

ANTIBIÒTICS NATURALS I SINTÈTICS.
COMPARACIÓ DEL SEU EFECTE
EN BACTERIS PATÒGENS

2n Batxillerat

Pseudònim: Estel Roig

AGRAÏMENTS

Un treball de recerca és una feina complexa que requereix fer atenció a molts fronts. He tingut la sort de comptar amb un ampli ventall de professionals que m'han brindat la seva ajuda, cadascun en l'àmbit en què és expert. A tots ells els vull agrair la seva implicació desinteressada a compartir els seus coneixements.

L'Olga Fullana, doctora en Filologia Catalana, ha contribuït a focalitzar el treball i a proporcionar-me els contactes per tal de centrar en matèria. També li he d'agrair la revisió lingüística del text definitiu.

Mitjançant el programa Argó de la Universitat Autònoma de Barcelona he comptat amb la col·laboració d'el tutor que m'ha estat assignat, a través del qual he contactat amb una catedràtica de Sanitat Animal de la UAB. Aquesta professora m'ha iniciat en les tècniques de laboratori necessàries per dur a terme la meva recerca. Durant la realització al laboratori de l'antibiograma i de l'espectrofotometria he comptat amb el consell experimentat d'una col·laboradora de l'equip, graduada en Veterinària.

L'entrevista amb el doctor en bioquímica Alberto Moreno, coordinador del Departament d'I+D de l'empresa HIPRA, m'ha servit per introduir-me en el món més tècnic de la veterinària, així com per delimitar l'abast del meu treball.

El veterinari especialista en bioseguretat en la ramaderia Eduard González m'ha mostrat el vessant més pràctic de la seva feina i m'ha permès relacionar-lo amb la fonamentació teòrica de la recerca.

La meva professora de biologia, i tutora del meu treball de recerca, me n'ha fet el seguiment i ha anat corregint amb rigor cada fase del treball. Vull agrair-li especialment la disponibilitat i la dedicació que ha tingut en tot moment.

Finalment, el treball de recerca ha estat tema de conversa en molts dinars familiars, en què tothom s'hi ha interessat i m'ha donat idees. La família també m'ha donat alguna empenta en moments de baixa productivitat i ha estat sempre al meu costat.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	1
OBJECTIUS PRINCIPALS	2
HIPÒTESI	2
MARC TEÒRIC	3
1. BACTERIS	4
1.1. Què són els bacteris?.....	4
1.2. Descobriment dels bacteris	5
1.3. Estructura bacteriana	5
1.4. Mida i morfologia	8
1.5. Bacteris patògens	9
1.6. Bacteris utilitzats en els experiments realitzats	11
2. ELS ANTIBIÒTICS	16
2.1. Què són els antibiòtics?.....	16
2.2. Mecanismes d'acció dels antibiòtics	17
3. RESISTÈNCIA ALS ANTIBIÒTICS	20
3.1. Tipus de resistències.....	20
3.2. Modificació cromosòmica. Mutacions	20
3.3. Modificació extracromosòmica	21
3.4. Mecanismes de resistència dels bacteris.....	22
4. SUBSTÀNCIES TEST UTILITZADES EN ELS EXPERIMENTS	24
4.1. Antibiòtics naturals	24
4.2. Antibiòtics sintètics o semisintètics	26
EXPERIMENTACIÓ	28
1. SELECCIÓ D'UN ANTIBIÒTIC PER COMBATRE UNA MALALTIA	29

2. ANTIBIOGRAMA	30
2.1. Material.....	30
2.2. Procediment	30
2.3. Resultats i interpretació	33
2.4. Conclusions de l'antibiograma	35
3. ESPECTROFOTOMETRIA	37
3.1. Materials	37
3.2. Procediment	38
3.3. Resultats i interpretació	40
3.4. Conclusions de l'espectrofotometria	43
CONCLUSIONS FINALS	44
BIBLIOGRAFIA	44
ANNEXOS	44

INTRODUCCIÓ

La meua vocació des de la infantesa ha estat sempre relacionada amb la cura i el maneig dels animals. Malgrat que en aquests moments passo per una crisi vocacional i els meus futurs estudis universitaris probablement no tinguin res a veure amb aquest camp, en el moment de triar tema per al treball de recerca vaig tenir clar que aniria enfocat cap a aquest món. Vist amb perspectiva, la meua tria va ser encertada.

D'altra banda, l'oportunitat que m'ha ofert el programa Argó de la Universitat Autònoma de Barcelona per tal d'accedir a les instal·lacions de la Facultat de Veterinària ha conformat l'itinerari a seguir per tal de dur a terme aquest estudi. El títol suggerit inicialment, *Estratègies per reduir l'ús d'antibiòtics en la ramaderia*, extret d'una bateria de temes susceptibles de ser escollits en l'àmbit de veterinària del programa Argó, ha evolucionat fins al títol actual, *Antibiòtics naturals i sintètics. Comparació del seu efecte en bacteris patògens*, per tal d'adaptar-se a la temàtica en què finalment se centra el treball. Aquest fet, però, no ha estat un problema, perquè és sabut que el guió d'un treball de recerca és viu i va evolucionant paral·lelament al transcurs de la investigació; el títol no queda exempt d'aquesta modulació.

Les meves fonts d'informació han estat d'una banda les entrevistes amb professionals de l'àmbit de la veterinària, i de l'altra el treball més específic de laboratori. Pel que fa a les entrevistes, he conversat amb un veterinari i amb un bioquímic, així com amb els responsables de la granja ecològica La Selvatana. Mentre que el treball al laboratori m'ha permès comprendre les bases teòriques de l'ús dels antibiòtics, de les entrevistes n'he extret el dia a dia dels professionals que trepitgen el terreny. Les dues fonts han estat complementàries per tenir una visió global del tema.

A continuació exposo els objectius inicials del treball, tot i que el darrer objectiu finalment no ha pogut ser tractat donat els límits temporals de la investigació. Així i tot, l'he volgut mantenir com a mostra de la voluntat global de la recerca, de manera que es pugui incloure en futures línies d'investigació.

OBJECTIUS PRINCIPALS

- Estudiar com es mesura l'efectivitat d'un antibiòtic i com es selecciona el més adequat per tractar un patogen.
- Determinar quins processos s'usen actualment per reduir o reemplaçar l'ús d'antibiòtics en el bestiar.
- Obtenir informació sobre la importància de la bioseguretat a les granges.
- Analitzar quines són les conseqüències a llarg termini de l'ús d'antibiòtics o antimicrobians en la producció de bestiar i del seu ús indegut.

HIPÒTESI

La hipòtesi principal d'aquest treball és que hi ha antibiòtics naturals amb una eficàcia comparable als antibiòtics sintètics i susceptibles de complementar-los en algunes ocasions en el món de la ramaderia.

La recerca de tipus bibliogràfica, de treball de camp amb entrevistes, etc., per tal de confirmar la hipòtesi principal, ha estat complementada amb una recerca de tipus més experimental consistent a aprendre les tècniques de laboratori necessàries per a establir una comparativa entre diversos tipus d'antibiòtics naturals, així com entre diferents antibiòtics sintètics o semisintètics aplicats als mateixos patògens.

MARC TEÒRIC

1. BACTERIS

1.1. Què són els bacteris?

Els bacteris, també anomenats eubacteris, són un grup d'organismes unicel·lulars formats per cèl·lules procariotes, és a dir, que no tenen un nucli cel·lular diferenciat i confinat en una membrana, sinó que el seu ADN està lliure pel citoplasma. Tot i que la seva estructura és relativament senzilla comparada amb els organismes eucariotes, són els organismes més abundants i són capaços d'adaptar-se a diferents medis, fins i tot als més extrems; per això, se sol dir que són omnipresents. Són capaços de viure en medis amb temperatures polars, en aigües termals àcides, en les profunditats de l'escorça terrestre, en residus radioactius o, fins i tot, més enllà del nostre planeta.

Els bacteris són imprescindibles a la Terra perquè participen en una gran quantitat de processos i cicles de reciclatge de nutrients, com poden ser la fixació del nitrogen a l'atmosfera o la putrefacció.¹

L'estudi dels bacteris s'anomena *bacteriologia*, que és una branca de la microbiologia, ciència que estudia tot tipus de microorganismes incloent-hi virus, procariotes i eucariotes senzills.

Dins del grup dels bacteris en podem distingir dues tipologies: els Gram positius i els Gram negatius. Aquesta classificació es fa segons la reacció d'aquests éssers davant dels reactius de Gram.²

- **Gram positius:** retenen el color lila del cristall violeta (un colorant anomenat també violeta genciana) emprat en la tinció.
- **Gram negatius:** retenen un pigment vermell a causa de la poca capacitat de tinció amb el cristall violeta i l'absorció de la safranina, utilitzada pel seu color rosa-vermellós.

La diferència de tinció entre aquests dos tipus de bacteris és deguda a la seva paret cel·lular. En els Gram positius, la paret té un sol estrat; està composta per una capa gruixuda i llisa de mureïna o peptidoglicà,³ unida a l'àcid lipoteicoic (entre la paret i la membrana cel·lular) i

¹ Descomposició, per part dels bacteris, de la matèria anteriorment viva.

² La tinció de Gram és una tècnica de diferenciació bacteriana emprada en microbiologia.

³ Component principal de les parets bacterianes, format per monosacàrids i aminoàcids.

l'àcid teicoic⁴ (a l'exterior). En canvi, en els Gram negatius la paret és biestratificada: té una primera capa fina i rugosa de mureïna i una segona capa constituïda per polisacàrids, proteïnes, fosfolípids i lípids, sense àcids teicoics units.

