. *S. epidermidis* pot infectar la pell, les mucoses i les ferides, i *S. saprophyticus* habita i infecta les vies urinàries.

6.2.1.3 Hàbitat

Els estafilococs estan molt difosos per la naturalesa, la pell de l'home i de diverses espècies animals. Es troben a les superfícies dels objectes, a l'aire, al terra, a l'aigua, a la llet...

6.2.1.4 Patologia

S. aureus és el patògen que es coneix des de fa més temps, però actualment s'ha comprovat que *S. epidermidis* pot infectar la pell, les mucoses i les ferides, i que *S. saprophyticus* és el responsable de moltes infeccions a les vies urinàries. Com que aquests bacteris poden colonitzar i infectar molts teixits de l'organisme, poden produir malalties com la cel·lulitis i els abscessos en teixits tous; otitis i faringitis en el cas de l'aparell respiratori; a les vies urinàries poden causar cistitis o nefritis; al locomotor, osteomielitis, artritis...



6.2.1.5 Característiques dels cultius

El cultiu en agar nutritiu de *Staphylococcus* origina colònies rodones, d'1 a 3 mm de diàmetre, convexes, de color blanc o amb una coloració lleugerament esgrogueïda. Generalment, les de color groc corresponen a *S. aureus*. Les colònies blanquinoses poden correspondre a altres espècies, com és el cas de *S. epidermidis* i *S. saprophyctus*, que són les que més habitualment es troben en l'home. La característica principal que permet distingir entre tots dos tipus bacteris radica en la mida de les colònies; *S. epidermidis* s'aïlla amb colònies petites i convexes, i *S. saprophyctus* desenvolupa colònies grans, llises i opaques.

6.2.1.6 Tractament

Els antimicrobians que s'utilitzen per combatre les infeccions causades per aquests bacteris són: dicloxacil·lina, cefalosporines de primera generació, fosfomicina, eritromicina i altres macròlids, vancomicina, teicoplanina, linesolid (oxizolidinones) i ketòlids. A més, poden associar-se aminoglucòsids com amikacina i netilmicina, amb el que s'aconsegueix sinergia¹⁶. Moltes de les lesions en teixits tous requereixen, a més del tractament antimicrobià, intervencions quirúrgiques per al drenatge del material purulent.

6.2.1.7 Bacteris del gènere *Staphylococcus*

Microorganisme	Origen històric
<i>Staphylococcus</i>	<i>staphylé</i> , raïm; <i>coccus</i> , gra o baia
<i>S. aureus</i>	<i>aureus</i> , daurat o groguenc
<i>S. epidermidis</i>	<i>epidermidis</i> , porció externa de la pell o de l'epidermis
<i>S. lugdunensis</i>	<i>Lugdunum</i> , denominació llatina de Lyon, França, on es va aïllar per primer cop aquest microorganisme
<i>S. saprophyticus</i>	<i>sapros</i> , putrefacte; <i>phyton</i> , planta (sapròfit o que es desenvolupa en teixits morts)

¹⁶ Associació o cooperació de moviments, d'actes, d'òrgans, de formacions anatòmiques, etc., per tal de dur a terme una funció determinada.



6.2.2 *Bacillus cereus*

6.2.2.1 Classificació científica

Regne:	<i>Eubacteria</i>
Fílum:	<i>Firmicutes</i>
Classe:	<i>Bacilli</i>
Ordre:	<i>Bacillales</i>
Família:	<i>Bacillaceae</i>
Gènere:	<i>Bacillus</i>
Espècie:	<i>B. cereus</i>

6.2.2.2 Característiques del gènere *Bacillus*

El gènere *Bacillus* consta de bacils grampositius aerobis o anaerobis facultatius que es caracteritzen pel fet que produeixen espores. Les espècies patògenes de més importància en medicina humana són *B. anthracis* i *B. cereus*. La resta de microorganismes del gènere *Bacillus* són bacteris patògens oportunistes que rarament infecten l'home i tenen una capacitat de virulència relativament baixa.

A diferència de la resta d'espècies del gènere, *B. anthracis* és un bacil immòbil i es troba encapsulat, i és de mida gran; mesura entre 1 i 6 µm de llargada. Les espores que genera són molt resistents a la temperatura i als desinfectants químics.

B. cereus, en canvi, és de menor grandària i presenta mobilitat.

6.2.2.3 Hàbitat

Els bacteris del gènere *Bacillus* són microorganismes ubics, és a dir, es troben presents en pràcticament tots els ambients. Gairebé totes les infeccions s'originen a partir d'una font ambiental, com la terra contaminada, ja que les espores persisteixen al sòl i són consumides pels animals. Així doncs, les principals fonts d'infecció humana solen ser els cereals mal cuinats i els animals i els seus derivats (llet i formatge).

6.2.2.4 Patologia

B. anthracis, l'espècie més virulenta per a l'ésser humà, és l'agent que provoca el carboncle. El carboncle és una malaltia devastadora que rarament apareix als països desenvolupats. Tot i que l'espècie *B. cereus* pot causar infeccions greus, la virulència relativa d'aquesta i de la resta d'espècies de *Bacillus* és trivial si se la compara amb la de *B. anthracis*. *B. cereus* pot causar intoxicació per la ingesta d'aliments (gastroenteritis i diarees) o infeccions oculars greus secundàries a traumatismes, l'ús d'agulles contaminades pel consum de drogues intravenoses o inoculació ocular amb pols o partícules contaminades.



6.2.2.5 Característiques dels cultius

Les característiques dels cultius habituals no permeten diferenciar *B. anthracis* de les soques de *B. cereus* amb facilitat. Tot i això, les soques més virulentes de *B. anthracis* presenten són els únics bacteris que presenten colònies rugoses. *B. cereus* produeix, de la mateixa manera que *B. anthracis*, colònies grans, blanquinoses i elevades, amb l'única diferència que presenten les vores llises, però també poden produir colònies més petites.

6.2.2.6 Tractament

Degut a que l'evolució de la gastroenteritis per *B. cereus* és de curta durada i està mancada de complicacions, el tractament simptomàtic és adequat. La resta d'infeccions per *Bacillus* requereixen un tractament més complicat a causa de la seva evolució ràpida i progressiva i per l'alta resistència als fàrmacs d'aquest bacteri (per exemple, *Bacillus cereus* ha adquirit gens de resistència a les penicil·lines i a les cefalosporines). Així doncs, els antimicrobians que poden ser utilitzats en aquestes infeccions són la vancomicina, la clindamicina, el ciprofloxacín i la gentamicina. En canvi, les penicil·lines i les cefalosporines no són efectives.

6.2.2.7 Bacteris del gènere *Bacillus*

Microorganisme	Origen històric
<i>Bacillus</i>	<i>bacillum</i> , corró petit
<i>B. anthracis</i>	<i>anthrax</i> , carbó (en referència a la ferida necròtica negra associada al carboncle ¹⁷ cutani)
<i>B. cereus</i>	<i>cereus</i> , de cera, del color de la cera (en referència a les colònies amb una superfície mate o de cristall gelat)

¹⁷ Malaltia infecciosa produïda pel bacteri *Bacillus anthracis* que afecta especialment els bovins i els ovins, però que també es pot transmetre a l'ésser humà. També és anomenat àntrax maligne.



6.2.3 *Escherichia coli*

6.2.3.1 Classificació científica

Regne:	<i>Eubacteria</i>
Fílum:	<i>Proteobacteria</i>
Classe:	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre:	<i>Enterobacteriales</i>
Família:	<i>Enterobacteriaceae</i>
Gènere:	<i>Escherichia</i>
Espècie:	<i>E. coli</i>

6.2.3.2 Característiques de l'espècie *Escherichia coli*

El gènere *Escherichia* està format per dues espècies: *E. coli* i *E. hermannii*. Aquesta última correspon a un grup de bacteris estretament relacionats entre si i que molt poques vegades originen infeccions humanes.

De la mateixa manera que la resta de membres de la família *Enterobacteriaceae*, el gènere *Escherichia* està format per bacteris gramnegatius d'entre 1 i 6µm. Concretament, *E. coli* és un bacil gramnegatiu, amb una única cadena d'ADN en forma d'espiral, mòbil, aerobi i anaerobi facultatiu i que presenta diversos flagels peritrics (envolten el bacteri). La majoria forma fimbries i pilis, moltes soques produeixen una petita microcàpsula, i molt poques elaboren macrocàpsula, i no fabriquen espores. El genoma de *Escherichia coli* conté un total de 5.000 gens.

6.2.3.3 Hàbitat

Escherichia coli és el bacteri que més habitualment es troba a les matèries fecals de l'home i de moltes espècies animals. Forma part de la flora nativa intestinal i actua com a saprobi¹⁸ sense causar-li danys a l'home; al contrari, moltes soques d'*E. coli* produeixen substàncies que són útils a l'hoste, com les colícines, que actuen inhibint altres soques potencialment patògenes, de manera que la colonització de l'intestí resulta beneficiosa per a l'hoste. Ara bé, existeixen algunes soques d'*Escherichia coli* que són patògenes i que originen infeccions que poden estar limitades a les mucoses intestinals o bé disseminar-se. Poden causar infeccions a les vies urinàries, meningitis, malalties diarreiques...

6.2.3.4 Patologia

Les infeccions intestinals i extraintestinals causades per *Escherichia coli* poden arribar a ser greus. És el cas de les infeccions de l'aparell excretor, la cistitis, la meningitis, la peritonitis, la mastitis, la septicèmia i la pneumònia.

¹⁸ Dit de l'organisme que es desenvolupa sobre un ésser orgànic mort o sobre substàncies orgàniques.



Generalment, aquest bacteri acostuma a causar diarrea lleu en humans i en altres animals, però algunes soques poden causar diarrees hemorràgiques de gran agressivitat i toxicitat i fins i tot poden arribar a causar la mort. Acostuma a afectar a nens d'entre 1 i 8 anys i generalment les infeccions són a causa de la contaminació d'aliments i la seva posterior ingesta en mala cocció.

6.2.3.5 Característiques dels cultius

Les colònies d'*Escherichia coli* en agar nutritiu són petites i rodones i presenten un aspecte semitransparent de color blanquinós amb una superfície llisa i les bores filamentoses.

6.2.3.6 Tractament

L'ús d'antibiòtics per combatre les infeccions causades per l'*E. coli* és poc eficaç i gairebé no és prescriu. Tot i això, els antibiòtics de probable eficàcia són el meropenem, la gentamicina, el ciprofloxacina, la cefalosporina de tercera generació, i també el cotrimoxazole i la timentina. Això no obstant, cal tenir en compte les diverses soques i les resistències antimicrobianes, que s'estan convertint en un problema creixent en el tractament de les infeccions.

6.2.3.7 Bacteris del gènere *Escherichia*

Microorganisme	Origen històric
<i>Escherichia</i>	Escherich, en referència a Theodore von Escherich, bacteriòleg alemany que va descriure el bacteri per primer cop l'any 1885
<i>E. coli</i>	<i>kol(on)</i> , còlon (en referència a la zona de l'intestí gros on habita)
<i>E. hermannii</i>	

6.2.3.8 Brot epidèmic d'Alemanya 2011

Un gran brot epidèmic va sorgir a Alemanya el maig de 2011 produït pel serotip enterohemorràgic *Escherichia coli* O104:H4. Es van registrar un total de 3255 casos, segons l'Organització Mundial de la Salut (OMS), amb 33 morts. Després de dies d'investigació, van sorgir indicis que el brot podia haver sorgit en una explotació alemanya de brots de soja, però finalment es va descartar com a focus de la intoxicació. Tot i això, el govern alemany va senyalar en un principi a Espanya com a origen dels productes vegetals implicats en la intoxicació alimentària, donant dos fonts



de producció de cogombres a Màlaga i Almeria. Holanda va ser un altre país suggerit com a lloc d'origen de l'epidèmia. Després de l'anàlisi dels pacients, van ser descartats els orígens espanyol i holandès. Actualment es desconeix l'origen del bacteri en tota la cadena fins al consumidor, des de la producció i el transport fins a la distribució, per la qual cosa no es pot descartar la manipulació dels productes a Alemanya, que ha estat senyalada com el país d'origen de la intoxicació ja que va afectar viatgers que havien tocat terra alemany.

La soca del bacteri *E. coli* apareguda a Alemanya és resistent a vuit tipus diferents d'antibiòtics segons un equip d'investigadors xinesos que han aconseguit seqüenciar el genoma del microorganisme. Els investigadors de l'Institut de Genòmica de Pekín (BGI) han descartat antibiòtics com la penicil·lina, les sulfamides, la cefalotina o l'estreptomicina com a possible solució de la malaltia degut als gens que el fan resistent.

6.3 Característiques dels tractaments utilitzats

En la primera experiència

6.3.1 Eritromicina

Antiinfecciosos per a ús sistèmic > Antibacterians per a ús sistèmic > Macròlids, lincosamides i estreptogramines > Macròlids

- Activitat bacteriostàtica (pot arribar a ser bactericida a concentracions elevades o contra organismes altament susceptibles)
- Ampli espectre
- Amb activitat contra bacteris Gram positius i negatius i altres agents infecciosos.

6.3.1.1 Mecanisme d'acció

L'eritromicina és capaç de penetrar la membrana cel·lular i unir-se de forma reversible a la subunitat 50S del ribosoma bacterià. No inhibeix directament la formació de pèptids, sinó que inhibeix la translocació dels pèptids des del lloc receptor del ribosoma fins al lloc donador, inhibint conseqüentment la síntesis de proteïnes.

L'eritromicina només és activa contra microorganismes que s'estan dividint activament.

6.3.1.2 Indicacions terapèutiques

L'eritromicina està indicada per al tractament d'infeccions bacterianes com les següents:

- Infeccions de l'aparell respiratori superior i inferior, com ara otitis mitjana, faringitis i pneumònia, lleu o moderada.
- Infeccions de la pell i teixits tous



- Infeccions de l'aparell digestiu com l'enterocolitis, l'amebiasi intestinal i la diarrea greu i prolongada
- Profilaxis d'endocarditis bacteriana
- Malalties de transmissió sexual com la uretritis
- Infeccions en nadons com són la conjuntivitis del recent nascut i la pneumònia en la infància

6.3.2 Ketoconazol

Antiinfecciosos per a ús sistèmic > Antimicòtics d'ús sistèmic > Antimicòtics d'ús sistèmic > Derivats de l'imidazol

- Fungicida o fungistàtic
- Amb activitat enfront de dermatòfits, llevats, fongs dimorfs i eumicets.

6.3.2.1 Mecanisme d'acció

El ketoconazol és un antimicòtic que actua inhibint la biosíntesis de l'ergosterol en fongs i alterant la composició d'altres components lipídics de la membrana cel·lular del microorganisme.

6.3.2.2 Indicacions terapèutiques

El ketoconazol està indicat per al tractament de les següents infeccions produïdes per fongs:

- Infeccions de la pell, el cabell i les ungles, produïdes per dermatòfits o llevats, sempre que no puguin ser tractades localment
- Infeccions del tracte gastrointestinal produïdes per llevats
- Candidiasi vaginal recurrent, en els casos crònics, quan no responen al tractament local
- Infeccions micòtiques sistèmiques
- Profilaxis d'infeccions per fongs en pacients immunocompromesos (per herència, per malaltia o per fàrmacs), amb major risc davant aquest tipus d'infeccions

En la segona experiència

6.3.3 Amoxicil·lina + àcid clavulànic

Antiinfecciosos per a ús sistèmic > Antibacterians per a ús sistèmic > Antibacterians β -lactàmics, penicil·lines > Associacions de penicil·lines, incl. inhibidors de la β -lactamasa

- Bactericida
- Ampli espectre
- Comprèn bacteris grampositius i gramnegatius com l'*Escherichia coli* i altres soques de gran diversitat



6.3.3.1 Mecanisme d'acció

L'amoxicil·lina és una penicil·lina semisintètica (antibiòtic β -lactàmic) que inhibeix un o més enzims (sovint coneguts com a proteïnes d'unió a les penicil·lines, PBPs) en la ruta biosintètica del pèptidglicà bacterià, que és un component estructural que forma part de la paret cel·lular bacteriana. La inhibició de la síntesis del pèptidglicà produeix un debilitament de la paret cel·lular, que normalment va seguit per la lisis cel·lular i la mort.

L'amoxicil·lina és sensible a la degradació per les β -lactamases produïdes per bacteris resistents i, per tant, l'espectre d'activitat de l'amoxicil·lina sola no inclou microorganismes productors d'aquests enzims.

L'àcid clavulànic és un antibiòtic β -lactàmic estructuralment relacionat amb les penicil·lines. Inactiva alguns enzims β -lactamases i prevé la inactivació de l'amoxicil·lina. L'àcid clavulànic per sí mateix no exerceix cap efecte antibacterià útil a la pràctica clínica.

6.3.3.2 Indicacions terapèutiques

Amoxicil·lina/Àcid clavulànic està indicat per al tractament a curt termini d'infeccions bacterianes causades per soques resistents a amoxicil·lina productores de β -lactamases:

- Sinusitis bacteriana aguda
- Otitis mitjana aguda
- Exacerbació aguda de bronquitis crònica
- Pneumònia adquirida en la comunitat
- Cistitis
- Pielonefritis
- Infeccions de pell i teixits tous, en particular cel·lulitis, mossegades d'animals i abscessos dentals severs amb cel·lulitis disseminada
- Infeccions d'ossos i articulacions, en particular osteomielitis

6.3.4 Azitromicina

Antiinfecciosos per a ús sistèmic > Antibacterians per a ús sistèmic > Macròlids, lincosamides i estreptogramines > Macròlids

- Acció bacteriostàtica (pot tenir acció bactericida depenent de l'espècie bacteriana sobre la que actua i de la concentració)
- Espectre reduït
- Actua sobre bacteris grampositius (també és actiu enfront d'alguns gramnegatius)



6.3.4.1 Mecanisme d'acció

L'azitromicina és un antibiòtic azàlic que actua inhibint la síntesis de les proteïnes bacterianes a causa de la seva unió a la subunitat 50S del ribosoma i inhibint la translocació dels pèptids.

Com que no presenta anell β -lactàmic en la seva estructura, es tracta d'un antibacterià que resulta actiu contra les soques de microorganismes productors de β -lactamases.

6.3.4.2 Indicacions terapèutiques

L'azitromicina està indicada per al tractament de les següents infeccions causades per gèrmens sensibles:

- Infeccions de l'aparell respiratori superior i inferior, com ara otitis mitjana, sinusitis, faringoamigdalitis, bronquitis i pneumònia
- Infeccions de la pell i teixits tous
- Malalties de transmissió sexual com són la uretritis i la cervicitis no complicades i el cancroide

6.3.5 Alcohol etílic

Dermatològics > Antisèptics i desinfectants

6.3.5.1 Mecanisme d'acció

Antisèptic actiu enfront de bacteris.

6.3.5.2 Indicacions terapèutiques

L'alcohol etílic està indicat per a la desinfecció de la pell, prèvia a injeccions o intervencions petites.