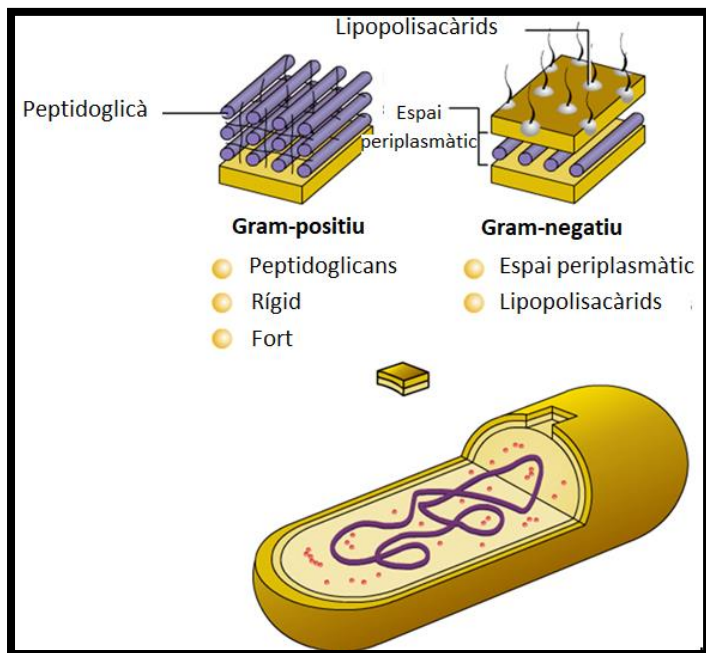


Figura 1. Diferències dels bacteris Gram positius i Gram negatius. Imatge modificada de: <http://zeroinfections.blogspot.com.es/2012/07/classification-system-of-bacteria.html>

1.2. Descobriment dels bacteris

Els bacteris no es van descobrir fins ben entrat el segle XVII, l'any 1676 quan el científic holandès Antonie van Leeuwenhoek, considerat el pare de la microbiologia, va dissenyar el primer microscopi monolenticular. Leeuwenhoek els va anomenar *animàlcus*, és a dir, “animals petits”.

No va ser fins el 1838 que el naturalista Christian Gottfried Ehrenberg va introduir el terme *bacteri*, que prové de la paraula grega *baktēion*, “petit bastó”. Més tard aquesta paraula també origina el mot *bacil*, un dels tipus de bacteris.

1.3. Estructura bacteriana

Per entendre millor els mecanismes d'acció dels antibiòtics i les resistències que els bacteris hi presenten, cal entendre les nocions bàsiques de l'estructura d'aquests microorganismes.

⁴ Els àcids teicoics són macromolècules presents a la superfície de la paret bacteriana.

Anteriorment hem definit els bacteris com a organismes procariotes, que es diferencien dels eucariotes principalment perquè tenen pocs orgànuls cel·lulars i no tenen un nucli delimitat per una membrana nuclear.

Podem dividir els diferents elements de l'estructura cel·lular bacteriana en els elements essencials, presents a totes les espècies de bacteris i indispensables, i els elements facultatius, que poden formar-ne part o no.

- **Elements essencials:** la paret bacteriana, la membrana plasmàtica, el citoplasma, el material genètic i els ribosomes.
- **Elements facultatius:** plasmidi, inclusions citoplasmàtiques, flagels, fímbries o pili, i càpsula.

A continuació tenim una imatge amb les diferents parts de l'estructura bacteriana i una breu explicació de cadascuna.

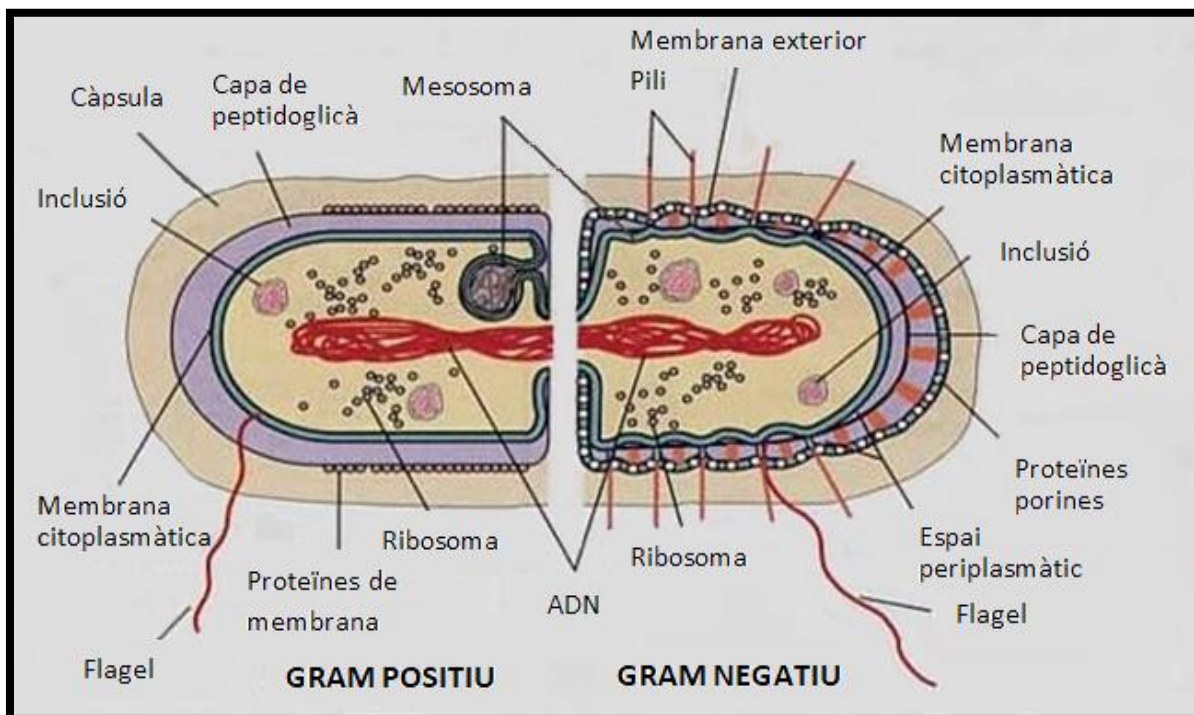


Figura 2. Comparació de la càpsula, la paret cel·lular i la membrana cel·lular d'un bacteri Gram positiu i d'un de Gram negatiu.

Imatge modificada de: <https://estructurayfuncioncelularbacteriana.wikispaces.com/Mesosomas>

Citoplasma: substància constituïda majoritàriament per aigua, però també conté enzims

catalitzadors⁵ de diverses reaccions metabòliques, sucres, lípids, altres compostos de baix pes molecular i sals minerals. La seva funció és contenir tots els orgànuls cel·lulars i el material genètic i és on es produeixen moltes de les reaccions químiques de la cèl·lula.

Nucleoide: regió del citoplasma on es troba l'ADN o material genètic. A diferència de les cèl·lules eucariotes, no està separat de la resta del citoplasma.

Plasmidi: molècula d'ADN circular extracromosòmic que es pot transmetre d'una cèl·lula a una altra per tal de proporcionar informació útil sobre la resistència a determinats antibiòtics o metalls i la producció de toxines, entre d'altres.

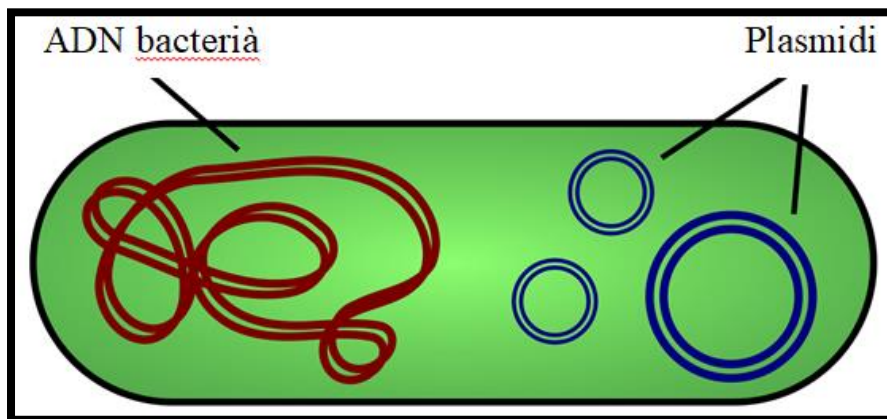


Figura 3. Representació d'un plasmidi bacterià. Imatge modificada de: <https://it.wikipedia.org/wiki/Plasmide>

Ribosomes: orgànuls no membranosos presents tant en procariotes com en eucariotes. Són els encarregats, entre d'altres funcions, de la síntesi de proteïnes a partir de l'ARN missatger, que s'ha format amb l'ADN com a base. Estan formats per dues subunitats, cadascuna constituïda per ARN ribosòmic i proteïnes. Malgrat tot, els ribosomes procariotes (70S)⁶ són més petits que els ribosomes eucariotes (80S).

Membrana plasmàtica: embolcall semipermeable que controla l'entrada i sortida de substàncies. Està formada per una bicapa lipídica en la qual hi ha proteïnes que ajuden a fer el transport i el reconeixement de substàncies del medi extern, entre d'altres coses.

⁵ Els catalitzadors són substàncies que augmenten la velocitat d'una reacció química.

⁶ El símbol "S" correspon a un *svdberg*, unitat de mesura del coeficient de sedimentació d'una partícula que és centrifugada en condicions normals. No està inclosa en el sistema internacional (SI). Els ribosomes sempre s'anomenen amb el coeficient de sedimentació.

Mesosomes: plecs de la membrana plasmàtica que augmenten la superfície de la cèl·lula. Tenen una gran varietat de funcions, com, per exemple, de zona d'ancoratge per a l'ADN i de zona on es realitza part de la respiració cel·lular de bacteris aeròbics. Poden intervenir en la divisió cel·lular o contenir molècules necessàries per a bacteris fotosintètics.

Paret cel·lular: capa rígida a l'exterior de la membrana plasmàtica que cobreix el contingut de la cèl·lula, li dóna forma i rigidesa i protegeix la cèl·lula de la possible ruptura en cas d'un augment de la pressió interna. Està formada bàsicament per sucres, però la seva composició pot canviar depenent de l'espècie bacteriana.

Pili o fimbries: en singular *pilus*, els pili són estructures en forma de pèls ancorades a la membrana cel·lular. Són més curts i prims que els flagels, i permeten a les cèl·lules moure's o connectar-se amb altres cèl·lules. Els termes pili i fimbries són sovint intercanviables, però normalment les fimbries són només els pèls petits que els bacteris utilitzen per adherir-se a les superfícies.