6.4 Tinció diferencial

6.4.1 La tinció de Gram

Es tracta d'un procés que no tenyeix igualment totes les cèl·lules. Rep el nom de tinció de Gram en referència al bacteriòleg danès Christian Gram, qui va desenvolupar aquesta tècnica l'any 1884. Segons la seva reacció davant la tinció de Gram, els bacteris poden dividir-se en dos grups: grampositius i gramnegatius. Degut a la seva importància en la taxonomia bacteriana i a que indica diferències fonamentals de la paret cel·lular de diferents bacteris (vegeu l'apartat 2.1.2.2), descriurem amb alguns detalls la tinció de Gram.



6.4.1.1 Objectius

1. Analitzar el procés de tinció de Gram
2. Realitzar el procés de tinció de Gram
3. Interpretar els resultats de la tinció de Gram i classificar les espècies bacterianes en grampositives o gramnegatives d'acord amb els resultats obtinguts.
4. Comprendre la importància que tenen aquest tipus de tincions diferencials en la caracterització i la identificació dels bacteris.

6.4.1.2 Material

1. Biològic
 - Cultius bacterians:
 - *Staphylococcus epidermidis*
 - *Bacillus cereus*
 - *Escherichia coli*
2. Reactius
 - Cristall violeta
 - Lugol
 - Alcohol o acetona
 - Safranina
 - Aigua
3. Equipament
 - 3 portaobjectes
 - 3 cobreobjectes
 - Comptagotes
 - Nansa bacteriològica
 - Encenedor d'alcohol
 - Reixeta de tinció
 - Paper de filtre
 - Microscopi òptic
 - Oli d'immersió

6.4.1.3 Procediment

1. Processament de la mostra
 - 1.1 Col·locar una petita gota d'aigua al centre d'un portaobjectes net i degudament etiquetat. És necessita una quantitat molt petita d'aigua, de manera que es pot utilitzar un comptagotes.
 - 1.2 Esterilitzar l'ansa de sembra bacteriològica passant-la per la flama i, a continuació, agafar una petita quantitat de cultiu bacterià en medi sòlid d'una placa de Petri i transferir-lo a la gota d'aigua. Remoure la mescla amb



l'ansa de sembra per tal de distribuir homogèniament el contingut pel portaobjectes sense dispersar-lo molt i deixar-lo molt compacte.

- 1.3 Repetir el procés per a les dues mostres bacteriològiques restants i procedir a la fixació de les mostres o frotis.
- 1.4 Per a fixar la mostra al portaobjectes s'utilitza el procés de flameig, que consisteix en apropar el portaobjectes a la flama de l'encenedor per a que s'evapori l'aigua. Cal anar amb precaució i no escalfar excessivament el portaobjectes perquè les cèl·lules poden deformar-se o trencar-se.

2. Tinció de Gram

- 2.1 Cobrir completament els portaobjectes fixats amb la mostra del cultiu amb cristall violeta durant 1 minut. A continuació, rentar amb aigua abundant per eliminar l'excés de colorant. Aquesta operació es realitza inclinant el portaobjectes i abocant l'aigua a la part superior de manera que llisqui per sobre del frotis.
- 2.2 Després d'escórrer els portaobjectes, es procedeix a cobrir-los completament amb solució de Lugol durant un minut i, novament, s'elimina l'excés amb abundant aigua.
- 2.3 A continuació, es cobreixen els portaobjectes amb alcohol o acetona durant 10 segons i es renten amb aigua abundant.
- 2.4 Finalment es tenyeixen les mostres dels portaobjectes amb colorant de safranina, es deixa actuar 1 minut i es retira l'excés amb aigua.
- 2.5 Eixugar els portaobjectes pressionant entre dos trossos de paper de filtre, però amb cura de no fregar les mostres.
- 2.6 Cobrir les mostres amb el cobreobjectes i observar les preparacions al microscopi òptic. Cal començar amb l'objectiu de menor augment i ampliar la visió fins arribar al màxim augment desitjat.

Per tal d'augmentar la nitidesa de la imatge, es pot aplicar un gota d'oli d'immersió sobre el cobreobjectes.

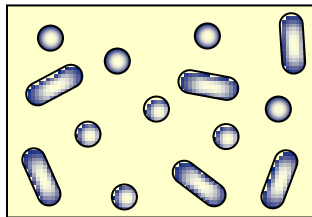
6.4.1.4 Interpretació

Les cèl·lules fixades amb calor sobre un portaobjectes es tenyeixen primer amb un solució de cristall violeta i es renten després per treure l'excés de colorant. En aquest estat, totes les cèl·lules, tant les grampositives com les gramnegatives, estan tenyides de blau. El portaobjectes es cobreix llavors amb un solució de iode-iodur potàssic (I_2 -KI), anomenada solució de Lugol. L'ingredient actiu d'aquesta solució és el I_2 ; el KI simplement fa soluble el I_2 en aigua. El I_2 entra a les cèl·lules i forma un complex insoluble en aigua amb el cristall de violeta. Novament, tant les cèl·lules grampositives com les gramnegatives es troben en la mateixa situació. Es realitza després la decoloració, utilitzant alcohol o bé acetona, substàncies en les quals és soluble el complex I_2 -cristall de violeta. Alguns organismes (grampositius) no es descoloriran, mentre que altres (gramnegatius), sí. La diferència essencial entre



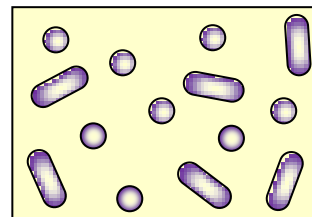
aquests dos tipus de cèl·lules està per tant en la seva resistència a la decoloració. Després de la decoloració les cèl·lules grampositives encara són blaves (o violeta molt fosc), però les gramnegatives són incolores. Per posar de manifest les cèl·lules gramnegatives s'utilitza una solució de contrast. Habitualment és un colorant de color roig, com la safranina o la fucsina bàsica. Després de la coloració de contrast les cèl·lules gramnegatives són roges, mentre que les grampositives resten blaves o porpra.

1. Cristall violeta (1 min), eliminació de l'excés i rentat



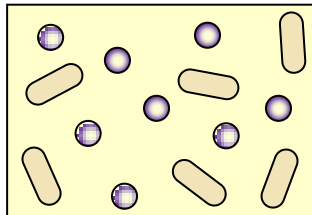
Tot violeta

2. Lugol (1 min), eliminació de l'excés i rentat



Tot violeta. El iode actua com a mordent que reforça la tinció

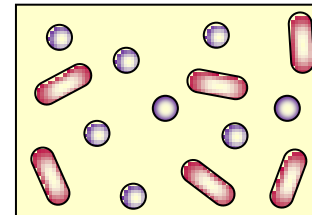
3. Decoloració amb alcohol o acetona i rentat amb aigua



Cocs Gram + → violeta

Bacils Gram - → sense color

4. Safranina (1 min), eliminació de l'excés, rentat i assecat

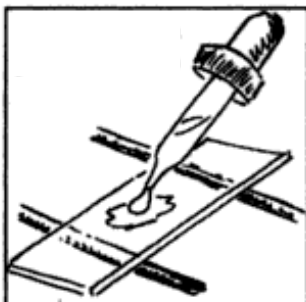


Cocs Gram + → violeta

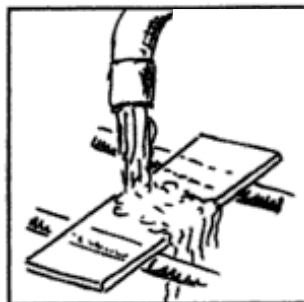
Bacils Gram - → rosat

Il·lustració 20. Representació de la coloració de bacteris gram+ i gram- en les diferents fases de la tinció de Gram

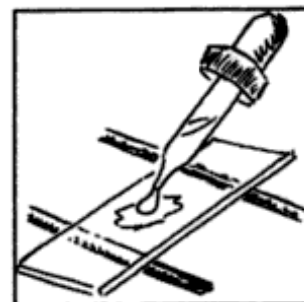
6.4.1.5 Dibuix



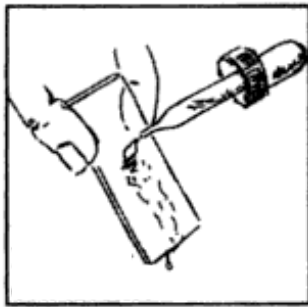
Cristall violeta



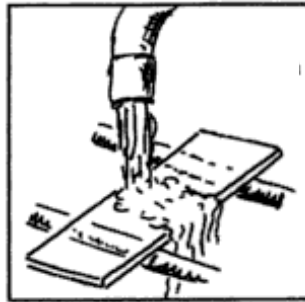
Rentat amb aigua



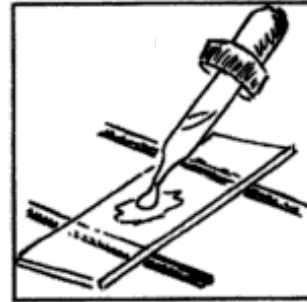
Lugol



Decoloració amb alcohol



Rentat amb aigua

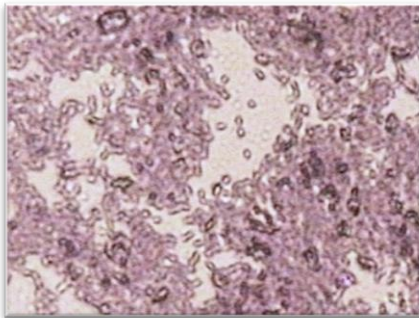


Safranina

Il·lustració 21. Dibuix esquemàtic del procés de tinció

6.4.1.6 Resultats

- Microorganismes grampositius Blau - Violeta
- Microorganismes gramnegatius Rosa – Roig



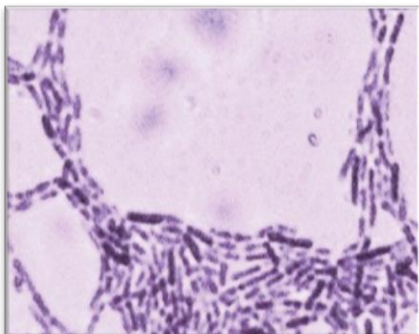
Il·lustració 22. Fotografia microscòpica *Staphylococcus epidermidis*

Espècie bacteriana: *Staphylococcus epidermidis*

Augment: 10 · 100 x

Morfologia: cocs

Gram: grampositius



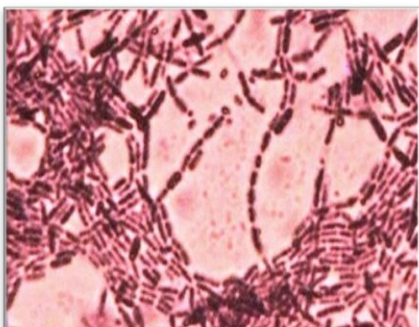
Il·lustració 23. Fotografia microscòpica *Bacillus cereus*

Espècie bacteriana: *Bacillus cereus*

Augment: 10 · 100 x

Morfologia: bacils

Gram: grampositius



Il·lustració 24. Fotografia microscòpica *Escherichia coli*

Espècie bacteriana: *Escherichia coli*

Augment: 10 · 100 x

Morfologia: bacils

Gram: gramnegatius



6.4.1.7 Conclusions

A causa de la mida tan petita dels bacteris i per la falta de contrast que hi ha entre aquests microorganismes, normalment transparents, i el medi que els envolta, ens topem amb una gran dificultat a l'hora d'observar-los amb el microscopi òptic. És per això que es va fer necessària la creació de mètodes per apreciar millor els bacteris i, al mateix temps, distingir moltes característiques estructurals específiques de cada tipus de bacteri. Així doncs, és habitual l'ús de colorants com el mètode més simple d'augmentar el contrast.

La tinció de Gram és un dels mètodes de tinció més importants en l'àmbit bacteriològic. Té una gran utilitat pràctica ja que no es tracta d'una simple tinció, sinó d'una tinció diferencial, és a dir, ens permet distingir entre dos tipus de bacteris diferents, grampositius i gramnegatius, tal com hem explicat anteriorment. A més, mostra informació referent a la morfologia cel·lular bacteriana (cocs, bacils, espirils...) i a la disposició que poden presentar en forma de parelles, cadenes o grups.

És per això que es pot afirmar que la importància de la tinció de Gram a causa de la permissió, en moltes circumstàncies, de la identificació preliminar del microorganisme present en una determinada mostra. És un mètode de gran interès en el diagnòstic mèdic de moltes infeccions. A més, permet determinar la idoneïtat del tractament antibiòtic indicat.



7. Experimentació. Aparició de resistències bacterianes

7.1 Objectius

Els objectius de la realització d'aquesta experimentació al laboratori són:

- Constatar l'especificitat entre els tipus de microorganismes i d'antimicrobians útils per inhibir-ne el creixement.
- Comprovar l'existència de soques bacterianes resistents a determinats antibiòtics o a d'altres compostos desinfectants com l'alcohol quirúrgic.
- Experimentar el risc que comporta el mal ús de les substàncies antimicrobianes i el consegüent increment de soques bacterianes resistents.
- Prendre consciència de la gran importància que tenen els antibiòtics en medicina i de la necessitat d'utilitzar-los racionalment.

7.2 Introducció

Recordem breument que els antibiòtics són compostos que inhibeixen el creixement dels bacteris, tot actuant en passos concrets del seu metabolisme. Gràcies a l'aparició dels antibiòtics, moltes malalties que en èpoques passades eren notablement mortíferes, actualment estan pràcticament eradicades o bé es tracta d'afeccions lleus. Ara bé, se sap que els bacteris poden presentar resistència als antibiòtics, la qual cosa comporta el greu risc que malalties que avui dia són fàcils de tractar puguin arribar a presentar complicacions importants.

Paral·lelament a l'ús dels antibiòtics, s'utilitzen també altres agents antisèptics i desinfectants en l'àmbit mèdic, i des de fa uns quants anys s'ha introduït l'ús d'agents biocides en àmbits més diversos, com l'alimentari, el cosmètic, l'agrícola... Aquestes substàncies també resulten tòxiques per als bacteris ja que els maten o inhibeixen el seu creixement. Conseqüentment, els bacteris també són capaços de desenvolupar resistència a aquests tipus de compostos.

Amb aquesta pràctica al laboratori compararem, en una primera experiència, l'acció que tenen un antibiòtic, un agent micòtic, una dissolució poc concentrada d'un desinfectant habitual com és l'alcohol i l'aigua pura sobre tres espècies bacterianes. En un principi, l'antifúngic i l'aigua no han de suposar cap obstacle per al creixement dels tres tipus bacterians. Aïllarem també possibles soques resistents per tal d'experimentar l'aparició de resistències bacterianes als antimicrobians. En una segona experiència repetirem el procés amb dos antibiòtics més i amb alcohol quirúrgic habitual (etanol 96%).



7.3 Material

7.3.1 Equipament

- Incubadora que permeti assolir una temperatura de 35-37°C
- Nevera
- Microscopi òptic

7.3.2 Reactius i altres materials

- Cultius mare de les soques bacterianes

Escherichia coli

Bacillus cereus

Staphylococcus epidermidis

- Productes antimicrobians

Primera experiència

Eritromicina en pols

Ketoconazol en pols

Alcohol al 17,5% amb aigua destil·lada

Aigua destil·lada

Segona experiència

Amoxicil·lina + àcid clavulànic

Azitromicina

Alcohol 96º

- Medi de cultiu líquid (sense bacteris)
- Plaques de Petri amb agar
- Tubs d'assaig amb rosca
- Hisops¹⁹ o bastonets de cotó esterilitzats
- Discos de paper de filtre d'aproximadament 8 mm de diàmetre (5-10 mm)
- Pinces esterilitzades
- Gradeta
- Cinta adhesiva o parafilm
- Tisores
- Etiquetes i retolador per marcar els tubs i les plaques
- Encenedor d'alcohol i mistos
- Regle mil·limetrat

¹⁹ Instrument utilitzat per a la recollida de mostres i per al seu posterior estudi. Normalment en medicina s'utilitza per saber quin microorganisme origina una determinada infecció. Té forma de bastonet acabat amb una punta de cotó.



7.4 Procediment

7.4.1 Execució de l'experiència

L'experiment consta de set passos que es repeteixen diverses vegades:

1. Transferir els bacteris des de la suspensió a una placa de Petri amb agar.
2. Aplicar al centre de la placa, un paper de filtre impregnat de producte antimicrobià, segons el tractament.
3. Incubar durant 24h a 37°C.
4. Mesurar l'amplada de la zona d'inhibició de creixement bacterià.
5. Isolar, de cada una de les plaques, els bacteris més resistents per cada un dels tractaments i transferir-los al líquid de cultiu net.
6. Incubar de nou durant 24h a 37°C.
7. Repetir.

1. Sembra de bacteris

En primer lloc cal identificar cadascuna de les plaques de Petri amb el nom del bacteri que hi volem sembrar i el tractament que hi aplicarem.

La sembra consisteix en transferir els bacteris des dels cultius líquids mare, o dels posteriors cultius de bacteris isolats, a les plaques de Petri amb agar. Aquesta operació es realitza agafant amb una xeringa estèril 1 ml de cultiu (o 1,3 ml en el cas de la segona experiència) i escampant-ho per la placa amb agar. A continuació, es tapa immediatament la placa i es mou de tal manera que el líquid sembrat quedi distribuït per tota la placa de forma homogènia.

(És convenient tenir les plaques obertes el menor temps que sigui possible per tal d'evitar possibles contaminacions. També es recomana realitzar tot el procés en proximitat d'un encenedor d'alcohol per tal d'evitar tant la contaminació dels cultius com per evitar riscos per a la salut.)

2. Aplicació dels diferents tractaments

S'impregnen els discos de paper de filtre amb cadascun dels productes a testar. Primerament, s'esterilitzen les pinces posant-les directament a la flama de l'encenedor. D'aquesta manera s'aconsegueix desnaturalitzar els enzims i destruir tots els possibles microorganismes presents. Després de deixar-les refredar per no malmetre el producte, s'agafa cada un dels discos impregnat i es col·loca al centre de la superfície d'agar de la placa corresponent. Cal esterilitzar les pinces cada cop que s'agafa un nou disc, i canviar de pinces per a cadascun dels productes.

Després de deixar-ho 1 minut aproximadament per permetre l'adhesió dels discos a l'agar, cal segellar les plaques de Petri amb Parafilm (o amb cinta adhesiva).



3. Incubar durant 24h a 37°C

Es deixen les plaques de Petri degudament tancades a la incubadora. Els cultius es deixen incubar a 35-37°C durant un mínim de 24 h. Cal assegurar-se del bon anivellament de la incubadora de manera que els bacteris puguin créixer homogèniament per tota la placa.

Per mantenir la uniformitat a tots els tractaments, si un dels passos coincideix amb festius, es poden posar els cultius a la nevera (més o menys a 5°C), ja sigui abans o després de les 24 hores d'incubació.

4. Mesurar l'amplada de la zona d'inhibició de creixement bacterià

Cal mesurar la distància des del límit del disc de filtre fins al límit interior del cultiu bacterià (vegeu la il·lustració 25). Donat que la concentració del tractament aplicat disminueix amb la distància al disc de paper de filtre, l'amplada de la zona d'inhibició està inversament relacionada amb el grau de resistència de la majoria dels bacteris resistents. Com més ampla sigui la zona d'inhibició, menor serà la resistència dels bacteris al tractament antimicrobià.