Flagels: el flagel bacterià, lleugerament diferent del flagel eucariota, és una estructura proteica unida a la membrana cel·lular que serveix per impulsar la cèl·lula procariota. Està composta per diferents peces i gira com una hèlix.

Càpsula: capa rígida formada per polímers orgànics que recobreix la paret d'alguns bacteris. Actua com a capa protectora davant la fagocitosi, però també s'utilitza per al dipòsit de nutrients, per a l'acumulació de substàncies de rebuig o com a reservori d'aigua útil en condicions extremes. També permet als bacteris patògens adherir-se en cèl·lules hoste i protegir-se contra molècules antibiòtiques.

Inclusions citoplasmàtiques: acumulacions de substàncies, sense estar recobertes de membrana, que poden ser reserves d'energia o nutrients, productes de rebuig o grànuls de pigments.

1.4. Mida i morfologia

Les cèl·lules eubacterianes són impossibles de veure a ull nu, i per a la seva observació és

necessària la utilització d'un microscopi òptic. La seva grandària es mesura en micròmetres i la seva llargària sol oscil·lar entre 0,3 i 5 μm , encara que hi ha algunes excepcions.

Pel que fa a la seva morfologia, que ve determinada per la paret i el citoesquelet bacterians, la majoria de les espècies són cocs, amb una forma esfèrica, o bacils, amb una forma de vara recta. Tot i això, hi ha altres morfologies com la dels vibrions, amb una forma de vara corba, els espirils, amb forma de tirabuixó, o associacions de diversos cocs.

Aquesta varietat de morfologies bacterianes poden condicionar la capacitat d'aquests microorganismes a l'hora d'alimentar-se, desplaçar-se per les superfícies, nedar per líquids o fugir dels seus depredadors.

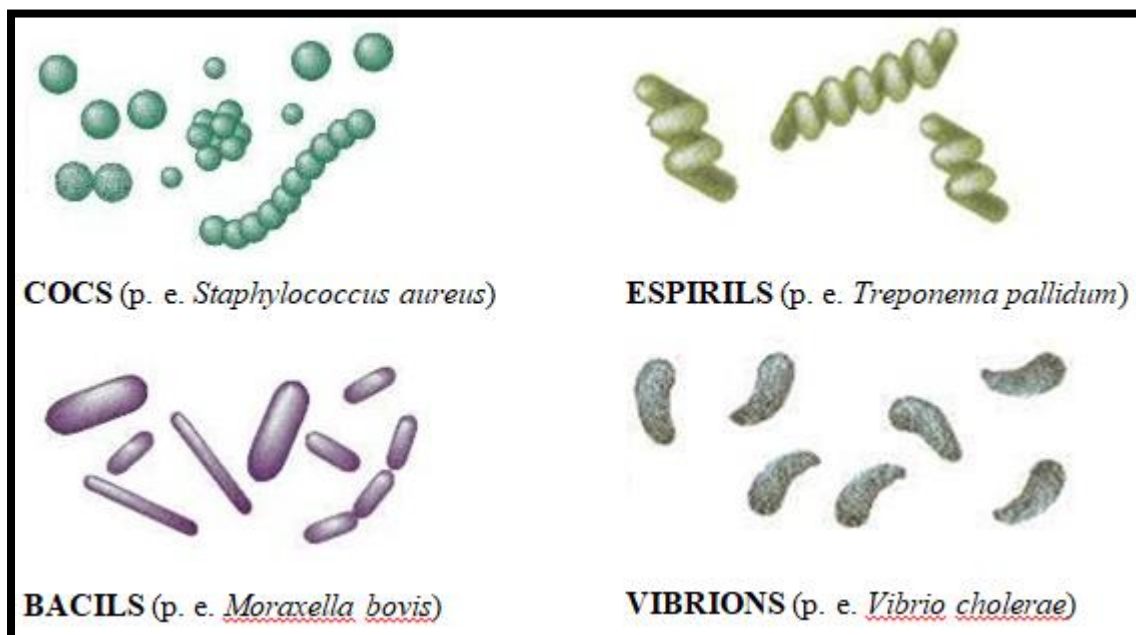


Figura 4. Tipus de morfologies més comunes dels bacteris.

Imatge modificada de: <http://www.monografias.com/Biologia/>

1.5. Bacteris patògens

La gran majoria d'eubacteris són inofensius o beneficiosos, però n'hi ha alguns que són patògens, és a dir, que provoquen malalties infeccioses. A continuació s'expliquen alguns aspectes a tenir en compte en els bacteris patògens.

1.5.1. Toxicitat

Normalment la virulència d'un bacteri, és a dir, el grau de patogenicitat (capacitat de causar

una malaltia), depèn de la síntesi de les seves toxines. Les toxines són les substàncies verinoses que poden provocar una intoxicació si estan en contacte amb teixits biològics.

En alguns casos (generalment en bacteris Gram positius), el bacteri és capaç de sintetitzar cadenes proteiques que tenen la capacitat d'afectar les zones infectades. Són les exotoxines, que es poden moure per tot el cos, i destrueixen les cèl·lules de l'hoste o desequilibren el metabolisme⁷ normal cel·lular.

En altres casos pot haver-hi un altre tipus de substàncies que són menys tòxiques. Són les endotoxines o lipopolisacàrids (LPS), constituents de la membrana dels bacteris Gram negatius. Aquestes endotoxines actuen quan la paret cel·lular de la cèl·lula de l'hoste es trenca (lisi cel·lular) i s'alliberen a dins. Poden provocar febre i dolors a l'organisme afectat.

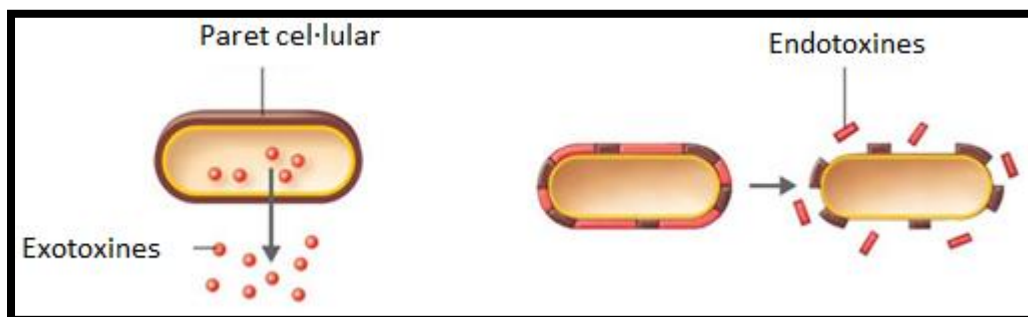


Figura 5. Origen de les toxines bacterianes (endotoxines i exotoxines). Imatge modificada de: http://blog-imgs-80.fc2.com/i/r/y/iryokannkeisikaku/FIGURE_15_04_LABELED.jpg

1.5.2. Contagi de patògens

Els bacteris poden presentar diverses vies de contagi:

- Per contacte directe o transmissió sexual: el bacteri pot entrar directament a l'organisme a través de la pell o les mucoses (p. e., *Treponema pallidum*, causant de la sífilis).
- Gotes en suspensió a l'aire: en esternudar o tossir, una persona pot expulsar bacteris que podran entrar fàcilment en un altre individu quan aquest inspi. Aquest tipus de transmissió és molt comuna en malalties respiratòries (p. e., *Mycobacterium tuberculosis*, causant de la tuberculosi).
- A través de ferides: un tall a la pell comporta un alt risc d'infecció, ja que la pell és una

⁷ El metabolisme és el conjunt de reaccions químiques d'un organisme viu.

capa de protecció molt important contra els organismes patògens (p. e., *Clostridium tetani*, causant del tètanus).

- Menjar o aigua contaminats: en ingerir productes infectats per bacteris, aquests poden passar fàcilment a l'organisme a través de les parets de l'intestí (p. e., *Salmonella spp*, causant de la salmonel·losi).
- Picades d'insectes: els insectes poden ser reservoris dels patògens que provoquen determinades malalties. Si un insecte, com per exemple una puça, fa una picada, un patògen pot entrar directament als vasos sanguinis de l'individu (p. e., *Yersinia pestis*, causant de la pesta negra).

1.5.3. Tipus d'infecció

Hi ha dos tipus d'infeccions bacterianes:

Extracel·lular: el patògen entra a l'individu i es queda als espais intercel·lulars d'on extreu els nutrients necessaris per viure. Aquest tipus d'infecció és molt habitual a l'aparell respiratori. Un exemple és l'*Streptococcus* que, com altres bacteris, és capaç de sintetitzar una càpsula de resistència que el protegeix de les respostes immunològiques de l'hoste.

Intracel·lular: en aquest cas, el patògen entra a l'individu per endocitosi de les cèl·lules hoste, és a dir, la cèl·lula hoste capta el bacteri i l'introdueix cap al seu interior; així el patògen n'aprofita els recursos per sobreviure. El seu mètode d'infecció pot recordar el d'alguns virus, ja que els bacteris utilitzen una altra cèl·lula per créixer i després duplicar-se. Aquests nous bacteris són expulsats de la cèl·lula per infectar-ne d'altres.

1.6. Bacteris utilitzats en els experiments realitzats

Les soques bacterianes que s'han utilitzat per fer les dues parts pràctiques del treball són l'*Escherichia coli* i l'*Staphylococcus aureus*, que són molt presents en patologies del bestiar boví i porcí. A continuació fem una breu explicació de cadascun d'elles per tenir-ne un coneixement general.

1.6.1. *Escherichia coli*

L'*Escherichia coli*,⁸ també anomenat *colibacil*, és un eubacteri de la família de les

⁸ Anomenat indistintament *Escherichia coli* o *E. coli*.

enterobacteriàcies molt habitual i sovint s'utilitza com a organisme model dels bacteris en general. Per tant, tenim molt coneixement de la seva estructura biomolecular i és dels éssers vius més fàcils de manipular al laboratori. El seu nom prové del seu descobridor, Theodor Escherich, un pediatra austroalemany que el va identificar el 1885 i en va estudiar les propietats.

Aquest bacil Gram negatiu és un bacteri anaerobi facultatiu, és a dir, que pot obtenir energia tant si en el medi hi ha oxigen com si no n'hi ha. Es pot desplaçar gràcies als flagels que té al voltant del cos.