5. Isolar, de cada una de les plaques, els bacteris que tenen més probabilitat de ser resistents per a cada un dels tractaments

Un cop mesurada la distància, cal triar els bacteris més resistents de cada tractament, refregant un hisop o un bastonet de cotó estèril pel marge intern del cultiu bacterià. Cal fer-ho pel marge més proper a la zona d'inhibició, ja que és el que conté bacteris amb un major grau de resistència. D'altra banda, si a la zona d'inhibició s'observen colònies de bacteris, es prenen aquestes.

Després, es transfereixen els bacteris a un tub que contingui 5 ml de cultiu líquid net, prèviament etiquetat. Per aconseguir-ho, se submergeix cada un dels cotonets a l'interior del tub i es mou lleugerament per tal de dipositar-hi els bacteris.

(És important fer-ho sempre a prop de l'encenedor per evitar la contaminació dels cultius i per evitar riscos innecessaris.)

6. Incubar de nou durant 24h a 37°C

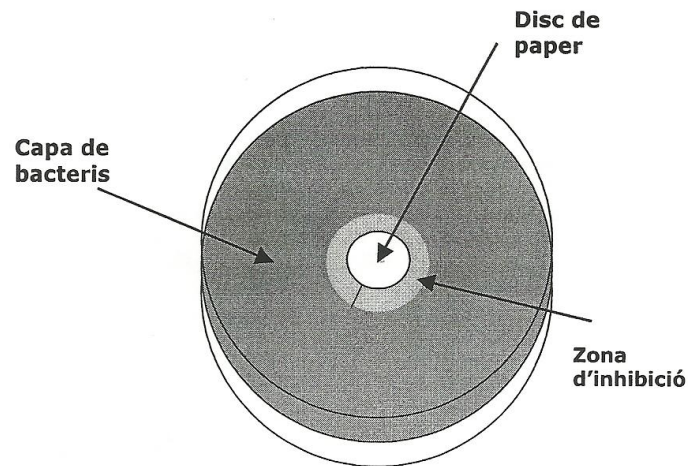
Es deixen els tubs, degudament col·locats en una gradeta, a la incubadora durant 24 h a 35-37°C. Durant aquest període té lloc la multiplicació dels bacteris seleccionats a cada un dels tractaments.

7. Repetir els passos anteriors

Sembrar una nova placa amb 1 ml de cultiu dels bacteris anteriorment isolats i incubar durant 24 hores a 37°C...



7.4.2 Adquisició i enregistrament de les dades



Il·lustració 25. Mesura de l'amplada de l'halo d'inhibició

En aquest esquema d'una càpsula de Petri s'observa el disc de filtre col·locat al centre i la zona d'inhibició que l'envolta, tot formant un halo. Per recollir els resultats de la pràctica cal mesurar l'amplada d'aquesta zona (línia negra). És important prendre diverses mesures, ja que l'halo no acostuma a ser regular, i fer la mitjana aritmètica dels resultats obtinguts.

7.5 Resultats

7.5.1 Resultats teòrics

En base a la informació referent a les característiques dels bacteris i dels tractaments utilitzats en les experiències (vegeu els apartats 6.2 i 6.3), cadascuna de les espècies bacterianes hauria de ser sensible a l'acció dels antibiòtics següents:

- *Staphylococcus epidermidis*
 - Eritromicina
 - Azitromicina
 - Amoxicil·lina + àcid clavulànic
- *Bacillus cereus*
 - Azitromicina
 - Amoxicil·lina + àcid clavulànic (en menor mesura)
- *Escherichia coli*
 - Azitromicina
 - Amoxicil·lina + àcid clavulànic (en menor mesura)



7.5.2 Resultats de l'experiència 1

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Escherichia coli</i>
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 1
Eritromicina	-	-	-	+	+
Ketoconazol	+		+		+
Alcohol al 17,5%	-	-	+		+
Aigua destil·lada	+		+		+

El signe + representa que hi hagut creixement per tota la placa, inclosa la zona d'influència del producte, i el signe - indica que no hi ha hagut creixement bacterià en un determinat perímetre al voltant del producte aplicat.

7.5.2.1 *Staphylococcus epidermidis*

	Eritromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)							Mitjana aritmètica (mm)	Mitjana aritmètica total (mm)
Sembra 1	13,0	12,0	14,0	10,0	9,0	10,0	12,0	11,4	11,4
Sembra 2	11,0	13,0	15,0	14,0	14,0	11,0	10,0	12,6	17,6
	19,5	20,0	19,5	25,0	26,0	27,0	21,0	22,6	

	Alcohol etílic al 17,5% amb aigua destil·lada								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)							Mitjana aritmètica (mm)	Mitjana aritmètica total (mm)
Sembra 1	4,0	5,0	5,5	7,0	8,0	6,0	4,0	5,6	5,6
Sembra 2	5,5	6,0	9,0	11,0	9,0	8,0	6,0	7,8	6,8
	2,0	7,0	10,0	7,0	6,0	6,0	3,0	5,8	

7.5.2.2 *Bacillus cereus*

	Eritromicina				
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)				Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	31,0	23,0	14,0	21,0	22,3
Sembra 2	0,0				0,0



7.5.3 Resultats de l'experiència 2

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			<i>Bacillus cereus</i>		
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3
Amoxicil·lina + àc. clavulànic	-	-	-	-	-	-
Azitromicina	-	-	-	-	-	-
Alcohol etílic 96°	-	-	-	-	+	

	<i>Escherichia coli</i>		
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3
Amoxicil·lina + àc. clavulànic	+		
Azitromicina	+		
Alcohol etílic 96°	-	-	-

7.5.3.1 *Staphylococcus epidermidis*

	Amoxicil·lina + àcid clavulànic								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0
Sembra 2	5,0	4,0	11,5	9,5	14,0	9,0	10,0	9,0	9,0
Sembra 3	7,0	10,0	11,0	8,0	9,0	10,0	8,0	8,0	8,9

	Azitromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	10,0	12,0	11,0	12,0	12,0	11,0	10,0	12,0	11,3
Sembra 2	11,0	11,0	13,0	19,0	20,5	23,0	25,0	14,0	17,1
Sembra 3	10,0	10,0	10,0	11,0	10,0	9,0	9,5	10,0	9,9

	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	18,0	11,0	8,0	5,0	5,0	7,0	7,0	6,0	8,4
Sembra 2	6,0	6,0	5,0	8,0	8,0	6,0	6,0	4,0	6,1
Sembra 3	2,0	2,0	1,5	2,0	2,0	2,0	2,0	1,5	1,9



7.5.3.2 *Bacillus cereus*

	Amoxicil·lina + àcid clavulànic								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	9,0	11,0	10,0	7,0	8,0	10,0	10,0	9,0	9,2
Sembra 2	4,0	4,0	8,0	9,0	11,0	10,0	13,0	7,0	8,2
Sembra 3	10,0	11,0	14,0	10,0	9,0	8,0	11,0	8,0	10,1

	Azitromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	14,0	12,0	11,0	15,0	14,5	16,0	17,0	21,0	15,1
Sembra 2	13,0	10,0	12,0	9,0	8,0	6,0	9,0	14,0	10,1
Sembra 3	11,0	10,0	10,0	10,0	11,0	13,0	12,0	10,0	10,9

	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	7,0	7,0	7,0	6,0	6,0	6,0	7,0	6,5	6,6
Sembra 2	0,0								0,0

7.5.3.3 *Escherichia coli*

	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	18,0	11,0	8,0	5,0	5,0	7,0	7,0	6,0	8,4
Sembra 2	1,0	2,0	3,0	1,0	1,0	0,5	0,5	1,0	1,2
Sembra 3	2,0	4,0	7,0	9,0	3,0	1,0	1,0	1,0	3,5

7.5.4 Resultats de l'experiència 3

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>					
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3	Sembra 4	Sembra 5	Sembra 6
Azitromicina	+	-	-	-	-	(-)
Amoxicil·lina + àc. clavulànic	-	-	-	-	-	+
Alcohol etílic 96°	-	-	+	-	-	-



	<i>Bacillus cereus</i>					
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3	Sembra 4	Sembra 5	Sembra 6
Azitromicina	-	-	-	+	+	+
Amoxicil·lina + àc. clavulànic	-	+	+	-	-	-
Alcohol etílic 96°	-	-	-	-	-	-

	<i>Escherichia coli</i>					
	Sembra 1	Sembra 2	Sembra 3	Sembra 4	Sembra 5	Sembra 6
Azitromicina	-	-	-	-	-	-
Amoxicil·lina + àc. clavulànic	-	-	-	-	-	+
Alcohol etílic 96°	+	+	-	-	-	-

7.5.4.1 *Staphylococcus epidermidis*

	Amoxicil·lina + àcid clavulànic								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	41,0	42,0	48,5	51,0	52,0	51,5	51,0	50,0	48,4
Sembra 2	21,0	21,0	19,0	20,0	22,0	23,5	24,0	23,0	21,7
Sembra 3	26,0	20,5	21,5	10,0	12,0	12,0	17,0	18,5	17,2
Sembra 4	7,0	8,0	10,0	12,5	18,0	18,0	13,0	9,0	11,9
Sembra 5	5,5	5,0	6,5	11,0	14,0	11,0	10,0	8,0	8,9
Sembra 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	Azitromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	23,0	27,0	37,0	44,0	47,0	46,0	36,0	19,0	34,9
Sembra 2	10,0	11,5	13,0	18,0	26,0	27,0	27,0	26,0	19,8
Sembra 3	13,0	10,0	10,0	12,0	23,0	25,0	26,0	21,0	17,5
Sembra 4	23,0	24,0	11,0	11,5	13,0	14,0	14,5	18,0	16,1
Sembra 5	18,0	17,0	17,5	18,0	20,0	24,0	23,5	21,0	19,9
Sembra 6	/	/	/	/	/	/	/	/	/



	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	5,0	4,0	4,0	2,5	5,0	7,0	9,0	7,5	5,5
Sembra 2	3,0	3,5	4,5	5,0	6,0	10,0	8,0	6,0	5,8
Sembra 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 4	0,5	1,0	1,5	1,0	0,5	0	0	0	0,6
Sembra 5	1,0	3,0	2,5	3,0	0	0	0	0	1,2
Sembra 6	1,0	5,0	6,0	9,0	12,0	10,0	4,0	1,0	6,0

7.5.4.2 *Bacillus cereus*

	Amoxicil·lina + àcid clavulànic								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	4,0	7,0	10,0	16,0	32,0	18,0	9,0	1,0	12,5
Sembra 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 4	8,0	8,0	8,0	7,0	6,0	8,0	8,0	8,0	7,6
Sembra 5	5,0	3,5	4,0	5,0	4,0	5,0	4,0	4,5	4,4
Sembra 6	5,0	4,0	6,0	5,0	4,0	4,0	3,0	16,0	5,9

	Azitromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	27,0	28,0	21,0	20,0	19,0	18,0	10,0	9,0	19,0
Sembra 2	22,5	18,5	15,0	15,0	16,0	9,0	11,0	25,0	16,5
Sembra 3	26,0	21,0	13,0	13,0	15,0	15,5	20,0	25,5	18,6
Sembra 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	5,0	4,0	4,0	8,0	11,0	6,0	5,0	6,0	6,1
Sembra 2	6,0	9,0	11,0	8,0	7,0	7,5	6,0	8,0	7,8
Sembra 3	1,0	2,0	3,0	7,5	11,0	13,0	13,0	11,0	7,7
Sembra 4	5,0	8,0	10,5	6,0	8,0	9,0	6,0	4,5	7,1
Sembra 5	4,5	5,0	8,0	6,5	6,5	7,0	7,5	6,0	6,4
Sembra 6	4,0	6,0	7,0	8,0	12,0	15,0	10,0	4,0	8,2

**7.5.4.3 Escherichia coli**

	Amoxicil·lina + àcid clavulànic								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	15,0	13,0	12,0	12,0	13,0	13,5	9,0	21,0	13,6
Sembra 2	30,0	28,0	27,0	27,0	28,0	28,5	29,0	30,0	28,4
Sembra 3	26,0	16,5	14,5	14,0	14,0	13,5	13,0	16,0	15,9
Sembra 4	7,0	6,5	10,0	9,0	7,0	6,0	8,0	7,0	7,6
Sembra 5	20,0	12,5	8,0	7,0	8,0	9,0	8,5	1,4	10,9
Sembra 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0

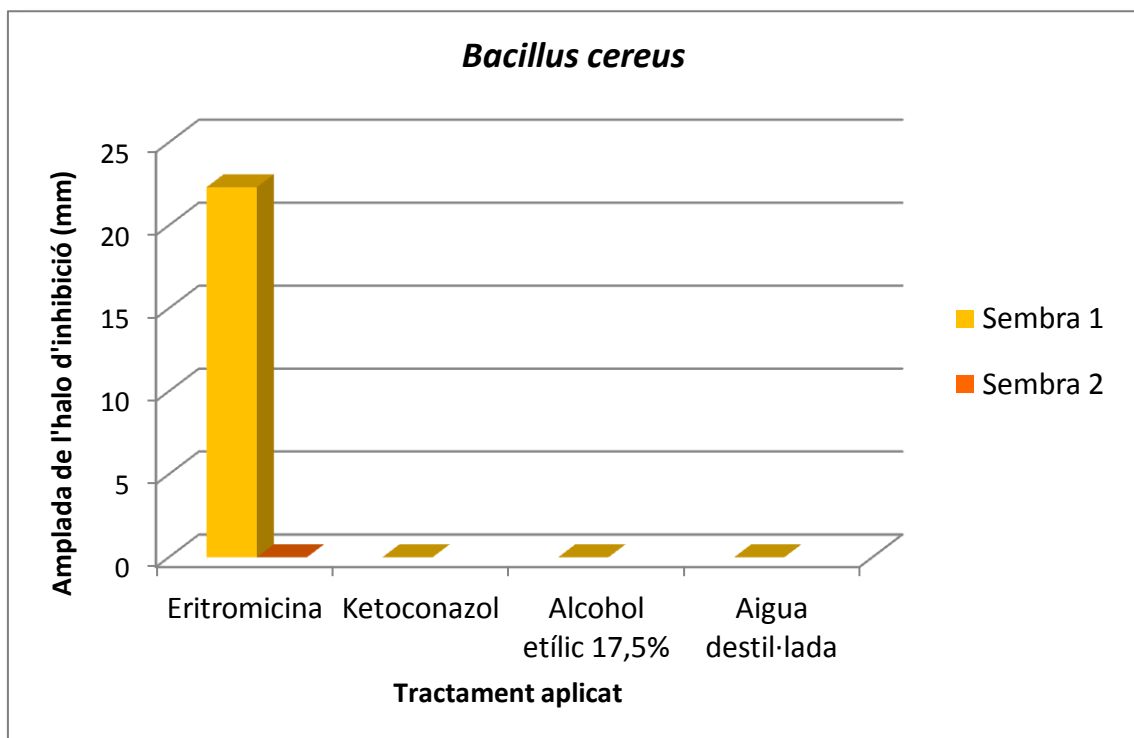
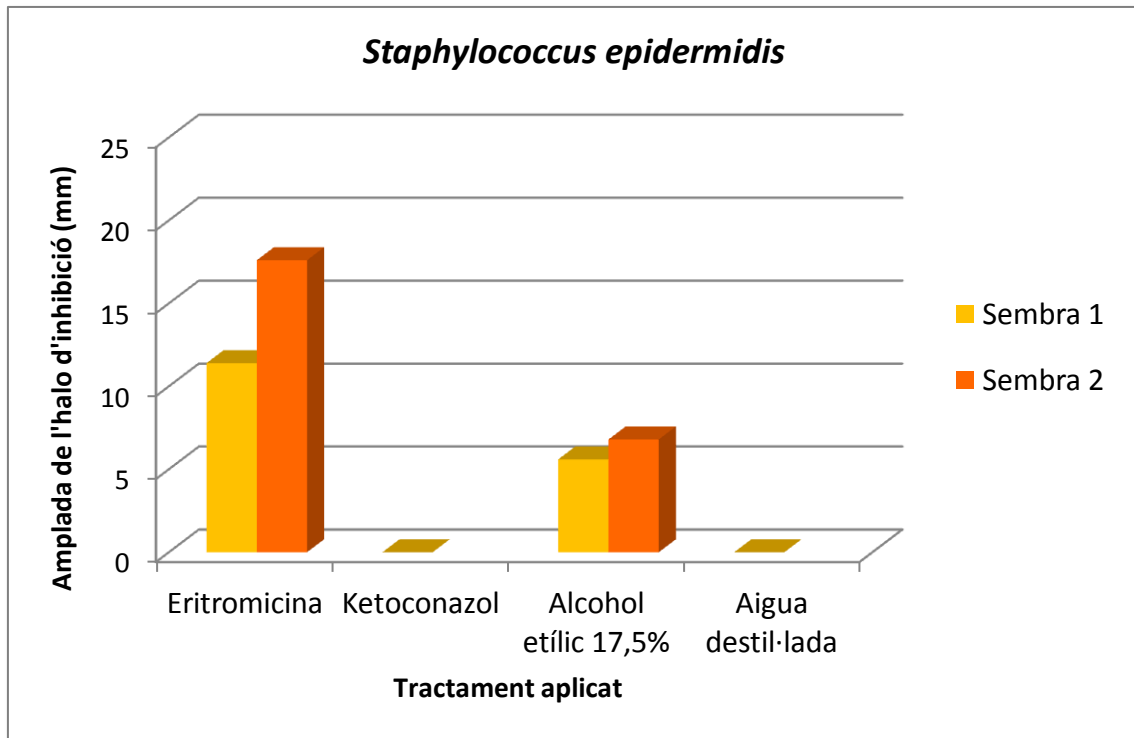
	Azitromicina								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 2	18,0	19,0	24,0	23,0	23,0	30,0	30,0	31,0	24,8
Sembra 3	20,0	18,0	19,0	19,5	22,0	24,0	25,0	23,5	21,4
Sembra 4	29,0	23,0	22,0	24,0	23,0	20,0	18,0	23,0	22,8
Sembra 5	26,0	19,0	19,0	19,5	18,0	19,0	19,5	24,5	20,6
Sembra 6	14,0	12,0	13,0	13,0	14,0	16,0	18,0	23,0	15,4

	Alcohol etílic 96°								
	Mesures del radi de la zona d'inhibició (mm)								Mitjana aritmètica (mm)
Sembra 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sembra 3	20,0	21,0	17,0	10,0	8,5	10,0	9,0	13,0	13,6
Sembra 4	4,5	4,0	7,0	12,0	13,5	10,0	9,0	7,0	8,4
Sembra 5	2,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,0	0,5	1,0	1,1
Sembra 6	2,0	2,0	2,5	3,0	1,5	1,0	1,0	2,0	1,9



7.6 Anàlisi dels resultats

7.6.1 Gràfics de l'experiència 1



Els dos gràfics anteriors mostren l'amplada de l'halo d'inhibició dels cultius de *Staphylococcus epidermidis* i *Bacillus cereus* per als diversos tractaments aplicats, en cadascuna de les dues sèmres realitzades. Tot i que els tractaments han estat aplicats a les tres espècies bacterianes (*S. epidermidis*, *B. cereus* i *E. coli*) per igual, no s'ha



realitzat cap gràfic mostrant l'evolució dels cultius de *Escherichia coli*, ja que cap dels tractaments aplicats ha evitat el creixement de les colònies pel medi de cultiu.