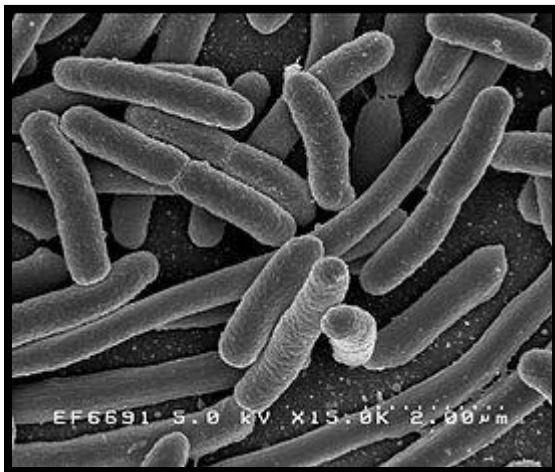


Figura 6. Mostra d'*Escherichia coli* vist a través d'un microscopi electrònic de rastreig.

Font: https://ca.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

Hàbitat

Aquest microorganisme viu a l'interior de l'intestí d'animals de sang calenta i, juntament amb moltes altres espècies de bacteris, forma la microbiota intestinal o flora intestinal, és a dir, és necessari per al bon funcionament del procés digestiu. Tot i això, pot arribar a causar malalties o infeccions si surt d'aquesta zona. També és propi dels humans, per exemple, l'*E. coli* s'adhereix a la mucosa de l'intestí gros d'un infant després de quaranta-vuit hores de la seva primera ingestió d'aliments.

Soques

Segons el seu funcionament i poder patogen, es diferencien sis soques (variants) del bacteri. A continuació les anomenem i posem entre parèntesis el seu codi d'identificació.

- *E. coli enterotoxigènica* (ETEC)
- *E. coli enteroagregativa* (EAggEC)

- *E. coli enteropatògena* (EPEC)
- *E. coli enterohemorràgica* o *verotoxigènica* (EHEC o VTEC)
- *E. coli enteroinvasiva* (EIEC)
- *E. coli uropatògena* (UPEC)

Malalties comunes en veterinària

En veterinària és molt habitual trobar infeccions per l'*E. coli* en tot tipus de bestiar. Les malalties més comunes en porcins i bovins són la colibacilosi neonatal, la colibacilosi postdeslletament, la malaltia dels edemes i la mastitis per coliformes.

Colibacilosi neonatal

La colibacilosi neonatal és provocada per la soca patògena *E. coli* enterotoxigènica (ETEC). Aquesta soca produeix unes enterotoxines (proteïnes de cadena simple no ramificada) que provoquen alteracions en la permeabilitat de la membrana intestinal. Conseqüentment, es produeixen acumulacions de líquids i electròlits⁹ que, si no són reabsorbits per l'intestí gruixut, causaran diarrea.

La diarrea neonatal també pot ser provocada en algunes ocasions per la soca *E. coli* enteropatogènica (EPEC), que s'adhereix a la membrana dels enteròcits (cèl·lules epitelials de l'intestí) mitjançant la proteïna intimina i el seu receptor, la proteïna Tir.¹⁰

Colibacilosi del postdeslletament

La colibacilosi del postdeslletament també és provocada per la soca ETEC. Tot i això, es considera una malaltia multifactorial, ja que hi ha factors com el maneig dels animals, la dieta o la higiene que poden condicionar l'aparició de la infecció. Normalment l'estrès del postdeslletament pot alterar l'equilibri de la microbiota intestinal, reduir la població dels bacteris beneficiosos i, en conseqüència, afavorir el creixement dels patògens.

Els mecanismes de la patogènia d'aquesta malaltia són els mateixos que els de la colibacilosi neonatal.

Malaltia dels edemes

La malaltia dels edemes sol aparèixer en els garrins després del deslletament i és provocada

⁹ Els electròlits són substàncies, normalment dissolucions aquoses, que condueixen l'electricitat.

¹⁰ Les sigles *Tir* correspon al terme *Translocated intimin receptor*.

per les soques patògenes *E. coli* productores de shigatoxina (STEC) o verotoxina (VTEC). Les toxines fabricades per aquesta soca, un cop entren al sistema circulatori, fan malbé les parets dels vasos sanguinis de l'intestí. Això provoca l'aparició de signes neurològics i edemes gelatinosos (acumulacions de líquid) al cap, a les parpelles, la laringe, l'estómac, la càpsula renal, els ganglis mesentèrics i el mesocòlon de l'animal.

Mastitis per coliformes

La mastitis és la inflamació de la glàndula mamària en mamífers, i és molt habitual en el bestiar boví. La causa un bacteri coliforme, que endureix els mugrons i les mamelles, talla el subministrament de llet i provoca una secrecions d'un líquid groguenc acompanyat en ocasions de residus de sang.

1.6.2. *Staphylococcus aureus*

L'*Staphylococcus aureus*¹¹ és un eubacteri del gènere *Staphylococcus*, probablement el més virulent. És el causant d'una gran varietat d'infeccions, com per exemple furúncols cutanis, pneumònia o meningitis, entre d'altres. A més, cal afegir que aquest bacteri sol presentar poca sensibilitat davant dels antibiòtics.

Són bacteris cocs i Gram positius. Resten immòbils, sense desplaçar-se, i generalment no tenen càpsula. Tot i això, presenten una gran resistència a la calor i la dessecació.

El nom del seu gènere, *Staphylococcus*, prové del grec *Staphyle*, que vol dir raïm, ramell, i *Kokkos*, que vol dir grana. Aquests termes van ser introduïts pels seus descobridors, Alexander Ogston, l'any 1881, i Friedrich Julius Rosembach, l'any 1884, i fan referència a la seva morfologia: els bacteris del gènere *Staphylococcus* són cocs Gram positius arrengrerats en forma de ramell o raïm.

¹¹ Anomenat indistintament *Staphylococcus aureus* o *S. aureus*.

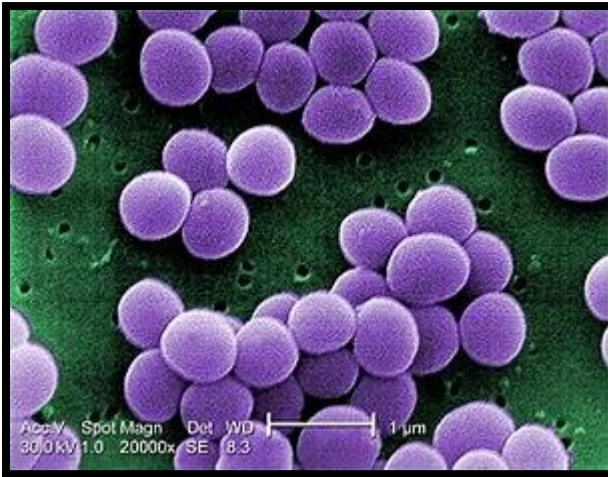


Figura 7. Mostra de *Staphylococcus aureus* vist a través d'un microscopi electrònic de rastreig (color artificial). Font: https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

Hàbitat

L'*Staphylococcus aureus* forma part de la flora normal humana, és a dir, podem trobar-ne colònies al nostre cos sense presentar virulència. Sovint aquest bacteri habita a la pell i a les fosses nasals d'algunes persones (diversos estudis han observat que aproximadament un 20% de la població el té permanentment a les fosses nasals; tanmateix, un altre 30% de la població el té de forma intermitent).

Estructura antigènica

Els eubacteris del gènere *Staphylococcus* produeixen substàncies extracel·lulars com polisacàrids o proteïnes la majoria de les quals són antigens, és a dir, indueixen a la formació d'anticossos. Aquestes substàncies antigèniques constitueixen toxines com les següents:

- **Dermonecrotoxina o exotoxina:** substància que pot provocar necrosi a la pell dels animals.
- **Leucocidina:** substància que mata els leucòcits (glòbuls blancs) dels animals.
- **Enterotoxina:** substància termoestable que suposa la causa més important d'enverinament per aliments contaminats.
- **Coagulasa:** substància proteica que funciona com un enzim. Coagula el plasma sanguini en presència de certs factors de coagulació.

2. ELS ANTIBIÒTICS

2.1. Què són els antibiòtics?

Un antibiòtic és una substància química sintetitzada per microorganismes, com per exemple fongs, que inhibeix el creixement o causa la mort d'altres microorganismes. Així mateix, també existeixen els agents antimicrobians, unes substàncies amb les mateixes característiques que els antibiòtics, però que han estat creades en laboratoris, és a dir són substàncies sintètiques, produïdes amb l'objectiu d'obtenir una eficàcia més elevada.

Aquests dos termes, antibiòtics i agents antimicrobians, malgrat tenir significats lleugerament diferents, sovint s'utilitzen com a sinònims ja que tenen el mateix objectiu. Per tant, podem utilitzar la paraula antibiòtic per parlar tant de les substàncies naturals com de les sintètiques o semisintètiques.

2.1.1. Descobriment dels antibiòtics

El primer antibiòtic que es va descobrir va ser la penicil·lina, l'any 1928. Alexander Fleming, bacteriòleg escocès, estava preparant cultius de *Staphylococcus aureus* quan va veure que en un dels plats d'agar,¹² que havia estat contaminat per fongs, s'observava una zona lliure de bacteris al voltant de la floridura. Gràcies a estudis anteriors sobre propietats antibacterianes,¹³ va poder interpretar correctament aquell senyal: el fong segregava alguna substància que inhibia el creixement de l'*Staphylococcus*.

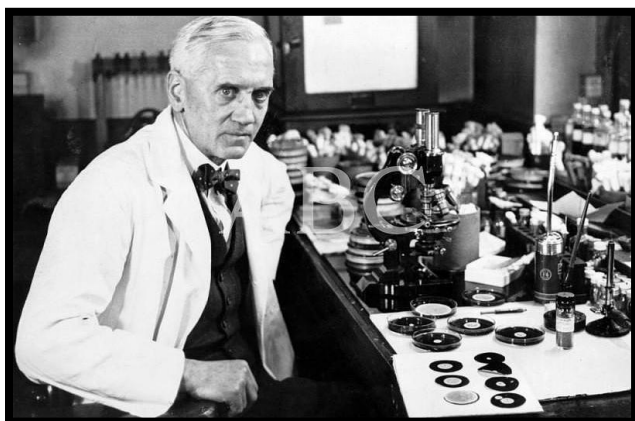


Figura 8: Alexander Fleming al seu laboratori. Font: <http://www.gettyimages.es/>

¹² L'agar o agar-agar és una substància gelatinosa derivada d'algues. Es fa servir com a medi de cultiu d'organismes, però també es pot utilitzar com a laxant o espessidor.