S'observa, per tant, que els resultats teòrics no es compleixen per al bacteri *E. coli*. S'estima que les possibles causes són l'ús de producte antimicrobià en pols, de manera que la seva difusió per l'agar és difícil. Les pròximes millores que s'introduiran en les experiències posteriors són:

- Ús d'antibiòtics en forma de xarop comú, ja que l'estat semi-líquid millora la difusió per les plaques.
- Inoculació i sembra dels bacteris que han aconseguit créixer al voltant del disc impregnat d'antibiòtic.

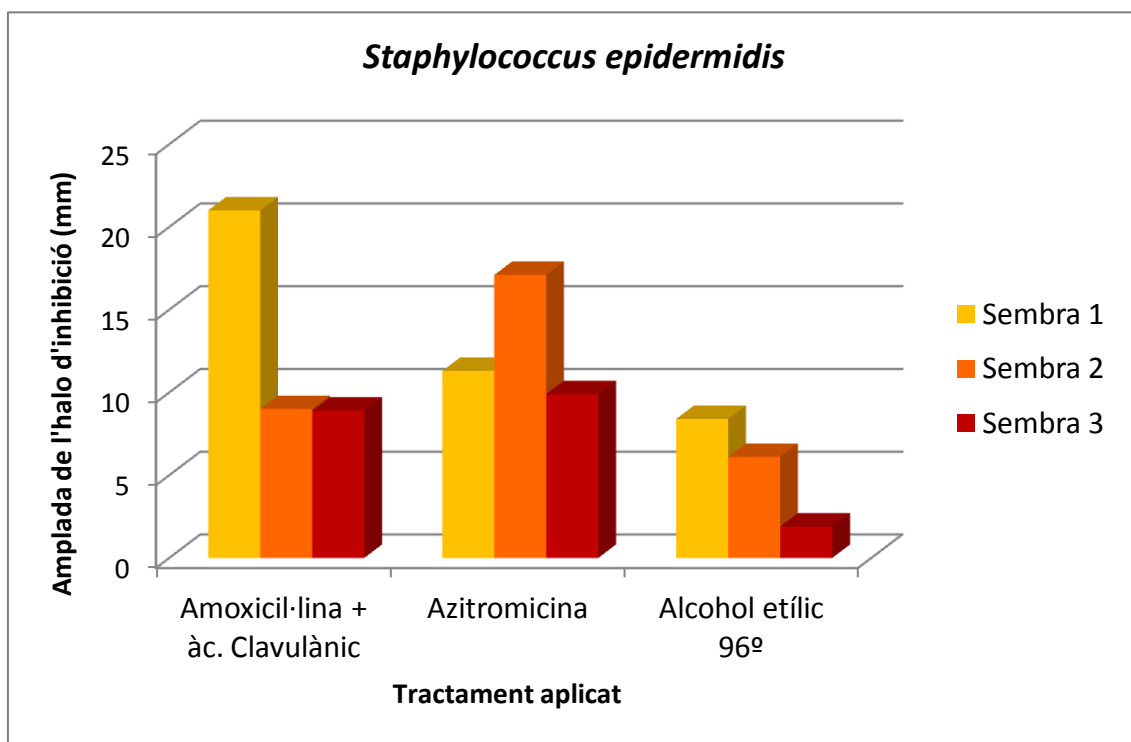
La informació que es pot extreure dels gràfics anteriors és la següent:

- El ketoconazol no exerceix cap tipus d'inhibició del creixement bacterià. La causa radica en el fet que es tracta d'un producte antimicòtic, és a dir, només té activitat enfront del creixement de fongs. Això demostra l'especificitat existent entre els productes antimicrobians i els microbis respectius. No tots els productes antimicrobians són útils per eliminar tots els microorganismes, sinó que cal utilitzar antifúngics per eliminar els fongs, antivírics per combatre les infeccions víriques... Per tant, per inhibir el creixement de bacteris cal utilitzar antibacterians (o antibiòtics).
- L'aigua destil·lada no té cap efecte sobre el creixement dels bacteris. Els microorganismes són totalment capaços de viure en medis amb presència d'aigua, ja que aquesta no exerceix cap mena de dificultat per al creixement dels microorganismes. De fet, el medi de cultiu que s'utilitza per a realitzar cultius bacterians i que satisfà els requeriments nutritius dels bacteris conté una proporció important d'aigua.
- L'eritromicina és un antibiòtic que impedeix el creixement dels bacteris *S. epidermidis* i *B. cereus*, de manera que podem dir que és un antibiòtic eficaç per combatre les malalties provocades per aquests microorganismes.
- L'alcohol etílic de farmàcia, tot i no ser un producte antibiòtic, també presenta acció antibacteriana. Malgrat que no mostra cap efecte contra *E. coli* i *B. cereus*, l'alcohol és un producte antisèptic que s'utilitza per a la desinfecció, de manera que es repetirà aquest tractament en les experiències posteriors.

S'ha decidit interrompre l'experiència prematurament a causa que els resultats obtinguts en les dues primeres sèmbras no són els esperats i s'estima que la causa principal n'és l'estat físic sòlid (en pols) dels antimicrobians. Així doncs, s'inicia una segona experiència, en què s'eliminen els tractaments amb ketoconazol i aigua destil·lada, ja que se n'ha comprovat la ineficàcia en la inhibició del creixement bacterià.



7.6.2 Gràfics de l'experiència 2

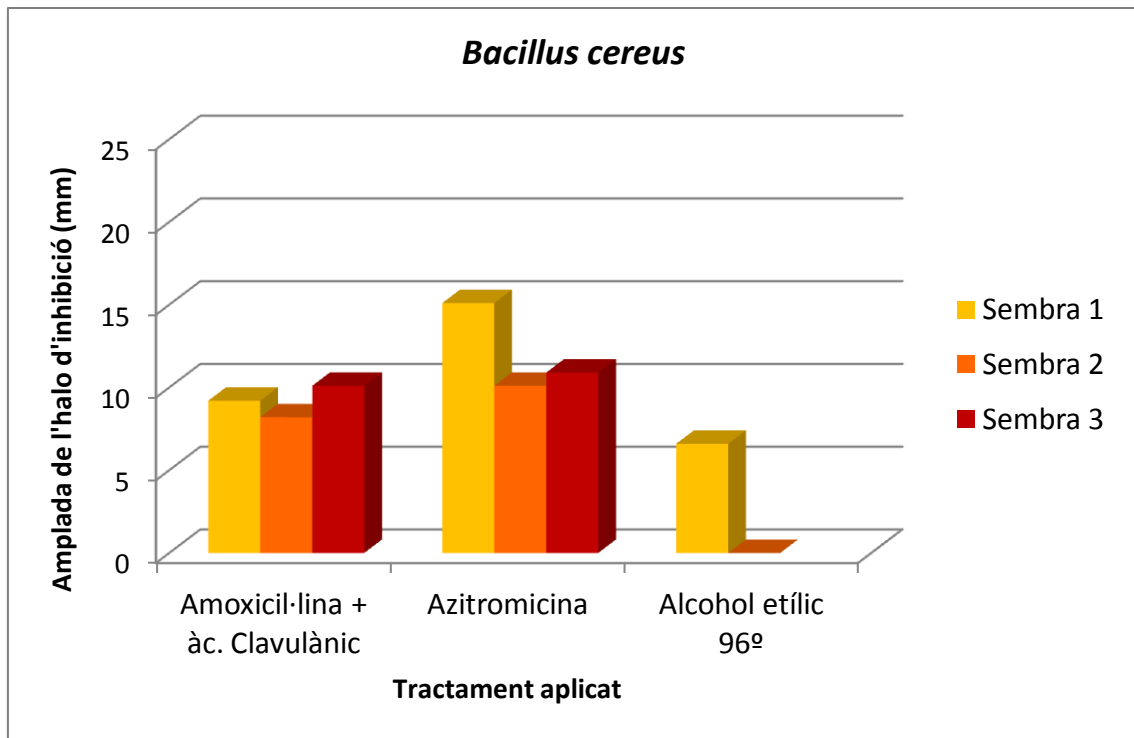


Aquest gràfic ens mostra l'evolució de l'amplada de l'halo d'inhibició dels diversos tractaments per al bacteri *Staphylococcus epidermidis* al llarg de 3 sèmres. S'observa que tots tres tractaments (amoxicil·lina + àcid clavulànic, azitromicina i alcohol etílic) exerceixen un poder antibacterià que, en general, disminueix en els successius cultius. El motiu d'aquesta disminució de la capacitat d'inhibició del producte antibacterià és l'augment de la resistència als antibiòtics dels bacteris. Això s'explica si entenem que en les progressives sèmres s'està duent a terme un procés de selecció, és a dir, s'està afavorint la reproducció en els successius cultius d'aquells bacteris amb una capacitat major de sobreviure a l'acció de l'antibiòtic. D'aquesta manera s'aconsegueix que la població del cultiu presenti cada cop un nombre major de bacteris capaços de desenvolupar-se, fins que finalment són capaços d'ocupar tota la superfície de la placa. Aquest cas extrem suposa l'aparició definitiva d'una soca bacteriana resistent a l'antibiòtic, però no s'observa en el gràfic anterior, ja que en totes les sèmres apareix un halo d'inhibició.

Si estudiem detingudament cada cas observem que per al tractament amb amoxicil·lina + àcid clavulànic es produeix una disminució dràstica de l'halo d'inhibició entre les sèmres 1 i 2, però entre la 2 i la 3 la reducció és molt lleu.

En el cas de l'azitromicina, tot i que l'acció de l'antibiòtic augmenta de la sembra 1 a la 2 (no s'han seleccionat bacteris resistents), el cultiu 3 mostra una reducció de l'halo d'inhibició respecte a l'inicial.

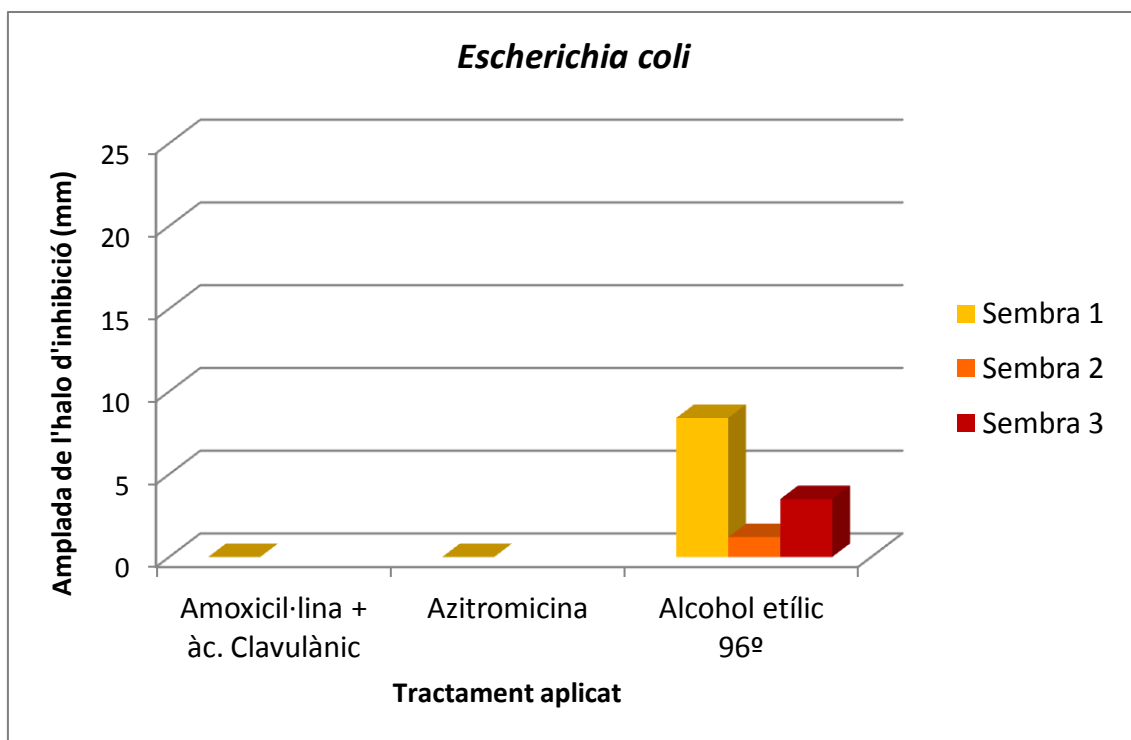
El gràfic de l'alcohol etílic és el més significatiu de tots, ja que mostra una disminució successiva de l'halo d'inhibició en cadascuna de les sèmres posteriors. Possiblement, si s'haguessin realitzat un nombre major de sèmres s'hauria aconseguit desenvolupar una soca de *S. epidermidis* completament resistent a l'acció de l'alcohol.



Observant aquest gràfic, que reflecteix l'evolució de l'halo d'inhibició per als diversos tractaments del bacteri *Bacillus cereus*, es pot extreure un seguit d'informació.

Primerament s'observa que tots els tres tractaments aplicats tenen efecte antibacterià contra *B. cereus*. A més, s'observa que en el cas de l'alcohol etílic s'aconsegueix la resistència bacteriana. Malgrat tot, els gràfics dels tractaments amb amoxicil·lina + àcid clavulànic i azitromicina no constitueixen uns bons exemples per corroborar la hipòtesi que es pretén demostrar amb aquesta experiència. És a dir, no s'observa l'aparició de soques bacterianes capaces de sobreviure a l'acció d'aquests antibiòtics, ja que l'halo d'inhibició no disminueix suficientment i fins i tot arribar a augmentar.

Tot i això, s'ha pogut comprovar que l'efecte inhibidor de l'azitromicina per a *B. cereus* és major que el que presenta l'amoxicil·lina + àcid clavulànic. Per tant, es pot afirmar que, tot i que tots dos antibiòtics poden ser utilitats per al tractament d'infeccions causades per aquest bacteri, l'azitromicina és el fàrmac més adequat.



En aquest gràfic hi ha representada l'amplada de l'halo d'inhibició dels tractaments antibiòtics per als cultius d'*Escherichia coli*.

S'observa que ja en la primera sembra l'amoxicil·lina + àcid clavulànic i l'azitromicina no dificulten de cap manera el creixement bacterià, sinó que els cultius s'estenen per tota la placa, incloent la zona pròxima al disc que conté l'antibiòtic. Aquests resultats contradiuen els resultats teòrics deduïts en funció de l'adequació d'aquests antibiòtics per tractar les infeccions d'*E. coli*. S'hauria d'haver realitzat una segona sembra utilitzant els bacteris obtinguts de la inoculació de les colònies pròximes al disc per comprovar que realment són soques resistents, però la manca de temps ha estat la causa principal que no s'hagi dut a terme. Aquest aspecte es tindrà en compte en l'experiència 3.

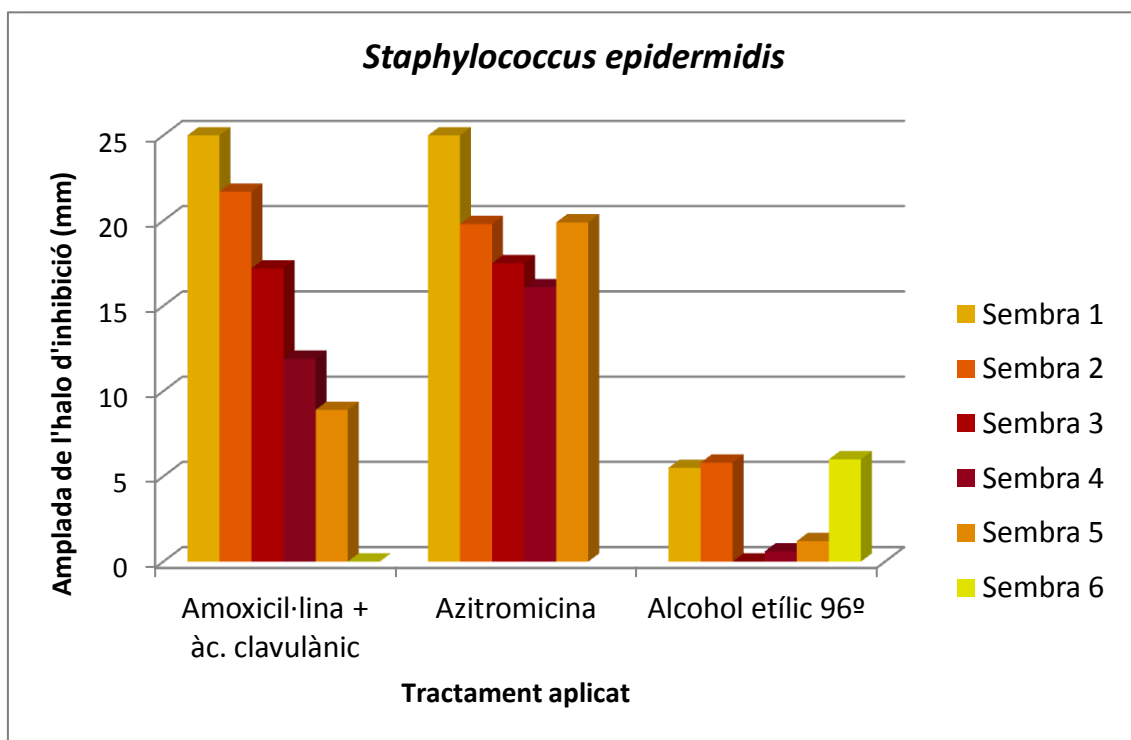
L'alcohol si que mostra un cert efecte antibacterià contra l'*E. coli* i s'observa també que es produeix una disminució important de l'halo d'inhibició entre les sembres 1 i 2. Tot i això, l'amplada de l'halo augmenta en la sembra 3, de manera que s'haurien de realitzar un nombre major de sembres per tal d'aconseguir la resistència a l'alcohol d'aquest bacteri.

Malgrat tot, l'experiència va haver d'ésser interrompuda a causa de la manca de més dies per utilitzar les instal·lacions i el material del laboratori de l'institut, que va romandre tancat per vacances d'estiu (vegeu l'annex 2).

Una tercera i última experiència serà represa a l'inici del nou curs. Aquesta tercera experiència reprendrà l'estudi de la resistència als bacteris utilitzats en les dues primeres experiències, i s'efectuaran novament tractaments amb amoxicil·lina + àcid clavulànic, azitromicina i alcohol etílic 96º. S'ha decidit continuar amb l'estudi de les mateixes variables, ja que no s'ha aconseguit demostrar la resistència total i, a més, per comprovar altre cop si es compleixen els resultats teòrics.



7.6.3 Gràfics de l'experiència 3



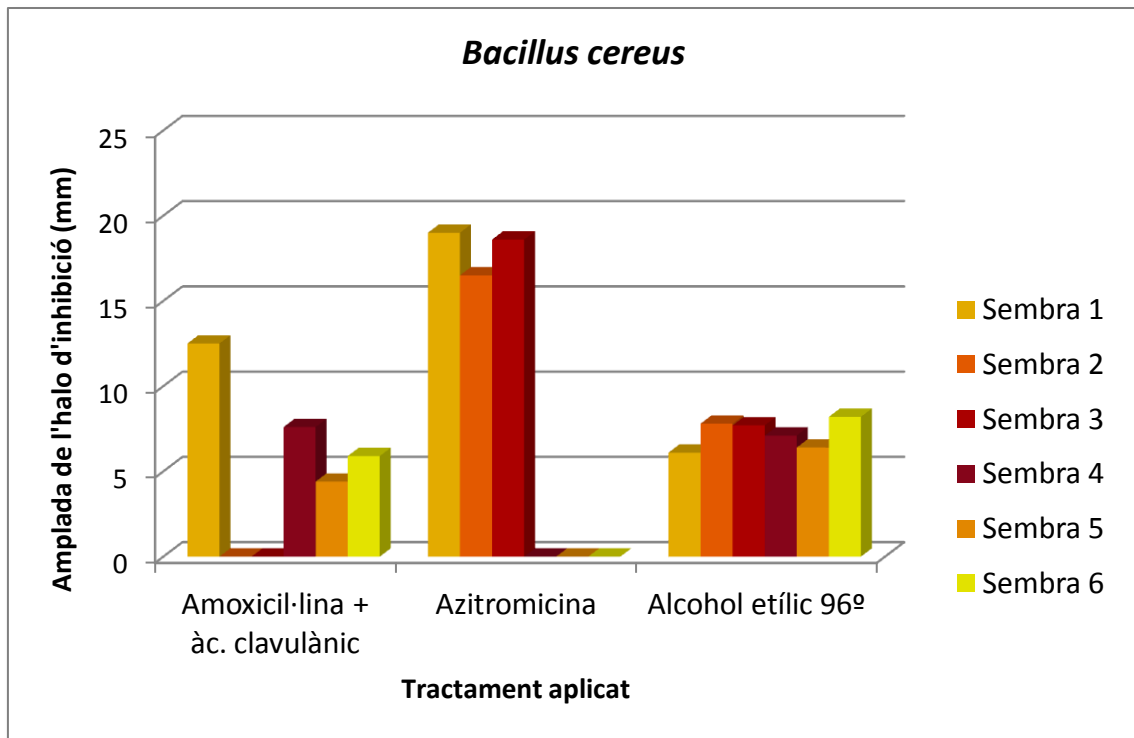
En aquest gràfic es mostra l'evolució de l'amplada de l'halo d'inhibició dels cultius de *Staphylococcus epidermidis* per als diversos tractaments.

Primerament cal destacar el compliment dels resultats teòrics, ja que s'observa clarament que el bacteri presenta sensibilitat a tots tres productes antibacterians.

El cas de l'amoxicil·lina + àcid clavulànic constitueix el cas ideal i que hauria estat el desitjable per a la resta de bacteris i tractaments. S'observa que inicialment el grau d'inhibició és elevat, el radi de l'halo d'inhibició és de gairebé 25 mm. En les successives sembres aquest radi va disminuint progressivament fins arribar al punt en què l'antibiòtic no suposa cap tipus de barrera per al creixement bacterià, sinó que la soca seleccionada és capaç de sobreviure a l'acció de l'antibiòtic. Pel fet de tractar-se d'un cas idoni, s'ha considerat necessari la inclusió de les fotografies dels cultius de les 6 sembres, on s'observa la disminució progressiva de l'halo (vegeu l'apartat 6.6.4).

En el cas de l'azitromicina els quatre primers cultius s'ajusten a l'evolució predita i es produeix un augment de la resistència del bacteri a l'antibiòtic. Tot i això, en la sembra 5 es produeix un augment sobtat de l'halo d'inhibició, la qual cosa indica que la quantitat de bacteris resistents ha disminuït respecte les sembres anteriors. També cal destacar l'absència de creixement bacterià en la sembra 6, la qual no es pot justificar de cap de les maneres amb un augment sobtat de l'efectivitat de l'antibiòtic. Les possibles causes que ho expliquen són un error a l'hora de la realització de la inoculació dels bacteris i la posterior sembra, i la degradació del cultiu bacterià per l'antiguitat o per altres factors que hagin pogut provocar la mort dels bacteris (per exemple, la temperatura, el pH...).

Finalment, s'ha corroborat que l'alcohol etílic té acció antibacteriana, però no s'ha pogut seleccionar una soca de *S. epidermidis* resistent a aquest antisèptic, ja que no existeix cap tipus d'evolució regressiva en l'amplada de l'halo d'inhibició.



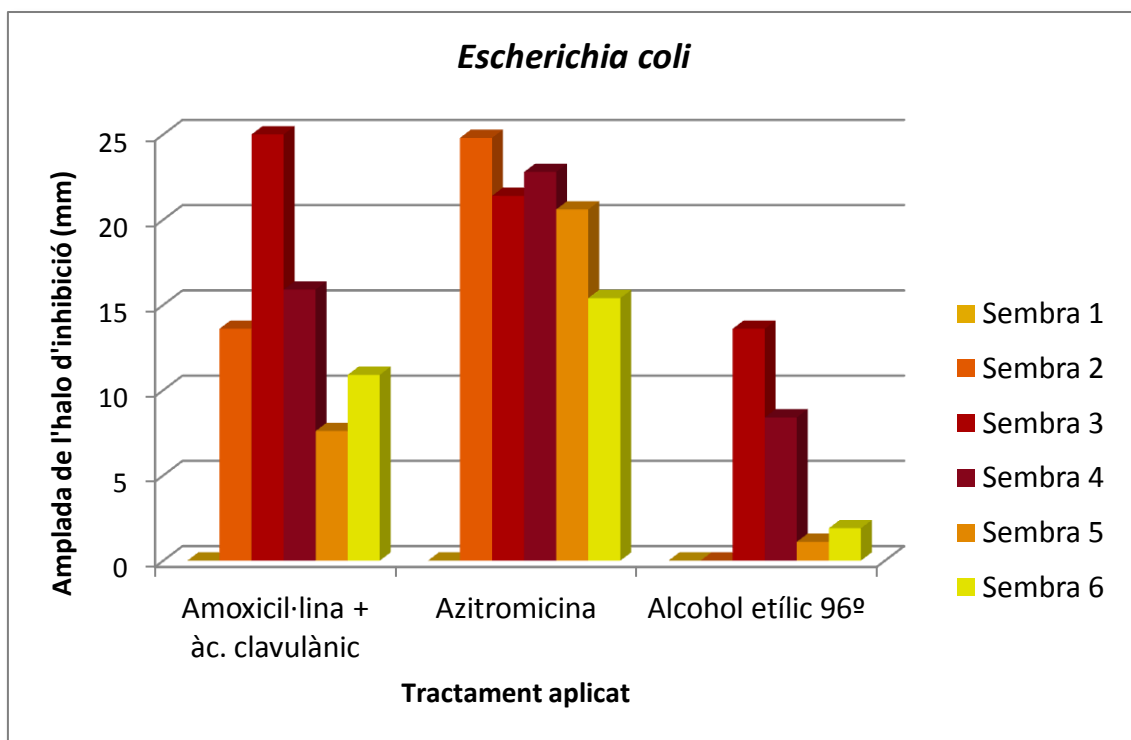
Aquest gràfic representa l'evolució de l'amplada de l'halo d'actuació inhibidora dels diversos tractaments sobre cultius de *Bacillus cereus*.

S'observa, com en el gràfic anterior, que es compleixen els resultats teòrics perquè tots tres tractaments presenten efectivitat a l'hora de combatre el desenvolupament bacterià pel medi de cultiu.

En el cas de l'amoxicil·lina + àcid clavulànic l'objectiu de l'experiència no s'ha aconseguit, ja que tot i que s'aconsegueixen aïllar soques resistents a l'antibiòtic en les sèmbras 2 i 3, en les properes sèmbras s'observa que la inhibició de l'antibiòtic torna a ser efectiva.

L'evolució de la inhibició de l'azitromicina mostra durant les 3 primeres sèmbras una alta efectivitat de l'antibiòtic per combatre les infeccions bacterianes originades per *B. cereus*. Tot i això, s'observa un gran salt en el gràfic i les sèmbras 4, 5 i 6 reflecteixen l'aparició d'una soca resistent a la inhibició antibiòtica. Així doncs, queda demostrat que un canvi a l'atzar de les característiques morfològiques i funcionals d'un bacteri degut, probablement, a una mutació en el material genètic, i la seva posterior transmissió a la resta d'individus a través dels mecanismes de transformació, transducció i conjugació (vegeu l'apartat 5.2) originen l'aparició sobtada de resistències bacterianes als antibiòtics.

Per últim, si s'estudia l'evolució dels cultius tractats amb alcohol etílic s'observa que l'amplada de l'halo d'inhibició es manté més o menys estable en les diverses sèmbras. No es produeix, per tant, cap tipus de selecció de soques bacterianes resistents.



Finalment, aquest últim gràfic mostra la manera com evolucionen els cultius d'*Escherichia coli* sotmesos a l'acció dels diferents tractaments antibacterians.

En aquesta tercera experiència, a diferència de les experiències 1 i 2, es verifiquen els resultats teòrics que s'han predit, de manera que tant l'alcohol etílic com l'amoxicil·lina + àcid clavulànic i l'azitromicina mostren eficàcia contra l'*E. coli*. Tot i això, cal destacar que en la primera sembra bacteriana per a cadascun dels tractaments, l'acció inhibidora és nul·la. Això demostra la poca eficàcia dels antibiòtics per combatre les infeccions causades per l'*E. coli* i justifica per què es prescriu el seu ús en rares ocasions (vegeu l'apartat 6.2.3.6).

Per al tractament amb amoxicil·lina + àcid clavulànic s'observa que l'evolució de l'halo d'inhibició és irregular. Entre les sembres 2 i 3 es produeix un augment considerable de l'halo, mentre que després disminueix i, finalment, en la sembra 6 torna a augmentar. Aquesta irregularitat demostra que no s'ha aconseguit l'aparició d'una soca resistent a l'acció antibiòtica.

En el cas de l'azitromicina, l'evolució és força més regular. S'observa que l'halo d'inhibició disminueix progressivament en les successives sembres. Així doncs, tot i que en la sembra 6 l'halo d'inhibició encara és força gran, la quantitat de bacteris resistents augmenta i es pot deduir que s'hauria aconseguit la resistència de l'*E. coli* a l'azitromicina si s'haguessin realitzat un nombre major de sembres.

I ja per acabar, cal destacar que en el gràfic de l'halo d'inhibició de l'alcohol hi ha representada la reducció successiva de l'amplada, fins arribar a punts propers a la resistència dels bacteris al tractament antisèptic.

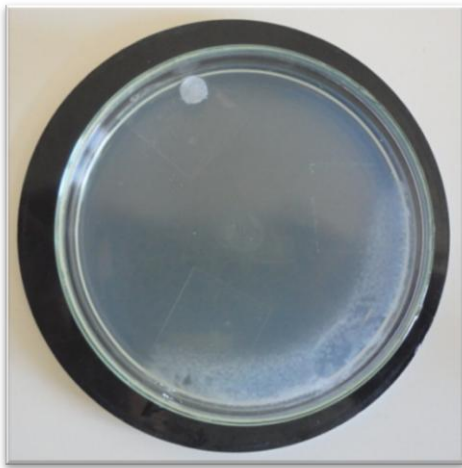


7.6.4 Exemple de l'evolució de la resistència bacteriana

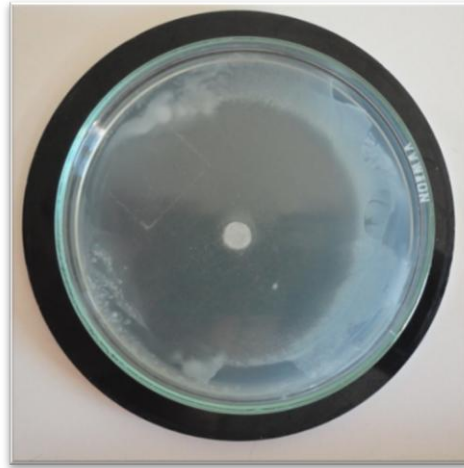
En aquest subapartat es mostra un exemple dels diversos cultius bacterians obtinguts en les successives sèmres d'una mateixa espècie bacteriana exposada a un mateix agent antimicrobià. Es tracta dels resultats obtinguts per al bacteri *Staphylococcus epidermidis* exposat a la mescla d'antibiòtics amoxicil·lina + àcid clavulànic obtinguts en l'experiència 3.

Com ja hem dit anteriorment, es tracta d'un cas idoni, en què es produeix una disminució successiva de l'halo d'inhibició. És a dir, es produeix un augment progressiu de la resistència dels bacteris a l'antibiòtic fins arribar a aconseguir una resistència absoluta a l'acció del producte antibacterià.

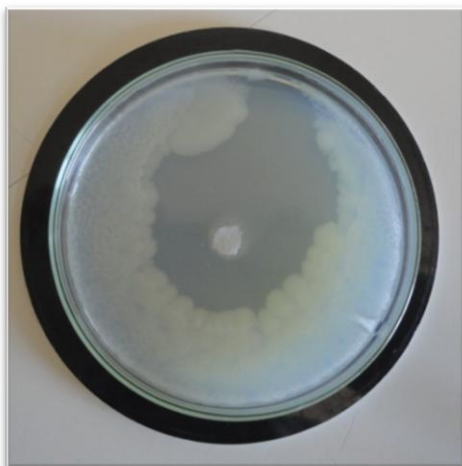
A continuació es mostren les fotografies realitzades de les diverses sèmres d'aquest cas que s'ha descrit.



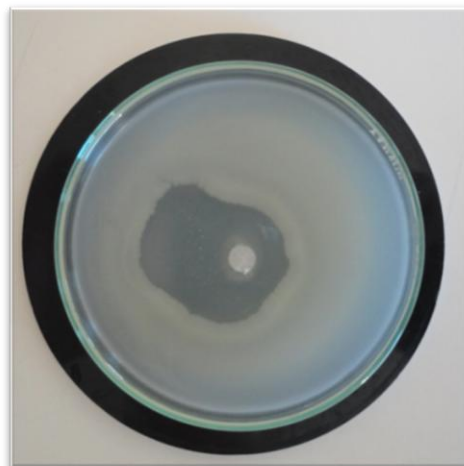
Il·lustració 26. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 1



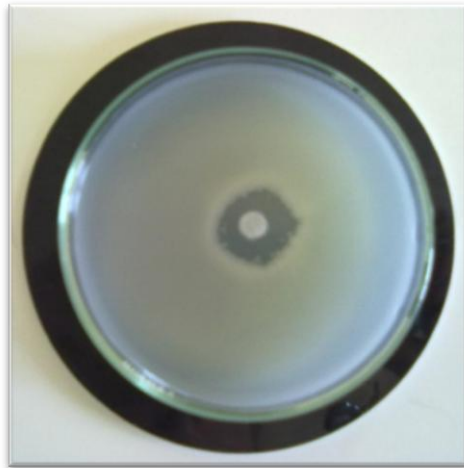
Il·lustració 27. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 2



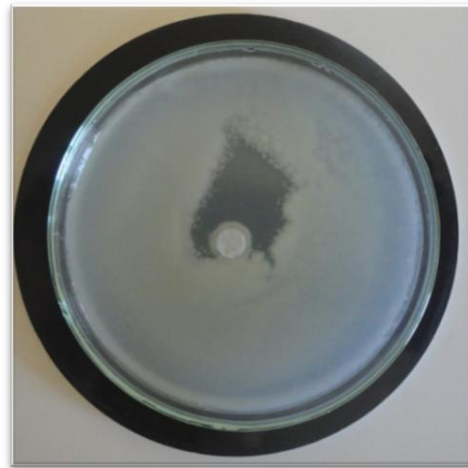
Il·lustració 28. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 3



Il·lustració 29. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 4



Il·lustració 30. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 5



Il·lustració 31. Cultiu de *Staphylococcus epidermidis* en un medi amb amoxicil·lina + àcid clavulànic. Sembra 6

S'observa que en la sembra 1 s'ha produït un desplaçament del disc impregnat amb el producte antibiòtic des del centre cap a un extrem. Això ha pogut ser causat per l'agitació excessiva de la placa de Petri, però no suposa cap impediment per al progrés de l'experiència. S'observa també que el producte antibacterià actua amb un gran èxit de resultats, ja que impedeix el creixement bacterià en pràcticament la totalitat del cultiu.

La sembra 2 ha estat realitzada a partir de la descendència per reproducció asexual dels bacteris més propers a l'halo d'inhibició i que, per tant, tenen una major probabilitat de ser resistents. Així doncs, s'observa que en el segon cultiu el diàmetre mitjà de l'halo d'inhibició disminueix respecte del de la sembra 1.

Aquesta disminució augmenta en les successives sembres, de manera que es pot deduir encertadament que cada cop hi ha més bacteris resistents a l'antibiòtic, és a dir, capaços de sobreviure a l'acció antibacteriana.

Cal destacar que en el cultiu 5 s'observa la presència de colònies de *Staphylococcus epidermidis* a l'interior de l'halo d'inhibició (vegeu la il·lustració 32). Aquestes colònies estan integrades per individus completament resistents a l'antibiòtic, ja que han estat capaços de desenvolupar-se en la zona d'actuació efectiva de l'antibacterià.

Finalment, és de vital importància descriure el cultiu de la sembra 6, ja que s'hi observa l'adquisició completa de resistència a l'antibiòtic per part dels bacteris. El cultiu, realitzat a partir de les colònies resistents del cultiu 5, mostra el creixement complet de bacteris per tot el voltant del disc, de manera que l'halo d'inhibició és nul. Malgrat tot, s'observa la falta de creixement en una zona de la placa, però no és pot considerar, ja que està separada del disc impregnat amb l'antibiòtic.



Il·lustració 32. Colònies de *Staphylococcus epidermidis*



7.7 Factors que han influït en els resultats

Com ja s'ha mencionat anteriorment, els resultats de l'experiència no han estat en tots els casos els més adequats. És una realitat habitual en la investigació de caire científic que els resultats perseguits amb els experiments empírics no s'aconsegueixen sempre a la primera. Moltes vegades no s'arriba a demostrar la hipòtesi formulada fins després d'anys d'investigació i de treball.