¹³ Alexander Fleming havia estat estudiant les propietats antibacterianes dels lisozims, una varietat d'enzims.

Més tard, durant la Segona Guerra Mundial, es van destinar molts recursos a la purificació de la penicil·lina per tal de poder utilitzar-la com a tractament de les infeccions de les ferides. Un equip liderat per Howard Florey va tenir molt d'èxit en la producció del principi actiu. El primer cop que es va utilitzar com a fàrmac fou a Londres el 1941.

2.1.2. Classificació dels antibiòtics

De manera general, els antibiòtics es poden classificar segons:

- **Origen:**

- Biològics: produïts a partir d'éssers vius (p. e., penicil·lina).
- Sintètics: produïts per síntesi química (p. e., sulfamides, quimioteràpics).
- Semisintètics: tenen una base orgànica que s'ha millorat químicament (p. e., ampil·lina).

- **Espectre d'acció:**

- D'ampli espectre: són efectius contra moltes espècies bacterianes (p. e., cloramfenicol, tetraciclins).
- D'espectre limitat: actuen sobre un nombre limitat d'espècies (p. e., penicil·lines).
- De curt espectre: són eficaços sobre poques espècies (p. e., polimixines).

- **Forma d'actuar:**

- Bacterioestàtics: Inhibeixen el creixement de les cèl·lules.
- Bactericides: Provoquen la mort de les cèl·lules.

No obstant això, la línia que els separa no és clara, ja que un sol tipus d'antibiòtic pot actuar de bacterioestàtic i bactericida alhora, o bé variar el seu efecte segons la seva concentració i dosi.

- **Mecanismes d'acció:** poden actuar sobre el procés de síntesi de la paret, sobre la membrana citoplasmàtica o sobre la síntesi de proteïnes, entre d'altres. En parlarem més específicament en el següent apartat.

2.2. Mecanismes d'acció dels antibiòtics

Podem distingir quatre tipus de mecanismes per tal d'inhibir el creixement bacterià.

2.2.1. Inhibició de la síntesi de la paret bacteriana

La paret bacteriana és un element protector imprescindible per a aquests microorganismes. La seva funció és aguantar la pressió osmòtica o de turgència entre dos medis quan el sistema assoleix l'equilibri, és a dir, que facilita aconseguir la mateixa concentració en les dissolucions intra i extracel·lulars.

Per formar la paret bacteriana es duen a terme una sèrie de processos enzimàtics en els quals participen almenys trenta enzims diferents. A principis dels anys setanta es va descobrir que algunes de les proteïnes que intervenen a les últimes fases d'aquest procés poden ser desactivades per alguns antibiòtics. Com a conseqüència de la desactivació d'aquestes proteïnes, l'estructura de la paret bacteriana s'altera i, per tant, el bacteri pot arribar a esclatar.

Alguns exemples d'aquest tipus d'antibiòtics són els β -lantàmics, la vancomicina, la fosfomicina o la cicloserina.

2.2.2. Alteració de la membrana citoplasmàtica del bacteri

La membrana citoplasmàtica és una barrera de permeabilitat selectiva del bacteri. Hi ha antibiòtics que actuen sobre ella i produeixen canvis en la seva permeabilitat. D'aquesta manera, permeten la sortida d'ions potassi (K^+) i macromolècules, necessaris per la supervivència del bacteri, i provoquen la mort de la cèl·lula.

Alguns exemples d'aquest tipus d'antibiòtics són les polimixines o els poliens.

2.2.3. Inhibició de la síntesi proteica del bacteri

La finalitat d'aquests antibiòtics és formar proteïnes anòmales o no funcionals per intervenir en el desenvolupament del bacteri o impedir la seva síntesi. Actuen sobre els ribosomes, que són els màxims responsables de la síntesi proteica.

Alguns exemples d'aquests antibiòtics són les tetraciclines, els cloramfenicols o els aminoglicòsids.

2.2.4. Bloqueig de la síntesi dels àcids nucleics del bacteri

Alguns antibiòtics actuen en diferents processos per inhibir la formació de diferents àcids

nucleics, ribosomes o enzims que participen en la síntesi de proteïnes. Això provoca la formació de proteïnes defectuoses, fet que afecta molts altres processos cel·lulars.

Algun exemple d'aquest tipus d'antibiòtics són les sulfamides o la rifampicina.

3. RESISTÈNCIA ALS ANTIBIÒTICS

Una soca bacteriana és considerada resistent quan la sensibilitat (la reacció) davant determinats antibiòtics ha disminuït o és nul·la. Aquesta disminució de la sensibilitat molts cops és causada per l'ús indiscriminat o abusu dels compostos antimicrobians. Això provoca una selecció natural dels bacteris que són hereditàriament resistents, i que es poden convertir en l'espècie predominant d'una població.

3.1. Tipus de resistències

Hi ha dos tipus de resistències bacterianes:

3.1.1. Resistència natural

Apareix en els bacteris d'una forma preestablerta i, per tant, normalment no presenta problemes clínics pel que fa al canvi de sensibilitat. Per exemple, la resistència dels enterobacteris a la penicil·lina G.

3.1.2. Resistència adquirida

És la més important i interessant per aquesta investigació. Apareix en els bacteris que abans eren sensibles a un antibiòtic, i és el resultat de la modificació de la càrrega genètica. Pot ser de dos tipus:

- **Cromosòmica:** és deguda a una mutació dels gens que controlen la sensibilitat als antibiòtics. És poc habitual, però és persistent i es pot transmetre per herència.
- **Extracromosòmica:** codificada per plasmidis que es repliquen de forma autònoma i passen d'un bacteri per transducció (gràcies a un virus bacteriòfag)¹⁴ o conjugació (transferència d'un plasmidi entre bacteris).

3.2. Modificació cromosòmica. Mutacions

Una mutació és una alteració del material genètic. Sovint es produeix durant la síntesi d'ARN i ADN,¹⁵ ja que com que és un procés que es duu a terme a velocitats molt elevades poden succeir errors en la transcripció o en la duplicació. A més, també hi ha certs agents mutàgens que poden alterar l'ADN, com ara radiacions ionitzants o alguns compostos químics.

¹⁴Un virus bacteriòfag és aquell que infecta únicament bacteris.

¹⁵L'àcid ribonucleic (ARN) i l'àcid desoxiribonucleic (ADN) són molècules que intervenen en l'emmagatzematge i la utilització del material genètic.

Si aquests canvis no són corregits poden causar problemes en la traducció de proteïnes, és a dir, que aquestes poden ser modificades. D'altra banda, si afecta el punt diana¹⁶ dels bacteris, hi pot haver dificultats en l'actuació del medicament o bé que el bacteri es sensibilitzi contra aquest.

3.3. Modificació extracromosòmica

Els bacteris tenen la capacitat de transmetre's el material genètic l'un a l'altre, encara que siguin de diferents espècies. Ho poden fer amb diversos mecanismes:

3.3.1. Transformació

Quan un bacteri es lisa (es trenca) els seus elements estructurals es queden en suspensió en el medi, també fragmentats. Així, hi ha partícules d'ADN lliures en l'entorn que un altre bacteri pot captar i introduir al seu material genètic.



Figura 9. Mecanisme de transformació bacteriana. Imatge modificada de:

<http://slideplayer.es/3402601/17/images/2/Transferencia+g%C3%A9nica+en+bacterias.jpg>

3.3.2. Transducció

En una infecció produïda per un virus bacteriòfag, el virus normalment incorpora el seu material genètic al del bacteri infectat. En un determinat moment de la infecció, un enzim víric provoca la fragmentació de l'ADN bacterià. A continuació l'ADN del virus es replica i es formen càpsules al seu voltant. Malgrat això, hi ha la possibilitat que una d'aquestes càpsules contingui ADN bacterià, de manera que, en infectar un altre bacteri, aquest rebrà una porció de material genètic de l'anterior.

¹⁶El punt diana és el nucli d'actuació dels antibiòtics.

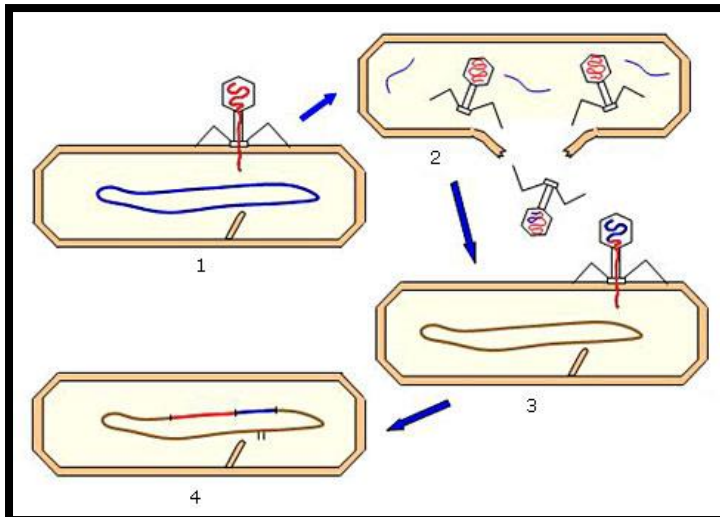


Figura 10. Mecanisme de transducció bacteriana.

Font: <https://biologia.laguia2000.com/microbiologia/la-reproduccion-de-las-bacterias>

3.3.3. Conjugació

És el procés de transferència de material genètic d'una cèl·lula donant a una altra cèl·lula receptora. És l'únic mecanisme que requereix contacte directe entre les dues cèl·lules, ja que el plasmidi de la donant es transmet al receptor a través d'un conducte que forma un pili, anomenat pili F.

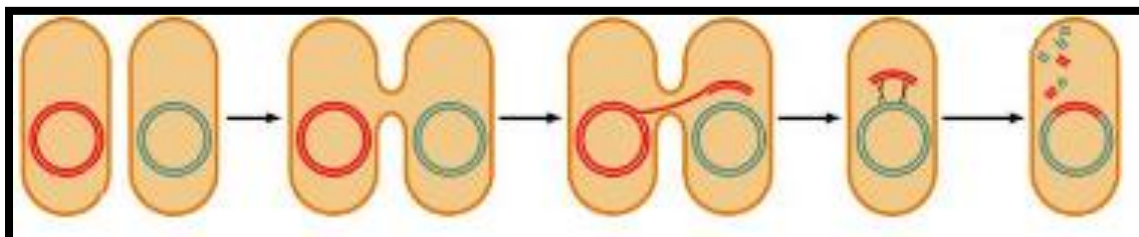


Figura 11. Mecanisme de conjugació bacteriana. Imatge modificada de:

<http://slideplayer.es/3402601/17/images/2/Transferencia+g%C3%A9nica+en+bacterias.jpg>

3.4. Mecanismes de resistència dels bacteris

En general un bacteri pot fer front a un antibiòtic gràcies a diferents mecanismes. Els més importants són els següents:

- a. Per inactivació enzimàtica:** el principal mecanisme d'inactivació és la hidròlisi, tal com passa en les β -lactamases, enzims bacterians, que destrueixen l'anell β -lactàmic de l'antibiòtic i el fan inactiu. També pot haver-hi altres modificacions no hidrolítiques,

com ara acetilacions, adenilacions o fosforilacions.¹⁷

b. Per alteracions en la permeabilitat: l'exposició continuada a tetraciclines, fosfomicines, aminoglicòsids i β -lactàmics altera la permeabilitat de la membrana del bacteri de manera que aquestes substàncies antibiòtiques perden la seva efectivitat.

c. Per canvis en els llocs on actuen els antibiòtics: per exemple, els bacteris modifiquen l'estructura dels seus ribosomes i les substàncies antibiòtiques ignoren la manera d'atacar-los.

¹⁷ Són els processos d'introducció, en un compost, de grups acetils, adenils o fosfats, respectivament.

4. SUBSTÀNCIES TEST UTILITZADES EN ELS EXPERIMENTS

Per fer els dos experiments hem utilitzat diverses substàncies amb propietats antimicrobianes. Algunes d'aquestes substàncies es poden trobar a la natura i algunes són preparades en laboratoris. Per tant, podrem mesurar l'efectivitat que tenen unes i altres sobre les soques bacterianes utilitzades: *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*.

4.1. Antibiòtics naturals

4.1.1. ALL (*Allium sativum*)



Figura 12. All (*Allium sativum*).

Font: <https://www.bellezayalma.com/wp-content/uploads/2014/11/ajo1.jpg>

El cultiu de l'all és dels més antics de la humanitat. Aquesta planta és originària de l'Àsia Central i actualment es cultiva arreu del món, però els egipcis, els grecs i els romans ja el feien servir per tractar diverses malalties. Avui en dia, forma part dels remeis de medicines tradicionals com la xinesa. Durant la Primera Guerra Mundial, l'all va ser un recurs molt utilitzat per desinfectar les ferides quan no es disposava d'antisèptics convencionals.

L'all està compost majoritàriament per aigua. Té força hidrats de carboni, una petita part de proteïnes i un percentatge de greixos, minerals i vitamines gairebé inexistent. Malgrat això, el que realment li dona propietats medicinals són altres compostos, com ara l'oli essencial al·liina, present en un 0,5%, que li aporta la seva olor i gust característics. També podem destacar un tipus de sucres anomenats fructans, diversos enzims i l'adenosina.

L'al·liina, per si sola, no té gaire efectes terapèutics, però en tallar o esmicolar l'all entra en contacte amb l'enzim alinasa. De resultes d'això es forma l'al·licina, la substància a la qual

se li atribueixen efectes antibiòtics i antioxidants.

Actualment l'all es fa servir com a base de diversos medicaments, ja que té efectes antifebrils, estimulants, diürètics, expectorants, per prevenir la hipertensió i la mala circulació, disminuir el colesterol i els greixos, i com a antibacterià natural (*World Health Organization*, 1999).

4.1.2. FARIGOLA (*Thymus vulgaris*)



Figura 13. Farigola (*Thymus vulgaris*).

Font: <http://multiplantas.com>

La farigola és una herba utilitzada en la nostra cuina tradicional: en estofats, en guisats, en llegums, etc. Té una olor intensa i les seves fulles contenen un oli essencial amb moltes propietats. També contribueix a la bona conservació dels aliments.

Entre les seves propietats, podem destacar-ne algunes: la farigola és antisèptica i espasmolítica;¹⁸ per tant, és utilitzada en afeccions respiratòries com la tos, la bronquitis, la laringitis, la faringitis i l'amigdalitis. També ajuda a disminuir les secrecions nasals.

Aquesta planta també és eficaç en afeccions digestives com els paràsits intestinals, els gasos, les digestions lentes, les gastritis cròniques i la colitis.¹⁹ A més, es pot fer servir per tractar infeccions urinàries, diarrees, i com a ús extern en dermatitis, conjuntivitis, infeccions cutànies, otitis, sinusitis, dolors dentals, alopecia, contusions, hematomes i cremades.

¹⁸ Destinada a alleujar els espasmes musculars.

¹⁹ Inflamació de l'intestí gruixut o el còlon.

4.1.3. CLAU (*Syzygium aromaticum*)



Figura 14. Clau o clavell d'espècia (*Syzygium aromaticum*).

Font: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:601421-1>

El clau o clavell d'espècia és una espècia molt aromàtica composta per les flors poncelles²⁰ assecades de la planta anomenada claveller. Aquest arbre és originari d'illes com les Filipines, però també es troba a la costa est d'Àfrica, a l'Índia i en zones tropicals d'Amèrica. Necessita un clima marítim i tropical, i se sol trobar en terrenys de poca altitud on el sòl és humit i ric en nutrients.

D'entre les seves propietats podem destacar que és antisèptic, antiemètic (antivomitiu), ja que molts dels seus components actuen en l'aparell digestiu, disminueix l'acidesa gàstrica i té un cert poder anestèsic. Gràcies a aquestes propietats anestèsiques i antiinflamatòries, pot ser utilitzat en odontologia en el tractament de càries i mal de queixal.

El clau és molt utilitzat en gastronomia, sobretot a l'Índia, per la seva aroma forta i amarga. En alguns casos s'introdueix a dins del tabac o del cànnabis, i es fa servir com a encens a la Xina i al Japó.

4.2. Antibiòtics sintètics o semisintètics

4.2.1. Amoxicil·lina

L'amoxicil·lina és un derivat semisintètic de la penicil·lina. Té molt bona absorció gastrointestinal, i per tant ocasiona uns majors nivells d'antibiòtic en la sang i menys efectes gastrointestinals que altres antibiòtics semblants, com l'ampicil·lina. Té un espectre

²⁰ La poncella, capoll o botó floral és aquella flor que encara no s'ha desclòs.

d'activitat antibacteriana superior al de la penicil·lina.

4.2.2. Gentamicina

La gentamicina és un antibiòtic que s'utilitza per tractar malalties greus de pulmó, cutànies, d'estómac, de vies urinàries i de sang. Normalment es recepta quan altres antibiòtics menys potents són ineficaços; com que té molta toxicitat i molts efectes secundaris (generalment a l'orella i als ronyons), s'ha d'evitar el seu ús si no és estrictament necessari.

4.2.3. Cefal·lexina

La cefal·lexina és un antibiòtic del grup de les cefalosporines, dels coneguts com de primera generació. S'utilitza per tractar infeccions bacterianes del sistema respiratori, com ara la pneumònia o la faringitis, infeccions cutànies, infeccions òssies i l'otitis. Pot ser una alternativa útil en el cas que el pacient tingui hipersensibilitat a la penicil·lina.

EXPERIMENTACIÓ

1. SELECCIÓ D'UN ANTIBIÒTIC PER COMBATRE UNA MALALTIA

Per tal de seleccionar quin és l'antibiòtic més adequat per a cada organisme bacterià s'utilitzen unes proves d'efectivitat que determinen la sensibilitat del bacteri davant les diferents substàncies antibiòtiques.

Per fer aquest treball he pogut accedir als laboratoris de la facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Allà he pogut dur a terme dues de les proves més importants que serveixen per determinar l'efectivitat de les substàncies test (all, farigola, clau, amoxicil·lina, gentamicina i cefal·lexina) davant de les dues soques bacterianes seleccionades: *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Aquestes proves són l'antibiograma i l'espectrofotometria.

Durant els experiments és important realitzar cada part d'una manera idèntica, per tal de poder demostrar que els resultats són influïts per una sola variable, que anomenarem *variable independent*. Per exemple, si es vol estudiar si la temperatura ambiental (variable independent) influeix en els resultats, les altres condicions com ara la llum o la marca d'un producte químic (variables dependents) han de ser idèntiques en totes les parts de l'experiment. Aquest protocol s'anomena fixar les variables, i és el que hem intentat fer en tot moment durant les dues proves dutes a terme.

2. ANTIBIOGRAMA

Un antibiograma és una prova microbiològica que s'utilitza per determinar la sensibilitat o la resistència d'un bacteri a un grup d'antibiòtics. La finalitat principal és receptar el tractament antibiòtic correcte al pacient, és a dir, fixar el tipus d'antibiòtic que es farà servir, la durada del tractament i la dosi.

2.1. Material

- Tretze plaques de Petri amb Triptona Soja Agar (TSA)²¹
- Bec de Bunsen²²
- Alcohol
- Nansa de sembra²³ (nansa de Digrafsky)
- Campana extractora (cabina de seguretat per evitar contaminacions)
- Pipeta monocanal manual
- Puntetes de pipeta
- Morter i mà de morter
- All
- Farigola
- Clau
- Amoxicil·lina (30 µg/disc)
- Gentamicina (10 µg/disc)
- Cefal·lexina (30 µg/disc)
- Dissolució Ringer²⁴ d'*Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* (0,5 McFarland)²⁵
- Peu de rei
- Pinces
- Estufa de cultiu
- Agitador de vòrtex

2.2. Procediment

En ser una preparació amb bacteris, les mostres es poden contaminar fàcilment, cosa que

²¹ El TSA és un medi de cultiu format per peptona, soja i agar-agar.