Malgrat tot, cal observar que els resultats d'aquesta experiència per a la demostració de l'existència de soques bacterianes resistents als antibiòtics no ha estat negatiu. A més, s'ha comprovat el risc que comporta el mal ús dels antibiòtics en l'increment de soques bacterianes resistents. Cal analitzar, però, els possibles factors que han influït negativament en el desenvolupament de l'experiència:

- L'experiència s'ha efectuat en un laboratori d'institut. No disposa, per tant, de les condicions asèptiques i d'esterilitat necessàries per al desenvolupament idoni d'un treball d'experimentació científica. A més, juga un altre factor en contra: es tracta de la impossibilitat de mantenir el material d'experimentació allunyat de persones que puguin alterar-ne el desenvolupament. Així doncs, durant l'experiència 3 va tenir lloc una incidència pel fet que la incubadora va ser desendollada.
- La caducitat dels antibiòtics. Tot i que s'han mantingut els productes antimicrobians a la nevera durant tot el temps de durada de cadascuna de les experiències, els productes presenten una data a partir de la qual els seus efectes ja no són els mateixos. Es tracta d'antibiòtics d'ús comú que s'han adquirit a la farmàcia i, per tant, tenen una durada màxima de 7 i 10 dies respectivament. Per tant, cal tenir en compte que sobrepassats aquests límits, l'efecte inhibitori disminueix.
- L'antiguitat dels bacteris. És un altre factor que cal tenir en compte, ja que tot i que quan estan a la incubadora a una temperatura idònia de 37°C els bacteris es reproduïxen, el temps que passen a la nevera (caps de setmana) les cèl·lules no es divideixen, i l'edat dels bacteris influeix en la capacitat de creixement de les colònies.



8. Enquesta

En la realització del treball s'ha considerat necessari la dur a terme una enquesta (vegeu l'annex 4) amb la finalitat principal de comprovar la relació que hi ha entre l'aparició de resistències bacterianes als antibiòtics i el mal ús que se'n fa. Així, s'ha volgut comprovar l'existència de greus problemes en la societat actual com són l'automedicació i la desinformació respecte als temes de la salut.

La població estudiada comprèn un total de 205 estudiants de secundària i batxillerat de l'institut de Flix, compresos en una franja d'edat que va des dels 11 fins als 18 anys. Cal tenir en compte que es tracta d'una població jove, que encara no ha assolit coneixements fermes i que les conclusions que es puguin extreure de l'enquesta no seran verídics per al total de la societat.

Les preguntes que s'han intentat respondre amb la realització d'aquesta enquesta són les següents:

- Quin és el grau de coneixement general que tenen els alumnes de l'institut de Flix dels antibiòtics?
- Saben els estudiants de secundària per a quins tipus de malalties són útils els antibiòtics?
- Es té un bon coneixement de la forma en què es prescriuen i de com s'han d'administrar els antibiòtics? En cas negatiu, existeix alguna relació entre la ignorància en l'ús dels antibiòtics i l'aparició de resistència bacterianes?
- És conscient la població dels efectes negatius que pot comportar el mal ús dels antibiòtics?
- Saben els adolescents com tractar les possibles restes d'un tractament amb antibiòtic?

8.1 Resultats de l'enquesta

Aquest apartat constitueix una interpretació de les dades obtingudes de l'enquesta. A partir dels resultats obtinguts, s'ha fet un tractament estadístic i gràfic per facilitar el comentari de les dades obtingudes en aquesta recerca. Cal destacar que determinades respostes de l'enquesta s'han considerat nul·les, ja sigui per manca de resposta o per l'estimació de la resposta com a contradictòria.

Tot seguit s'analitzen els gràfics realitzats, es descriuen els mètodes seguits per a l'execució d'aquests a partir de les preguntes fetes en l'enquesta i es comprova si les hipòtesis inicials es verifiquen o no.

8.1.1 Coneixement general dels antibiòtics com a medicaments utilitzats per a combatre infeccions bacterianes

Per a la realització d'aquest gràfic s'han considerat les preguntes de l'enquesta següents:

1. Què són els antibiòtics?

- a) Són medicaments que calmen el dolor.



- b) Són medicaments que ens prevenen de contraure determinades malalties.
- c) Són medicaments per combatre les malalties causades per virus.
- d) Són medicaments per combatre les malalties causades per bacteris.
- e) Són medicaments per combatre molèsties i dolors lleus.
- f) Són medicaments que disminueixen la funció del sistema nerviós.

6. Quines de les següents afeccions creieu que es poden tractar amb antibiòtics?

- | | |
|----------------------------|---------------------|
| a) Refredat | d) Infecció d'orina |
| b) Grip | e) Herpes |
| c) Faringitis, mal de gola | f) Acné |

9. Els antibiòtics s'han de prendre d'una forma pautaada?

- a) Sí, s'han de prendre a unes hores determinades.
- b) No, només s'han de prendre quan ens trobem malament, però no massa sovint.
- c) No, s'han de prendre sempre que ens trobem malament.
- d) No, s'ha de prendre una dosi determinada diària, però és indiferent el moment del dia.

Aquestes preguntes permeten analitzar si els enquestats saben que els antibiòtics són fàrmacs que s'utilitzen per combatre malalties o infeccions d'origen bacterià, que per tant només serveixen per tractar afeccions causades per aquest tipus de microorganismes (contra la grip, per exemple, no tenen cap tipus d'efecte, ja que és causada per un virus), i que, a diferència de la resta de fàrmacs d'ús comú, els antibiòtics s'han de prendre d'una forma pautaada, a unes hores concretes determinades pel metge.

Segons la rellevància de cadascuna d'aquestes preguntes i de la quantitat d'informació que ens permeten obtenir, s'ha determinat calcular una mitjana ponderada de cadascuna de les dades aportades per les preguntes anteriors. Així doncs, considerant el major pes que representa la pregunta 1, se li ha atorgat un valor de ponderació del 80% del total, considerant la resposta d) com un bon grau de coneixement, les respostes a), b), e) i f) com un grau de coneixement baix, i la resposta c), estimant que mostra un cert grau de coneixement per part de l'individu, tot i ignorar la gran diferència existent entre bacteri i virus, es considera que reflecteix un grau de coneixement força elevat tot i la presència d'una confusió important.

En el cas de la pregunta 6, s'ha fixat un valor de ponderació del 15%. Es tracta d'una pregunta en la qual diverses respostes són vàlides (3 respostes correctes i 3 respostes incorrectes); per tant, cal tenir en compte que un individu que coneix les tres respostes presenta un grau de coneixement superior que aquell qui només en coneix una, de la mateixa manera que aquell qui s'equivoca només en una de les respostes, té un nivell de coneixement superior que qui marca tres respostes errònies. Així doncs, es tracta d'una pregunta de difícil valoració. El criteri que s'ha seguit és el següent: les respostes que mostren un bon coneixement dels antibiòtics són c), d) i f), mentre que les respostes a), b) i e) denoten un mal grau de coneixement. Per tant, es consideren vàlides les respostes correctes marcades, i de les respostes incorrectes sense marcar se'n consideren vàlides una part. És a dir, si en el recompte de les enquestes s'ha determinat que de totes les respostes marcades 233 corresponen a respostes correctes, de les respostes incorrectes no marcades se'n consideren correctes també

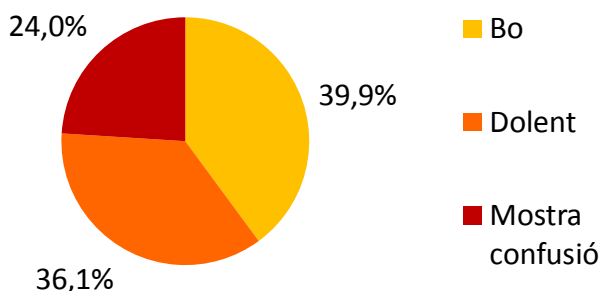


233. S'ha determinat aquest mètode pel fet que no es poden considerar totes correctes (s'estaria incrementant el grau de coneixement de la població enquestada), ni tampoc incorrectes.

Finalment, la pregunta 9 s'ha valorat amb un 5% degut al menor pes que representa en el conjunt total respecte al coneixement general dels antibiòtics. Es considera correcta la resposta a), i incorrectes les respostes b), c) i d).

Els resultats finals obtinguts es mostren en el gràfic següent, en el qual hi ha representats els diferents nivells de coneixement en percentatges:

Grau de coneixement dels antibiòtics



En aquest gràfic s'observa que gairebé dos terços de la població enquestada mostren un cert grau de coneixement sobre els antibiòtics, malgrat que gran part mostra confusió. Així doncs, tot i que són molts els qui coneixen que els antibiòtics s'utilitzen per combatre malalties causades per algun tipus d'agent microbià, el nombre de persones que realment tenen un coneixement bo d'aquests fàrmacs no arriba al 40%. A més, cal destacar que el percentatge d'alumnes que presenten un grau de coneixement vertaderament baix, proper a la ignorància, supera el 36%, que supera en excés el desitjable.

8.1.2 Coneixement referent a les malalties per a les quals són útils els antibiòtics

Per a l'anàlisi d'aquesta variable s'han tingut en compte les preguntes següents:

6. Quines de les següents afeccions creieu que es poden tractar amb antibiòtics?

- | | |
|----------------------------|---------------------|
| a) Refredat | d) Infecció d'orina |
| b) Grip | e) Herpes |
| c) Faringitis, mal de gola | f) Acné |

7. Marca amb una creu els medicaments que creus que tenen funció antibiòtica:

- | | |
|-----------------|------------------|
| a) Paracetamol | e) Aspirina |
| b) Ibuprofeno | f) Cloramfenicol |
| c) Penicil·lina | g) Bisolgrip |
| d) Cortisona | |

Amb aquestes preguntes podem determinar si l'alumnat coneix per a quines malalties tenen eficàcia els antibiòtics, és a dir, per al tractament de quines malalties poden ser



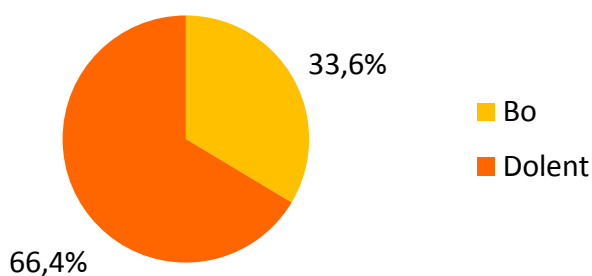
utilitzats, i si saben distingir entre alguns dels medicaments més comuns i els antibiòtics.

Novament, s'ha realitzat una mitjana ponderada. La raó radica en el fet que té més importància el fet de saber distingir quines malalties poden ser tractades amb antibiòtics i quines no, que saber detectar quins medicaments són antibiòtics. Cal tenir en compte que molts pacients només prenen l'antibiòtic perquè els ho prescriu el metge, i en rares ocasions s'aprèn el nom del fàrmac. Tot i això, es considera important el fet de saber que medicaments d'ús comú com el paracetamol, l'*Aspirina* i el *Bisolgrip* no són antibiòtics. Per tant, s'ha atorgat un valor del 75% a la pregunta 6, i del 25% a la pregunta 7.

En totes dues s'ha utilitzat el mètode d'extracció de resultats descrit per a la pregunta 6 del gràfic anterior (vegeu l'apartat 8.1.1), considerant correctes per a la pregunta 6 les respostes c), d) i f), i incorrectes les respostes a), b) i e); i per a la pregunta 7, donant per vàlides les respostes c) i f), i per invàlides les respostes a), b), d), e) i g).

En definitiva, s'ha aconseguit realitzar el gràfic següent, on es mostra el percentatge de població enquestada amb bon i mal coneixement de la utilitat dels antibiòtics respectivament:

Grau de coneixement de la utilitat



La importància d'aquest gràfic rau en el fet que mostra que només una petita part de la població corresponent a una tercera part coneix bé per a quines malalties tenen utilitat els antibiòtics i/o distingeix els antibiòtics de la resta de medicaments. La resta, més del 66% no sap identificar l'ús dels antibiòtics. Aquest elevat percentatge el podem justificar, d'una banda, pel fet que molta gent desconeix que només són útils per al tractament d'infeccions bacterianes o ho confon amb les infeccions víriques, fet que dóna suport als resultats del gràfic anterior; i de l'altra, perquè ignora la causa de les malalties de més freqüència en la societat actual.



8.1.3 Coneixement de la forma de prescripció i d'administració dels antibiòtics

Les preguntes de l'enquesta que són útils per a l'estudi d'aquesta variable són les següents:

3. L'última vegada que vas prendre antibiòtics, qui te'ls va receptar?
 - a) Farmacèutic
 - b) Metge
 - c) Pare o mare
 - d) Amic o familiar
 - e) Infermer
 - f) Tu mateix
4. Creus que passa res si es prenen antibiòtics sense que els recepti un metge?
 - a) Sí
 - b) No
5. Quant de temps aproximadament vas estar prenent l'antibiòtic?
 - a) Menys de 2 dies
 - b) De 3 a 5 dies
 - c) Entre 5 i 10 dies
 - d) Més de 10 dies
 - e) Els dies que va dir el metge
8. Si t'estàs prenent un antibiòtic i ja et trobes millor:
 - a) Deixes de prendre'n.
 - b) Continues prenent-ne fins que s'acaba la caixa.
- 8.1 Per què? (Tria una sola resposta)
 - a) Perquè prendre medicaments quan ja et trobes bé no és beneficiós per a l'organisme.
 - b) Perquè si els símptomes ja m'han desaparegut, vol dir que la malaltia no era tan greu i no cal.
 - c) Perquè cal acabar el tractament que ha receptat el metge per no generar resistències bacterianes.
 - d) Perquè si les caixes contenen una determinada dosi d'antibiòtic, si no, en posarien menys.
9. Els antibiòtics s'han de prendre d'una forma pautaada?
 - a) Sí, s'han de prendre a unes hores determinades.
 - b) No, només s'han de prendre quan ens trobem malament, però no massa sovint.
 - c) No, s'han de prendre sempre que ens trobem malament.
 - d) No, s'ha de prendre una dosi determinada diària, però és indiferent el moment del dia.

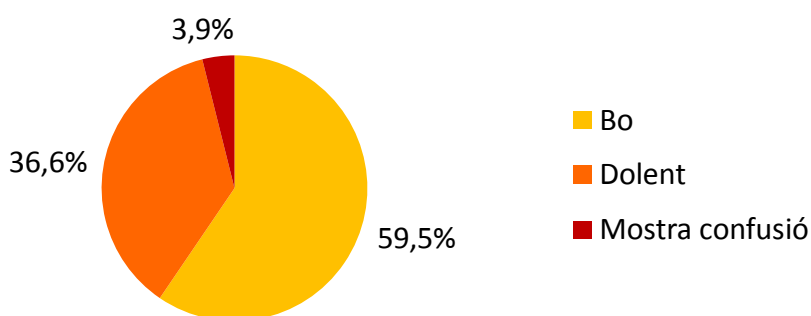
Aquestes preguntes fan referència al tipus de persona, professional de la medicina o no, que els enquestats consideren aptes per a la prescripció d'antibiòtics, així com també el temps que dura un tractament habitual i les mesures que prenen quan els símptomes de la malaltia comencen a desaparèixer després de començar el tractament. A més, també van encaminades a analitzar la forma com prenen els antibiòtics, és a dir, de forma pautaada i regular, o no.



De la mateixa manera que en els casos anteriors, s'ha establert un percentatge diferent a cada pregunta segons el pes que presenten. Així doncs, la pregunta 3 representa un 5% del total de les dades, considerant correctes les respostes b), c) i e). En un principi s'haurien donat per vàlides només les respostes corresponents a professionals de la medicina, però observant que alguns nens prenen antibiòtic seguint les ordres del pare, el qual ha rebut les instruccions del metge, s'ha decidit acceptar també aquesta resposta. En la pregunta 4, valorada amb un 5%, es considera bona la resposta a) i incorrecta, la b). En el cas de la pregunta 5, valorada amb un 5%, és correcta la resposta b), són incorrectes les respostes a), b) i d), i es valora amb un cert grau de confusió la resposta c), ja que la gran majoria dels tractaments amb antibiòtics tenen una durada d'uns 7-8 dies, tot i que l'individu que ha marcat aquesta resposta no en sap el motiu. Pel que fa a la pregunta 8, valorada amb un 30%, és correcta la resposta b) i incorrecta la resposta a). Aquesta pregunta té un pes més considerable degut a que permet extreure dades més rellevants en referència a l'administració adequada dels antibiòtics. La pregunta 8.1, molt relacionada amb l'anterior, també té un pes del 30%. En aquesta qüestió es considera que reflecteix un bon coneixement la resposta c), mostren un mal coneixement les respostes a) i b), i es qualifica de coneixement confús la resposta d), ja que és certa i mostra una determinada lògica, però no deixa clars els motius pels quals cal acabar de prendre la caixa d'antibiòtics. Finalment, la pregunta 9 representa el 25% restant, i es valora de manera positiva la resposta a), de manera negativa les respostes c) i d), i de manera intermèdia la resposta b), ja que la pregunta pot ser interpretada de manera que els antibiòtics no es poden prendre sempre, sinó només quan es presenten símptomes d'una determinada malaltia.

El gràfic que mostra els resultats obtinguts en aquests càlculs és el següent:

Grau de coneixement de la prescripció i l'administració



Observant el gràfic es pot determinar que prop del 60% de la població enquestada coneix bé que els antibiòtics han de ser prescrits pels professionals de la salut i/o que s'ha de seguir el tractament de forma pautaada fins a finalitzar-lo. Ara bé, un 36% de la població ho desconeix. Es tracta d'una xifra prou significativa que cal tenir en compte a l'hora d'extreure conclusions referents a l'aparició de resistències bacterianes (vegeu l'apartat 8.2). Tot i això, cal tenir en compte que la població enquestada correspon a alumnes de secundària i batxillerat: molts dels alumnes de 1r i 2n d'ESO no gaudeixen encara de coneixements suficients, però a la realitat la prescripció i l'administració, supervisada pels pares, sovint és la correcta.



8.1.4 Coneixement dels efectes negatius que comporta el mal ús dels antibiòtics a nivell individual i social

Les preguntes que permeten obtenir les dades necessàries per a la realització d'aquest gràfic són les següents:

8. Si t'estàs prenent un antibiòtic i ja et trobes millor:

- a) Deixes de prendre'n.
- b) Continues prenent-ne fins que s'acaba la caixa.

8.1 Per què? (Tria una sola resposta)

- a) Perquè prendre medicaments quan ja et trobes bé no és beneficiós per a l'organisme.
- b) Perquè si els símptomes ja m'han desaparegut, vol dir que la malaltia no era tan greu i no cal .
- c) Perquè cal acabar el tractament que ha receptat el metge per no generar resistències bacterianes.
- d) Perquè si les caixes contenen una determinada dosi d'antibiòtic, si no, en posarien menys.

11. Saps què pot passar si s'utilitzen antibiòtics de forma inadequada? Pots marcar més d'una possibilitat si ho consideres necessari.

- a) No passa res.
- b) Els antibiòtics deixaran de ser eficaços perquè els bacteris que hauran sobreviscut seran més forts.
- c) Els antibiòtics deixaran de ser eficaços perquè els virus que hauran sobreviscut seran més forts.
- d) La immunització respecte la malaltia determinada de la qual ens protegia l'antibiòtic deixarà de ser eficaç.
- e) Es produeix un deteriorament del nostre organisme a causa del consum de substàncies químiques innecessàries.