²² El bec Bunsen és un cremador utilitzat per esterilitzar.

²³ La nansa de sembra és una eina que serveix per distribuir uniformement els bacteris.

²⁴ La solució Ringer és una solució necessària per fer el cultiu dels bacteris.

²⁵ Els estàndards de terbolesa de McFarland s'utilitzen en suspensions bacteriològiques per saber el nombre de bacteris per mil·lilitre.

augmenta la probabilitat d'obtenir mals resultats. És important realitzar l'experiment amb estris i medis esterilitzats: cal mullar els estris en alcohol i passar-los per la flama del bec de Bunsen després de cada ús. A més, s'ha de procurar treballar sempre a prop d'una flama o a sota de la campana d'extracció per aconseguir una zona de treball estèril.

Les fases del procediment són les següents:

- Preparació de les substàncies test.
 - Agafar una mostra de cada substància natural (all, farigola i clau) i esmicolar-la amb l'ajuda del morter i la mà de morter. Servirà per després introduir-les a les plaques.
 - Les substàncies sintètiques no necessiten cap preparació, perquè ja estan absorbides en discos de paper de filtre que podem introduir a la placa directament.

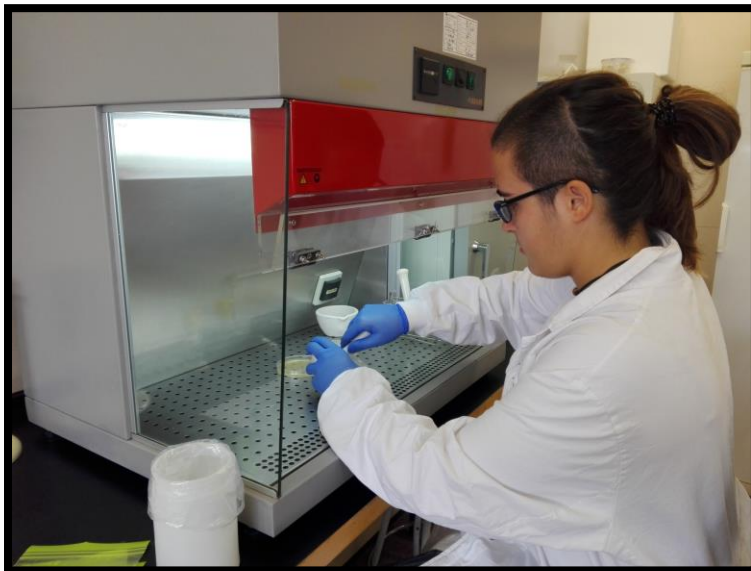


Figura 15. Preparació de les substàncies test naturals a dins de la campana.

- Sembrar de les plaques.
 - Marcar amb un retolador permanent les plaques. Hi haurà una placa per a cada substància natural i per a cada soca bacteriana, i en el cas dels antibiòtics comercials hi haurà una placa per a cada tres antibiòtics i per a cada bacteri, amb una rèplica de cada placa per tal d'obtenir resultats més fiables. Per tant,

hi haurà un total de deu plaques.²⁶

- Barrejar la dissolució Ringer d'*Escherichia coli* amb l'ajuda de l'agitador de vòrtex i inocular-ne 100 µL a les cinc plaques corresponents. A continuació fer el mateix amb la solució Ringer de *Staphylococcus aureus*.
- Després de cada inoculació, cal escampar la solució amb la nansa de sembra uniformement per tota la placa.

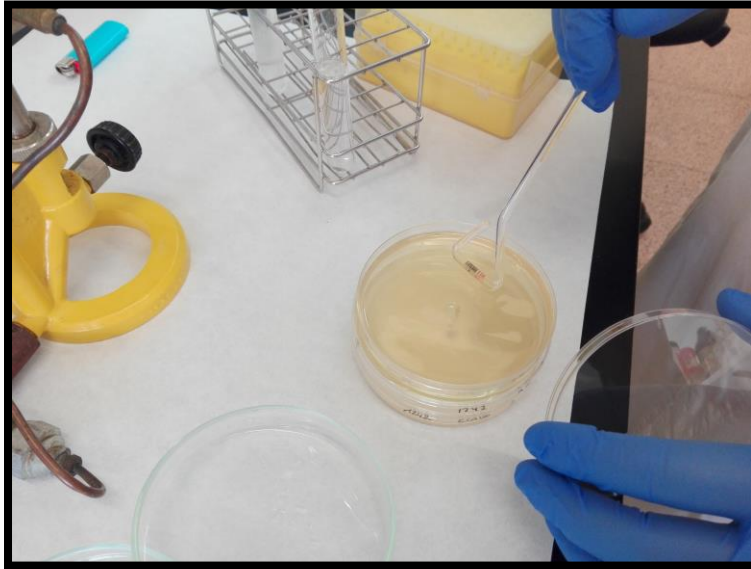


Figura 16. Sembrar de les plaques.

➤ Preparació de les plaques amb els antibiòtics.

- En el cas de les substàncies naturals, cal fer un petit forat al centre de cada placa i cal col·locar-hi una petita quantitat de la substància prèviament esmicolada.
- En el cas dels antibiòtics sintètics o semisintètics, cal col·locar els tres discos corresponents a cada placa amb l'ajuda de les pinces, formant un triangle.

²⁶ Durant l'experiment vam afegir una dissolució Ringer amb una soca de *Staphylococcus aureus* vella per tal de veure si hi havia diferències. Tanmateix, les observacions no van ser conclouents i però això no es tindran en compte en l'anàlisi dels resultats. Aquesta darrera dissolució es va utilitzar per a les tres substàncies naturals, per tant, hi haurà tres plaques de Petri més que seran descartades a l'hora de fer l'anàlisi.

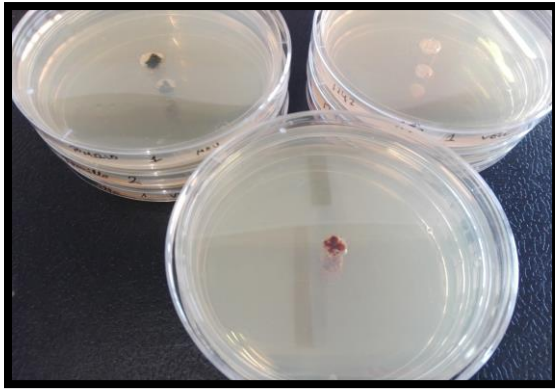


Figura 17. Preparació de les plaques amb les substàncies naturals.

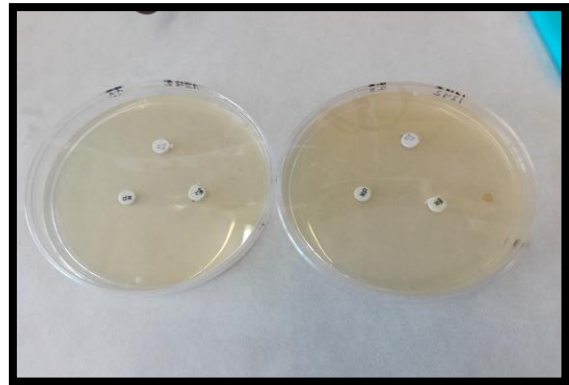


Figura 18. Preparació de les plaques amb els antibiòtics sintètics.

- Tapar les plaques i deixar-les en una estufa de cultiu a 37°C durant 24 hores, ja que és la temperatura de creixement òptim d'aquestes espècies bacterianes. És la temperatura mitjana dels mamífers, i els bacteris s'hi poden reproduir cada 20-30 minuts.
- Observar els resultats (els halos d'inhibició) i analitzar-los.

2.3. Resultats i interpretació

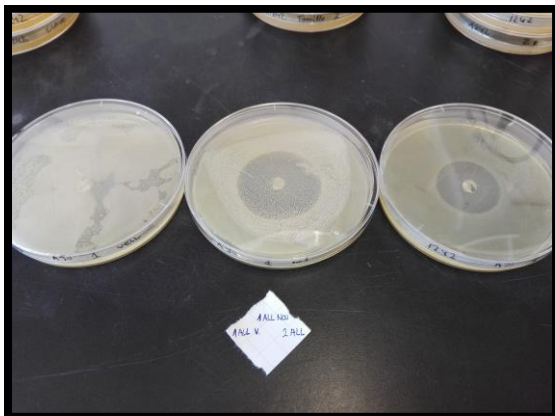


Figura 19. Halos d'inhibició de les plaques amb all.

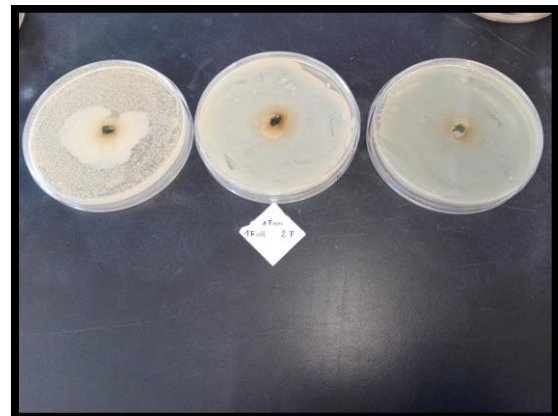


Figura 20. Halos d'inhibició de les plaques amb farigola.



Figura 21. Halos d'inhibició de les plaques amb clau.

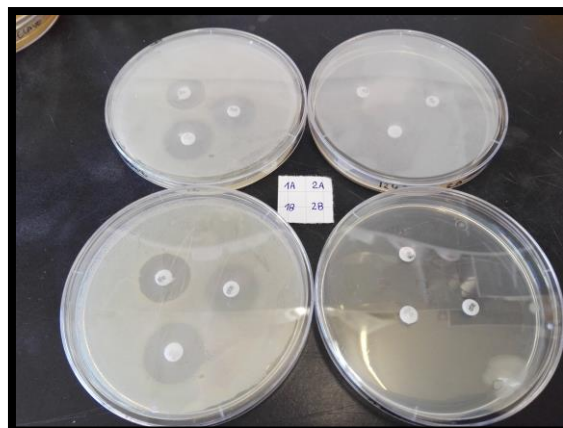


Figura 22. Halos d'inhibició de les plaques amb antibiòtics comercials, amb les respectives rèpliques.