A través d'aquestes preguntes es pretén analitzar com s'utilitzen els antibiòtics i si els estudiants coneixen les repercussions que el mal ús dels mateixos comporta tant a nivell individual, és a dir, els efectes negatius sobre el propi organismes, com a nivell social, amb l'aparició de les tant preocupants resistències bacterianes.

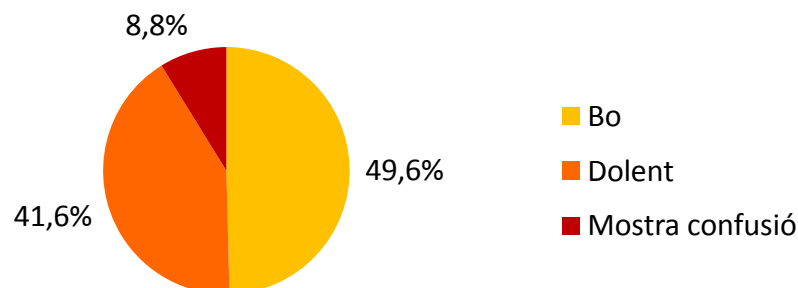
Procedint amb el mateix mètode que en els casos anteriors, s'ha realitzat una mitjana ponderada dels resultats de cadascuna de les preguntes de l'enquesta. La pregunta 8 s'ha valorat amb un 20%, considerant bona la resposta b) i dolenta la a). A la pregunta 8.1 se li ha atorgat un valor major, el 40%, ja que aporta una quantitat d'informació major sobre les conseqüències que l'enquestat considera que tenen els antibiòtics. En aquesta pregunta s'han donat per correctes i incorrectes les mateixes respostes que s'han considerat en la realització del gràfic anterior. Finalment, tot i el major pes que hauria de presentar la pregunta 11, que pregunta de forma directa sobre els efectes de l'ús inadequat dels antibiòtics, s'ha considerat atorgar-li igualment un 40% degut a la dificultat de la qüestió en sí. Així, es considera que reflecteixen un bon coneixement les respostes b) i e), un mal coneixement les respostes a) i d), i per a la resposta c) es



considera que l'individu mostra confusió, degut a la ignorància de la diferència existent entre els tipus de microorganismes.

Els resultats obtinguts es mostren en aquest gràfic, que mostra el grau de coneixement dels efectes negatius dels antibiòtics en forma de percentatges:

Grau de coneixement dels efectes negatius del mal ús



El gràfic mostra que prop del 50% de la població enquestada coneix les repercussions individuals i socials que comporta el mal ús dels antibiòtics, el qual és un percentatge considerable. Malgrat tot, la proporció d'individus que no coneix aquestes conseqüències negatives i que, per tant, és més propícia a l'administració errònia d'aquests fàrmacs, és força elevada, superant el 40% de la població total enquestada. Cal tenir en compte aquestes xifres a l'hora d'extreure conclusions referents a la relació que hi ha entre el mal ús dels antibiòtics i l'aparició de resistències bacterianes (vegeu l'apartat 8.2).

8.1.5 Coneixement del tractament de les possibles restes d'un tractament amb antibiòtics

Per a la realització d'aquest gràfic s'han tingut en compte la següent pregunta de l'enquesta:

10. Què en fas de les restes dels antibiòtics que no has pres?

- a) Els guardo a casa per una altra ocasió en què se'm presentin els mateixos símptomes.
- b) No tinc restes d'antibiòtics, sempre els acabo.
- c) Els retorno a la farmàcia.
- d) Els tiro a la brossa.

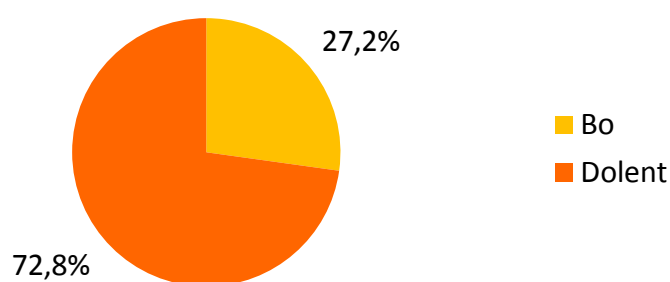
Aquesta pregunta va encaminada a posar de manifest dos aspectes de la població enquestada. D'una banda, revela si els alumnes saben que els antibiòtics, a diferència de medicaments d'ús comú com les *Aspirines*, no poden utilitzar-se quan l'individu ho considera necessari, sinó només quan ho prescriu un metge. Per tant, no es poden guardar en cap cas les restes d'antibiòtic d'un tractament determinat per a una altra ocasió en què apareixen símptomes similars. D'altra banda, la pregunta s'entén des d'un vessant ecològic i intenta estudiar si els estudiants coneixen que els medicaments, i per tant també els antibiòtics, no poden tirar-se a les escombraries, sinó que s'han de retornar a la farmàcia.



Així doncs, com que el gràfic s'ha realitzat a partir d'una única pregunta no ha estat necessari realitzar una mitjana ponderada. S'han considerat que mostren un bon coneixement del tractament de les restes d'antibiòtics les respostes b) i c), ja que la primera reflecteix que l'individu coneix que els tractaments antibiòtics sempre s'han de prendre fins a finalitzar-los, i la segona perquè algunes vegades es recreen caixes amb una quantitat d'antibiòtic superior a la prescrita pel metge, i les restes cal retornar-les a la farmàcia. En canvi, les respostes a) i d) reflecteixen un mal coneixement.

El grau de coneixement que mostra l'alumnat de l'institut de Flix en referència a aquesta variable es mostra en aquest gràfic:

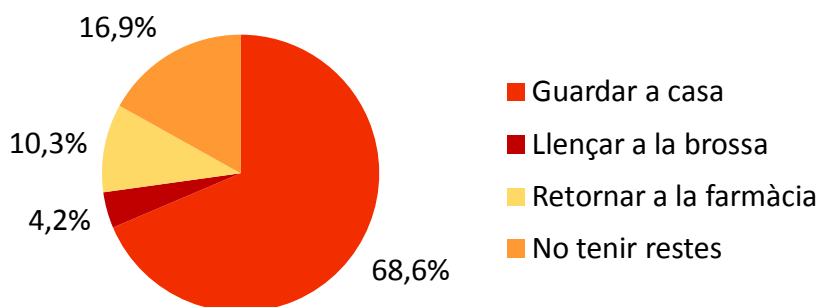
Grau de coneixement del tractament de les restes



Analitzant el gràfic ens adonem que el percentatge de població enquestada que coneix com tractar les restes d'antibiòtic és bastant baix, ja que amb prou feines supera el 27%. En canvi, més del 70% de la població mostra un desconeixement total de la variable estudiada, el qual supera en excés el percentatge esperat.

En el següent gràfic es mostren els motius del bon i el mal coneixement respectivament, fent referència als dos aspectes que es volien estudiar amb la formulació d'aquesta pregunta i que s'han esmentat anteriorment.

Tractament de les restes d'antibiòtics



A partir del gràfic s'observa que la major part de l'alumnat que desconeix com tractar les restes d'antibiòtic ignora la diferència de processament dels antibiòtics respecte la resta de fàrmacs habituals. En canvi, es relativament baix el percentatge d'alumnes que ignora l'aspecte ecològic del tractament de les restes de medicaments, ja que el tant per cent d'adolescents que creu que poden llançar-se a la brossa no arriba al 5%.



8.2 Anàlisi dels resultats

A partir dels resultats de l'enquesta es poden extreure diverses conclusions:

- El mal coneixement que la societat té dels antibiòtics, juntament amb la falta de consciència de la utilitat que tenen aquests productes i de l'ús que se n'ha de fer, és la causa principal utilitzar els antibiòtics de manera incorrecta i, a vegades, innecessària.
- El mal ús dels antibiòtics augmenta la pressió de selecció sobre els bacteris, és a dir, afavoreix la supervivència d'aquells bacteris capaços de persistir a l'acció antibiòtica a causa d'una mutació a l'atzar en la seva informació genètica. Per tant, es pot afirmar que l'ús inadequat dels antibiòtics és la causa més destacada de l'aparició de resistències bacterianes als antibiòtics.
- Cal conscienciar la població de la necessitat d'un ús racional dels antibiòtics i difondre la importància de seguir els tractaments antibiòtics amb la pauta que ha marcat el metge i no modificar-la en funció de la desaparició dels símptomes de la malaltia en tractament.
- L'ús indiscriminat dels antibiòtics posa en risc la seva eficàcia en el tractament de les infeccions bacterianes degut a que els bacteris poden arribar a ser insensibles a no només un antibiòtic, sinó diversos. Es tracta de les multiresistències bacterianes.
- Tot i que l'enquesta mostra l'ús incorrecte dels antibiòtics associat a aquells qui els prenen, en alguns casos és el metge qui prescriu el tractament inadequat. És el cas, per exemple, de les receptes d'antibiòtics per tractar refredats o la grip, malalties per les quals cal recordar que aquests medicaments no tenen cap efecte, ja que només són útils per combatre les infeccions bacterianes.



9. Conclusions

Els microorganismes es comuniquen mitjançant un “llenguatge químic”, és a dir, secretant compostos que inhibeixen el creixement d’altres espècies. D’aquests compostos, els antibiòtics són els més ben coneguts i tenen preeminència perquè s’utilitzen en el tractament de malalties de l’ésser humà i d’animals.

Després de realitzar aquest treball, puc arribar a constatar que l’ús d’antibiòtics ha suposat un indiscutible avenç en la lluita contra els bacteris patògens. Només cal observar la disminució de la mortalitat a causa de malalties infeccioses que s’ha produït des de l’aparició d’aquests fàrmacs. Un exemple n’és la tuberculosi, una malaltia infecciosa causada per un bacteri que, fa només tres segles era una de les causes principals de mortalitat a Europa. A partir del segle XIX, a causa de l’aparició dels tractaments antimicrobians, s’han aconseguit remeis “finals” contra aquestes malalties. Cal tenir en compte, però, que ens referim sempre al món occidental, és a dir, als països desenvolupats, que és on s’han difós majoritàriament aquests fàrmacs i on tothom pot accedir-hi amb facilitat. Als països subdesenvolupats, l’accessibilitat als antibiòtics és molt costosa, i per això aquestes malalties continuen sent altament mortíferes.

A més, cal afegir, com hem vist, que els bacteris han estat capaços de desenvolupar resistències als antibiòtics, de manera que poden arribar a convertir-los en productes completament ineficaços. Com a conseqüència, s’ha observat la reaparició de malalties aparentment eradicades als països occidentals.

És per això que és tan significant la recerca i la investigació científica en laboratoris, per tal d’avançar en el coneixement dels mecanismes d’actuació dels microorganismes i aconseguir desenvolupar una forma permanent de fer front a les malalties que ens provoquen.

Al llarg del treball s’ha intentat explicar, en un primer moment, què són i com actuen els antibiòtics per combatre les infeccions bacterianes. La part pràctica, però, pretenia demostrar que els bacteris són capaços d’adquirir resistència als antibiòtics i que el mal ús d’aquests fàrmacs propícia la ràpida aparició de soques resistents. L’estudi portat a terme revela que, efectivament, els bacteris més aptes poden ser seleccionats durant successius cultius fins aconseguir aïllar una soca bacteriana per la qual els antibiòtics no tenen cap tipus d’efecte perjudicial.

D’aquest treball, però, també es desprenen altres conclusions importants. És el cas de la comprovació que existeixen productes capaços d’inhibir el creixement bacterià i que no són productes antibiòtics. És el cas de l’alcohol de farmàcia, el mecanisme d’acció antimicrobià del qual radica en la seva capacitat de desnaturalitzar les proteïnes. Això explica per què es poden desinfectar les ferides amb alcohol i per què el constituent essencial de molts productes antisèptics és l’alcohol, ja sigui etanol, isopropanol o n-propanol.

Ara bé, a part de demostrar que els bacteris poden fer-se resistents als antibiòtics, la qual cosa ja es coneix des de fa molts anys, aquesta recerca pretenia demostrar la importància d’utilitzar adequadament els antibiòtics per reduir l’aparició de resistències. I dic reduir perquè és impossible evitar que apareixen bacteris resistents, forma part dels seu procés d’adaptació. Tots els éssers vius, inclosos els bacteris, que



no són una excepció, estan sotmesos al procés de selecció natural. Per tant, no es pot impedir l'aparició de mutants resistents; però el que sí es pot fer és minimitzar-la a través de l'eliminació de tots i cadascun dels bacteris causants d'una malaltia infecció. Això desemboca en la importància de seguir el tractament d'un antibiòtic amb la pauta que marca el metge i no modificar-la en funció de la desaparició dels símptomes, ja que tot i que els símptomes hagin minvat, cal acabar amb tots els bacteris causants de la malaltia.

Amb la realització de l'enquesta s'ha pogut comprovar que el desconeixement dels antibiòtics per part de la població i el conseqüent mal ús són evidents. Per tant, cal portar a terme una conscienciació de la societat sobre com d'importants són aquestes substàncies. Només d'aquesta manera es podrà allargar la vida útil dels antibiòtics, evitant així una major aparició de soques resistents. Cal incidir en la importància dels antibiòtics a nivell mèdic i en el fet que per al descobriment d'un nou antibiòtic que pugui substituir a un d'anterior que s'hagi convertit en inservible, calen anys d'investigació científica i una gran inversió econòmica. Aquesta conscienciació ha de començar en l'educació i ha de permetre arribar a totes les persones que sigui possible.

Cal dir que el treball deixa línies de recerca obertes per a altres possibles estudis. Utilitzant la introducció teòrica i el mètode d'experimentació del present treball com a base, es pot realitzar un estudi dels diferents bacteris que han desenvolupat resistència als diversos antibiòtics actuals. D'aquesta manera es podrà saber la situació actual en què es troben aquests fàrmacs, i per al combat de quins bacteris determinats cal enfocar la investigació dels nous productes antibiòtics.

Pel que fa a l'enquesta, s'ha realitzat a una població jove en edat escolar. Per conèixer millor el coneixement que té la societat dels antibiòtics i l'ús que se'n fa, resta obert un possible estudi més profund efectuant aquesta mateixa enquesta a un sector de la població més ampli. Així doncs, després d'analitzar-ne els resultats pertinents per franges d'edat i sectors diferents de població, es podrà comprovar quins són els col·lectius socials que mostren un grau de desconeixement més important i sobre el qual caldrà actuar per tal de millorar l'ús dels antibiòtics i frenar l'aparició de resistències bacterianes.

A nivell personal, la realització d'aquest treball m'ha permet aprendre molt i aprofundir en un món molt més interessant del que pot semblar a simple vista. A més, em sento orgullosa d'haver realitzat el treball de camp, ja que tot i el temps que hi he hagut de dedicar i les dificultats que he hagut de superar, els resultats obtinguts han fet que hagi valgut la pena. En conjunt, ha estat una experiència molt positiva en tots els àmbits, on l'esforç, la perseverança i la paciència han estat presents en tot moment.

Finalment, m'agradaria dir que la investigació, amb el seu esforç i treball diari, ens permet fer front a les diverses dificultats amb les quals ens anem topant, ja sigui de tipus mèdic, tecnològic o social. Per tant, des d'aquí vull lloar la feina que realitzen tots els investigadors en les universitats, els instituts d'investigació i els centres hospitalaris i que passa desapercebuda als ulls de moltes persones.



10. Bibliografia

Llibres i monografies

- AQUIAHUATL RAMOS, María de los Angeles; PÉREZ CHABELA, María de Lourdes. *Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general*. Mèxic: Universidad Autonoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, 2004. 117 pàgines. ISBN-970-31-0141-0 (http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf)
- ARENAL, Francisco [et al.]. *Biología al alcance de todos*. 2a ed. Madrid: Pearson Educación, 2008. 309 pàgines. ISBN-978-84-205-5012-1
- ASTIASARÁN, Iciar; MARTÍNEZ, Alfredo J. *Alimentos: Composición y Propiedades*. 2a ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2003. 364 pàgines. ISBN-84-486-0305-2
- BROCK, Thomas D. *Biología de los microorganismos*. 2a ed. Barcelona: Ediciones Omega, S.A., 1978. 774 pàgines. ISBN-84-282-0328-8
- FERNÁNDEZ DEL BARRIO, Maria Teresa; GARCÍA MARTOS, Pedro; PAREDES SALIDO, Fernando. *Microbiología Clínica Práctica*. 2a ed. Cadis: Imprenta Repeteo, 1994. 489 pàgines. ISBN-84-7786-205-2 (http://books.google.es/books?id=4N8qVKckrUUC&pg=PA56&dq=medio+de+cultivo&hl=ca&ei=0e5ITsaHHMOg4gSTuliqCg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=8&ved=0CE4Q6AEwBw#v=onepage&q&f=false)
- FERNÁNDEZ RIVERÓN, Fernando [et al.]. *Resistencia bacteriana*. Ciudad de La Habana, Cuba: Revista Cubana de Medicina Militar, 2003, p. 44-48. (http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol32_1_03/mil07103.pdf)
- GARCÍA, Aurora; REBOLLO, Montserrat; NAVARRO, Ferran. "Difusió de la resistència als antimicrobians. Diferents camins amb un mateix final". *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*. Vol 55: Antimicrobians. Barcelona: Joaquim Ruiz ed., 2004, p. 29-48. (<http://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000028/00000004.pdf>)
- GARZA VELASCO, Raúl [et al.]. *Estreptograminas: un modelo interesante para hacerle frente a la resistencia bacteriana*. (http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/v19-estreptograminas_-_un_modelo_interesante_para_hacerle_frente_a_la_resistencia_bacteriana.pdf)
- GUITART, Raimon. "Un recorregut per la toxicologia i el món que l'envolta". *Tòxics, verins, drogues i contaminants*. Vol 1. Bellaterra: Universitat Autònoma de Barcelona, Servei de Publicacions, 2008. 169 pàgines. ISBN-978-84-490-2551-8 (http://books.google.es/books?id=pAL36NY50YkC&pg=PA115&dq=mecanismos+d'acci%C3%B3+antibi%C3%B2tics&hl=ca&ei=jTpqTsbIJ8r0-gbAmv3NBA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CC4Q6AEwAQ#v=onepage&q=mecanismos%20d'acci%C3%B3+antibi%C3%B2tics&f=false)
- HERRERA, Joaquín. *Manual de Farmacia Clínica y Atención Farmacéutica*. Madrid: Gráficas Muriel, S.A. 502 pàgines. ISBN-84-8174-658-4
- INGRAHAM, John L.; INGRAHAM, Catherine A. *Introducció a la microbiologia*. Barcelona: EDITORIAL REVERTÉ, S.A., 1999. 296 pàgines. ISBN-84-291-1866-7



- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Microorganismos de los alimentos 6: ecología microbiana de los productos alimentarios*. Saragossa: Acribia, 2000. 608 pàgines. ISBN- 978-84-2000-934-6
- JIMENO, Antonio; BALLESTEROS, Manuel. *Biología 2 batxillerat*. Barcelona: Grup Promotor / Santillana Educación, S.L., 2009. 303 pàgines. ISBN-974-84-7918-349-3
- MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; PARKER, Jack. *Brock. Biología de los microorganismos*. 10a ed. Madrid: Pearson Educación, 2004. 986 pàgines. ISBN-84-896-6036-0
- MARCO, Francesc. "Resistència bacteriana. Aspectes generals". *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*. Vol 55: Antimicrobians. Barcelona: Joaquim Ruiz ed., 2004, p. 11-18.
(<http://www.iecat.net/pperiodiques/openlink.asp?URL=ShowArticleFile.asp?FileID={061E8BFD-9B3A-4D1D-9122-CF27650209AA}&FileType=application/pdf>)
- Microbiología y Parasitología Médica*. 2a ed. Barcelona: MASSON, S.A., 1987. 889 pàgines. ISBN-84-458-0060-4
- MURRAY, Patrick; ROSENTHAL, Ken; PFALLER, Michael. *Microbiología médica*. 6a edició. Barcelona: Ed. Elsevier España, S.L., 2009. 948 pàgines. ISBN-978-84-8086-465-7
(http://books.google.es/books?id=GZ1-JI9AmI8C&pg=PA251&dq=bacillus+cereus&hl=es&ei=gH9bTuf5AeTb4QSzh8GsBQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CDQQ6AEwAQ#v=snippet&q=bacillus%20cereus&f=false)
- NEGRONI, Marta. *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2a ed. Buenos Aires: Editorial médica Panamericana, 2009. 639 pàgines. ISBN-978-950-06-1584-6
(http://books.google.es/books?id=Gxmui-vjZBgC&pg=PA131&dq=mecanismos+de+accion+antibioticos&hl=ca&ei=_EtqTvawDsyd-wa4uJXzBA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=10&ved=0CF0Q6AEwCQ#v=onepage&q&f=false)
- OLIVEIRA, Inés M. "Terapèutica antiparasitària". *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*. Vol 55: Antimicrobians. Barcelona: Joaquim Ruiz ed., 2004, p. 213-229.
(<http://publicacions.iec.cat/Front/repository/pdf/00000028/00000011.pdf>)
- PIGRAU, Carlos. "Oxazolidinonas y glucopéptidos". *Formación médica continuada*. Barcelona: Servei de Malalties Infeccioses. Hospital Universitari Vall Hebron, 2003, p. 157-165.
(http://external.elsevier.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n03a13043577pdf001.pdf)
- ROMERO CABELLO, Raúl. *Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*. 3a ed. Mèxic: Editorial médica Panamericana, 2007. 1725 pàgines. ISBN-978-968-9788-48-1
(http://books.google.es/books?id=Wv026CUhR6YC&pg=PA993&dq=microbiologia+medica&source=gb_s_selected_pages&cad=3#v=onepage&q=staphilococcus%20epidermidis&f=false)



RUIZ, Joaquim. "Presentació. Antimicrobians: des d'abans de 1929 fins ara". *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*. Vol 55: Antimicrobians. Barcelona: Joaquim Ruiz ed., 2004, p. 7-8.

(<http://www.iecat.net/pperiodiques/openlink.asp?URL=ShowArticleFile.asp?FileID={5E8F4857-C926-40F5-90E6-C01559FB2BA4}&FileType=application/pdf>)

SCHAECHTER, Moselio; INGRAHAM, John L.; NEIDHARDT, Frederick C. *Microorganismes*. Barcelona: EDITORIAL REVERTÉ, S.A., 2008. 536 pàgines. ISBN-978-84-291-1860-5

SPICER, W. John. *Microbiología clínica y enfermedades infecciosas*. Barcelona: Ed. Elsevier España, S.L., 2009. 251 pàgines. ISBN-978-84-8086-425-1

(http://books.google.es/books?id=BqVq_VbdZdwC&pg=PA39&dq=microbiologia+medica+bacillus+cereus&hl=es&ei=LolbTrCzLoeDOo7L8dMH&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=7&ved=0CFIQ6AEwBg#v=onepage&q=staphilococcus%20epi-dermidis&f=false)

Publicacions periòdiques

BELLO, Jorge. "Cent anys d'antibiòtics". *Última Hora Menorca*. Dilluns, 4 de maig de 2009, pàgina 13

Documents electrònics

CALVO, Jorge a, Luis Martínez Martínez. *Mecanismos de acción de los antimicrobianos*. [Fitxer informàtic]. Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Marqués de Vladecilla, Santander, Espanya. Document de Microsoft Office Word.

TRIAS I PUJOL, Germans. *Els antimicrobians* [Fitxer informàtic]. UAB Facultat de Medicina: Centre de recursos docents. Matèria: Microbiologia. PDF (clon.uab.es/recursos/descargar.asp?clau='0000001157')

UBM Médica Spain, S.A. *Vademecum* [en línia]. Presentació, composició i principals indicacions de principis actius. Disponible a la web:

http://www.vademecum.es/principios-activos-a_1

També s'han consultat les pàgines web següents:

<http://www.infermeravirtual.com/ca-es>

<http://www.ca.wikipedia.org>

<http://www.enciclopedia.cat>

<http://www.diccionari.cat>

<http://dlc.iec.cat>



11. Annexos

11.1 Annex 1. Classificació dels antibacterians

Estructura química	Betalactàmics Aminoglicòsids Glicopèptids Rifamicines Nitroimidazoles Estreptogramines	Macròlids Ketòlids Polipèptids Tetraciclins Nitrofurans Oxazolidinones	Quinolones Lincosamides Anfenicols Sulfamides Trimetoprim
Mecanisme d'acció	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibidors de la síntesi d'àcids nucleics Nitroimidazoles, nitrofurans, quinolones i rifamicines. - Interfereixen en la síntesi de proteïnes Aminoglicòsids, tetraciclins, anfenicols, macròlids, ketòlids, lincosamides, estreptogramines i oxazolidinones. - Alteren la funció de la membrana citoplasmàtica Polipèptids - Inhibidors de la síntesi del pèptidglicà de la paret bacteriana Glicopèptids i betalactàmics. - Inhibidors de la síntesi de cofactors metabòlics Sulfamides i trimetoprim - Inhibidors d'enzims inactivadors d'antibiòtics Inhibidors de les betalactamases (àcid clavulànic, sulbactam i tazobactam). 		
Espectre d'activitat	<ul style="list-style-type: none"> - Ampli espectre - Espectre reduït 		
Efecte antimicrobià	<ul style="list-style-type: none"> - Bactericides - Bacteriostàtics 		



Betalactàmics	Penicil·lines (penemes)	I. Penicil·lines naturals	Penicil·lina G Penicil·lina V Feneticilina
		II. Penicil·lines resistents a la penicilinasa	Meticilina Oxacilina Cloxacilina
		III. Aminopenicil·lines	Amoxicilina Ampicilina Bacampicilina Ampicilina/sulbactam Amoxicilina/àcid clavulànic
		IV. Carboxipenicil·lines	Carbenicilina Ticarcilina Ticarcilina/àcid clavulànic
		V. Ureidopenicil·lines	Azlocilina Mezlocilina Pipercilina Pipercilina/tazobactam
	Cefalosporines (cefemes)	Primera generació	Cefalotina Cefazolina Cefapirina Cefalexina Cefradina Cefadroxil
		Segona generació	Cefaclor Cefuroxima Cefuroxima-axetil Cefamandol Cefonicid
		Tercera generació	Cefixima Cefatoxima Ceftriaxona Moxalactam Ceftibutè Ceftizoxima Ceftazidima
		Quarta generació	Cefepima Cefpiroma
	Cefamicines	Cefokitina Cefmetazol Cefminox	
	Carbepanems	Imipenem Faropenem Meropenem	



		Ertapenem
	Monobactàmics	Aztreonam
Aminoglicòsids	Aminoglicòsids	Amikacina Estreptomicina Gentamicina Kanamicina Neomicina Netilmicina Paromomicina Tobramicina
	Aminociclitoles	Espectinomicina
Anfenicols	Cloramfenicol Tianfenicol	
Glicopèptids	Vancomicina Teicoplanina	
Lincosamides	Clindamicina Lincomicina	
Macròlids	14 àtoms	Eritromicina Roxitromicina Claritromicina Diritromicina Telitromicina
	15 àtoms	Azitromicina
	16 àtoms	Espiramicina Josamicina Diacetil-midecamicina
Ketòlids		
Estreptogramines		
Oxazolidinones		
Nitrofurans		
Nitroimidazoles	Metronidazol Ornidazol Tinidazol	
Polipèptids	Bacitracina Colistina Polimixina B	
Quinolones	1a Generació	Àcid nalidíxic Àcid oxolínic Àcid pipmídric Cinoxacin Rosoxacin
	2a Generació	Norfloxacin Enoxacin Pefloxacin Ciprofloxacina Ofloxacin



	3a Generació	Levofloxacin Esparfloxacin Gemifloxacin Grepafloxacin	
	4a Generació	Trovafoxacin Gatifloxacin Moxifloxacin	
Rifamicines	Rifampicina Rifabutina		
Sulfamides	Ús tòpic a la pell i a les mucoses	Sulfacetamida Sulfadiazina argéntica	
	Absorbibles per via oral	Eliminació molt ràpida (< 4h)	Sulfisoxazol Sulfacarbamida Sulfatiourea
		Eliminació ràpida (6-7h)	Sulfatiazol Sulfapiridina
		Eliminació lenta (11-18h)	Sulfametoxazol Sulfadizina
		Sulfamides retardades (24-60h)	Sulfapirina
		Sulfamides ultrarretardades (> 60h)	Sulfadoxina
	Parcialment absorbibles	Salazopirina Sulfasalazina	
Trimetoprim			
Tetraciclins	T. de vida mitja curta	Tetraciclina Oxitetraciclina Clortetraciclina	
	T. de vida intermitja	Demeclociclina	
	T. de vida mitja llarga	Doxiciclina Minociclina	



11.2 Annex 2. Calendari del treball de camp

● ● ● | Juny 2011

dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	Ds.	Dg.
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20 Inici 1a experiència - Sembra 1 - Incubació	21 - Observació sembra 1 - Isolació 1 - Incubació	22 - Sembra 2 - Incubació	23 - Observació sembra 2 Final 1a experiència	24	25	26
27 Inici 2a experiència - Sembra 1 - Incubació	28 - Observació sembra 1 - Isolació 1 - Incubació	29 - Sembra 2 - Incubació	30 - Observació sembra 2 - Isolació 2 - Nevera			


Juliol 2011

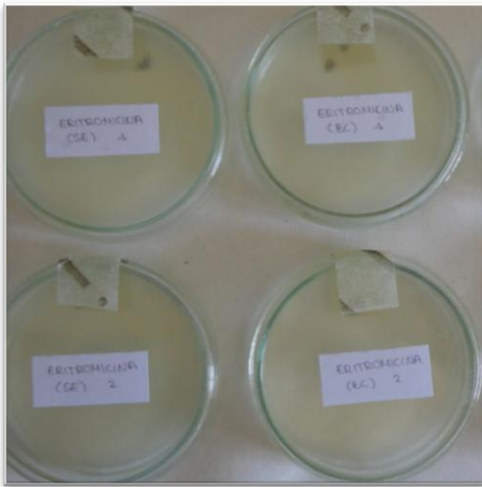
dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	Ds.	Dg.
				1	2	3
4 - Incubació	5 - Sembra 3	6 - Observació sempre 3 Final 2a experiència	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31


Octubre 2011

dilluns	dimarts	dimecres	dijous	divendres	Ds.	Dg.
					1	2
3 Inici 3a experiència - Sembra 1 - Incubació	4 - Observació sembra 1 - Isolació 1 - Incubació	5 - Sembra 2 - Incubació	6 - Observació sembra 2 - Isolació 2 - Incubació	7 - Nevera	8	9
10 - Sembra 3 - Incubació	11 - Observació sembra 3 - Isolació 3 - Incubació	12 - Sembra 4 - Incubació	13 - Observació sembra 4 - Isolació 4 - Incubació	14 - Nevera	15	16
17 - Sembra 5 - Incubació	18 - Observació sembra 5 - Isolació 5 - Incubació	19 - Sembra 6 - Incubació	20 - Observació sembra 6 Final 3a experiència	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31						



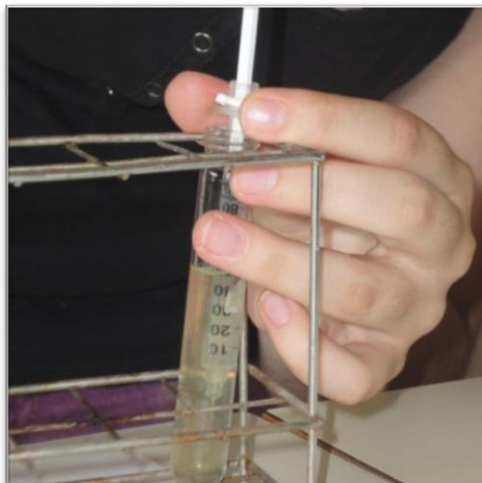
11.3 Annex 3. Fotografies del procediment de l'experiència



Etiquetatge de les plaques de Petri



Cultius líquids mare



Mesurament d'1,3 ml de cultiu líquid



Sembra dels bacteris



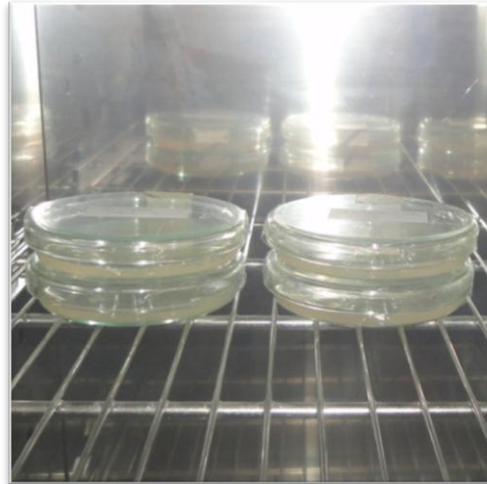
Impregnació dels discos amb producte antimicrobià



Aplicació del disc sobre el cultiu bacterià



Segellament de les plaques amb cinta adhesiva



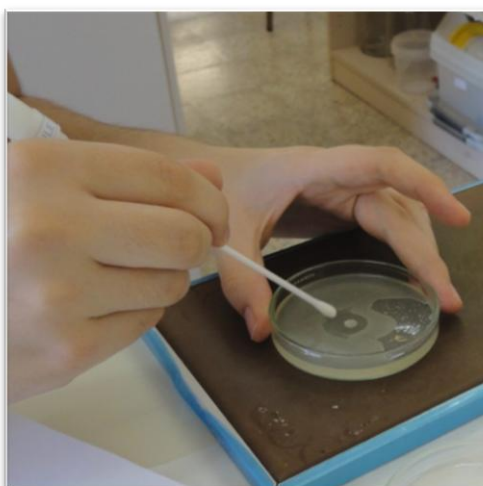
Incubació de les plaques durant 24 h



Temperatura de la incubadora: 37°C



Mesurament de la zona d'inhibició



Presa dels bacteris més resistents



Transferència dels bacteris al cultiu líquid net



Incubació dels tubs amb els cultius durant 24h a 27°C



Encenedor d'alcohol per evitar la contaminació dels cultius i riscos per a la salut durant el procés



11.4 Annex 4. Model de l'enquesta

Edat:

Sexe: ☐ Masculí
☐ Femení

1. Què són els antibiòtics?

- ☐ Són medicaments que calmen el dolor.
- ☐ Són medicaments que ens prevenen de contraure determinades malalties.
- ☐ Són medicaments per combatre les malalties causades per virus.
- ☐ Són medicaments per combatre les malalties causades per bacteris.
- ☐ Són medicaments per combatre molèsties i dolors lleus.
- ☐ Són medicaments que disminueixen la funció del sistema nerviós.

2. N'has pres alguna vegada?

- ☐ Sí
- ☐ No

3. L'última vegada que vas prendre antibiòtics, qui te'ls va receptar?

- | | |
|--------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Farmacèutic | <input type="checkbox"/> Amic o familiar |
| <input type="checkbox"/> Metge | <input type="checkbox"/> Infermer |
| <input type="checkbox"/> Pare o mare | <input type="checkbox"/> Tu mateix |

4. Creus que passa res si es prenen antibiòtics sense que els recepti un metge?

- ☐ Sí
- ☐ No

5. Quant de temps aproximadament vas estar prenent l'antibiòtic?

- ☐ Menys de 2 dies
- ☐ De 3 a 5 dies
- ☐ Entre 5 i 10 dies
- ☐ Més de 10 dies
- ☐ Els dies que va dir el metge

6. Quines de les següents afeccions creieu que es poden tractar amb antibiòtics?

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Refredat | <input type="checkbox"/> Infecció d'orina |
| <input type="checkbox"/> Grip | <input type="checkbox"/> Herpes |
| <input type="checkbox"/> Faringitis, mal de gola | <input type="checkbox"/> Acné |



7. Marca amb una creu els medicaments que creus que tenen funció antibiòtica:

- | | |
|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Paracetamol | <input type="checkbox"/> Aspirina |
| <input type="checkbox"/> Ibuprofeno | <input type="checkbox"/> Cloramfenicol |
| <input type="checkbox"/> Penicil·lina | <input type="checkbox"/> Bisolgrip |
| <input type="checkbox"/> Cortisona | |

8. Si t'estàs prenent un antibiòtic i ja et trobes millor:

- ☐ Deixes de prendre'n.
- ☐ Continues prenent-ne fins que s'acaba la caixa.

8.1 Per què? (Tria una sola resposta)

- ☐ Perquè prendre medicaments quan ja et trobes bé no és beneficiós per a l'organisme.
- ☐ Perquè si els símptomes ja m'han desaparegut, vol dir que la malaltia no era tan greu i no cal
- ☐ Perquè cal acabar el tractament que ha receptat el metge per no generar resistències bacterianes.
- ☐ Perquè si les caixes contenen una determinada dosi d'antibiòtic, si no, en posarien menys.

9. Els antibiòtics s'han de prendre d'una forma pautaada?

- ☐ Sí, s'han de prendre a unes hores determinades.
- ☐ No, només s'han de prendre quan ens trobem malament, però no massa sovint.
- ☐ No, s'han de prendre sempre que ens trobem malament.
- ☐ No, s'ha de prendre una dosi determinada diària, però és indiferent el moment del dia.

10. Què en fas de les restes dels antibiòtics que no has pres?

- ☐ Els guardo a casa per una altra ocasió en què se'm presentin els mateixos símptomes.
- ☐ No tinc restes d'antibiòtics, sempre els acabo.
- ☐ Els retorno a la farmàcia.
- ☐ Els tiro a la brossa.

11. Saps què pot passar si s'utilitzen antibiòtics de forma inadequada? Pots marcar més d'una possibilitat si ho consideres necessari.

- ☐ No passa res.
- ☐ Els antibiòtics deixaran de ser eficaços perquè els bacteris que hauran sobreviscut seran més forts.
- ☐ Els antibiòtics deixaran de ser eficaços perquè els virus que hauran sobreviscut seran més forts.
- ☐ La immunització respecte la malaltia determinada de la qual ens protegia l'antibiòtic deixarà de ser eficaç.
- ☐ Es produeix un deteriorament del nostre organisme a causa del consum de substàncies químiques innecessàries.