	Antibiòtics sintètics (1)			Antibiòtics sintètics (2)			Farigola	All	Clau
<i>E. coli</i>	—			—			∅ efecte	2,7	1,4
<i>S. aureus</i>	Amox.	Cefal.	Gent.	Amox.	Cefal.	Gent.	∅ efecte	3,8	2,4
	1,7	1,8	2	1,75	1,8	1,9			

Figura 23. Diàmetre dels halos d'inhibició per les diferents soques i les diferents substàncies antibacterianes. Unitats: cm.

2.3.1. *Escherichia coli*

En les plaques d'*E. coli* amb antibiòtics (amoxicil·lina, gentamicina i cefal·lexina) no hi ha hagut creixement, però en canvi hem detectat una contaminació de *bacillus* (bacteris ambientals).

En les plaques amb farigola no es veu cap efecte. Per tant, podríem deduir que té un poder antibiòtic molt baix en aquestes dues soques, però per confirmar-ho caldria fer rèpliques de l'experiment.

A la resta de plaques s'hi aprecien halos d'inhibició, dels quals n'extraurem conclusions.

2.3.2. *Staphylococcus aureus*

En les plaques amb farigola no es veu cap efecte. Per tant, en podríem deduir que té un poder antibiòtic molt baix en aquestes dues soques, però per poder-ho confirmar caldria fer rèpliques de l'experiment.

En la resta de plaques s'hi aprecien halos d'inhibició, que analitzarem i farem servir per extreure'n conclusions.

2.4. Conclusions de l'antibiograma

Primer de tot, pensem que hi podria haver hagut un error en les condicions de treball a l'hora d'inocular la solució Ringer de la soca d'*E. coli* a alguna placa, fet que explicaria l'absència de creixement en les plaques dels antibiòtics sintètics. D'altra banda, cal destacar que en les plaques on hi havia el clau d'espècia hi ha hagut una forta coloració al voltant del centre de la placa, a causa del pigment natural d'aquesta substància. No podem saber del cert si aquest fet ha afectat els resultats.

Per analitzar la sensibilitat que els bacteris tenen als antibiòtics sintètics utilitzarem les dades que trobem en la taula d'*Interpretació dels Halos d'Inhibició*, de l'empresa *Liofilchem*.

		Sensible	Intermedi	Resistent
Amoxicil·lina	30 µg	≥ 21	14-20	≤ 14
Cefal·lexina	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14
Gentamicina	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12

Figura 24. Dades per analitzar la sensibilitat dels bacteris davant dels antibiòtics, segons l'empresa *Liofilchem*. Unitats: mm.

D'aquestes dades en podem deduir que l'*S. aureus* té una sensibilitat intermèdia per l'amoxicil·lina, encara que podem considerar que és resistent. En canvi, aquesta soca és sensible a la cefal·lexina i a la gentamicina.

Per analitzar la sensibilitat que mostren els bacteris envers les substàncies naturals no tenim cap taula de valors que reguli els resultats, però podem destacar algunes conclusions. En primer lloc, cal observar que la farigola no ha provocat cap reducció del creixement dels

bacteri, i per tant els bacteris hi són resistents. En canvi, a les plaques on vam introduir l'all s'hi distingeixen clarament uns halos d'inhibició molt grans, és a dir que és la substància a la qual ambdós bacteris són més sensibles. En el cas de les plaques amb clau, no podem extreure'n resultats concloents a causa del seu fort pigment.

3. ESPECTROFOTOMETRIA

L'espectrofotometria UV-visible és una tècnica utilitzada per determinar l'absorció de llum d'una mostra. L'espectrofotòmetre envia una radiació electromagnètica, en l'espectre de la zona de l'ultraviolat (180-380 nm) i la llum visible (380-780 nm). La mostra absorbeix part d'aquesta radiació, evoluciona cap a un estat excitat i finalment transmet un feix d'energia menor del que ha rebut. Així, l'espectrofotòmetre mesura la quantitat de llum que ha absorbit la mostra.

També serveix per determinar la concentració d'un compost en una dissolució. Per tant, es pot utilitzar també, com hem fet en aquest experiment, per analitzar el procés de creixement d'un microorganisme en un medi líquid. Per tal de fer-ho haurem de prendre dades de les dissolucions durant un temps determinat, i amb aquestes dades fer una gràfica o corba de creixement.

En aquest experiment en particular hem pres tres dades en total de cada dissolució: temps inicial, al cap d'una hora i al cap de vint-i-quatre hores. A més, s'han deixat dos recipients, un de cada soca, com a mostres de control, per comparar els resultats amb la dissolució sense antibiòtics.

3.1. Materials

- Vint recipients tancats
- Brain Heart Infusion (BHI)²⁷
- Espectrofotòmetre
- Agitador de vòrtex
- Bec de Bunsen
- Alcohol
- Campana extractora
- Pipeta monocanal manual
- Puntetes de pipeta
- All
- Farigola

²⁷ El BHI és una infusió de cervell i cor de vedella que serveix per enriquir el medi i perquè els microorganismes creixin molt ràpid.

- Clau
- Amoxicil·lina (30 µg/disc)
- Gentamicina (10 µg/disc)
- Cefal·lexina (30 µg/disc)
- Dissolució Ringer d'*Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* (0,5 McFarland)
- Pinces
- Estufa de cultiu

3.2. Procediment

Com hem dit a l'apartat de l'antibiograma, les mostres es poden contaminar fàcilment. Per tant, és important realitzar l'experiment amb estris i medis esterilitzats, i treballar sempre a prop d'una flama o a sota de la campana d'extracció per aconseguir una zona de treball estèril.

- Inocular 6 mL de la solució Ringer de cada bacteri als set pots respectius, que ja contindran el BHI.



Figura 25. Recipients amb BHI i les soques bacterianes inoculades.

- Introducció de les substàncies antibiòtiques.
 - En el cas de les substàncies naturals, cal introduir 0,5g de la substància prèviament esmicolada a dins dels recipients.
 - En el cas dels antibiòtics sintètics, cal introduir un disc a cada recipient. Com que els discos de la gentamicina són de 10 µg/disc en posarem tres, per tal de fixar les variables i que estigui en les mateixes condicions que l'amoxicil·lina i

la cefal·lexina.

- Cal deixar un pot de cada bacteri sense substància antibiòtica, per tal de fer el control.



Figura 26. Introducció dels discos d'antibiòtic comercial.



Figura 27. Recipients amb els 0,5g de les substàncies naturals.

➤ Presa de resultats.²⁸

- Prendre els resultats de l'espectrofotometria de cada recipient immediatament després de posar-hi els antibacterians, el temps inicial.
- Repetir-ho al cap d'una hora.
- Deixar els recipients a l'estufa de cultiu a 37°C (temperatura de creixement òptim) durant vint-i-quatre hores.
- Prendre els resultats espectrofotomètrics al cap de vint-i-quatre hores.



Figura 28. Espectrofotòmetre UV-visible SP-1103.

²⁸ Abans de prendre la mostra que ha d'anar a l'espectrofotòmetre barrejarem sempre el recipient amb l'ajuda de l'agitador de vòrtex, per tal que la dissolució s'uniformitzi.

➤ Fer una gràfica o corba de creixement amb les dades i analitzar-la.

3.3. Resultats i interpretació

		Control	Clau	All	Farigola	Amox.	Gent.	Cefal.
<i>E. coli</i>	0h	0,438	0,734	0,478	0,487	0,438	0,436	0,442
<i>S. aureus</i>		1,115	0,492	0,495	0,451	0,477	0,446	0,450
<i>E. coli</i>	1h	0,049	0,340	0,008	0,027	0,030	0,045	0,032
<i>S. aureus</i>		0,043	0,035	0,009	0,021	0,014	0,038	0,021
<i>E. coli</i>	24h	1,263	1,352	1,150	1,235	1,183	1,205	1,310
<i>S. aureus</i>		1,295	1,235	1,285	1,041	1,200	1,250	1,215

Figura 29. Taula de resultats de l'espectrofotometria. Unitats: nm.

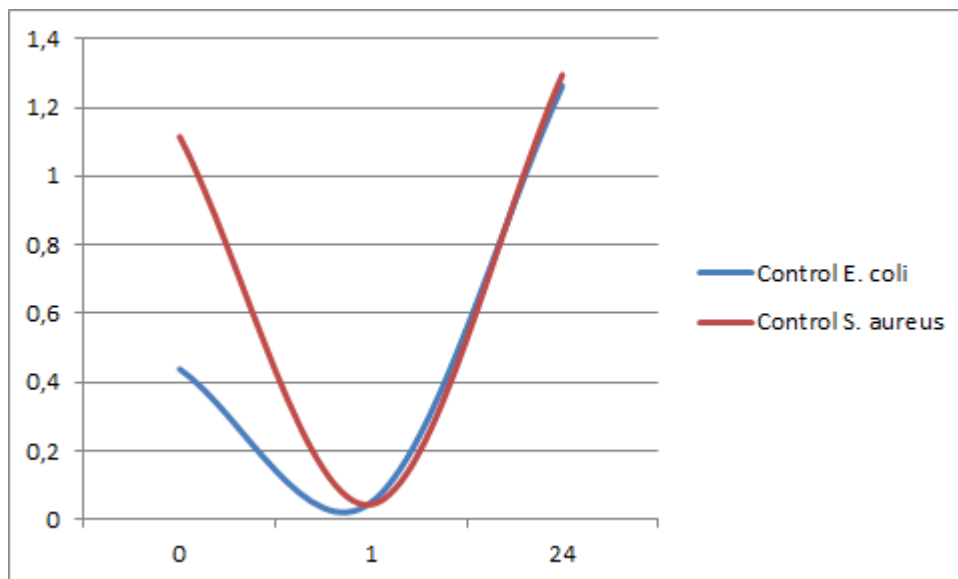


Figura 30. Corba de creixement dels controls de les dues soques. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

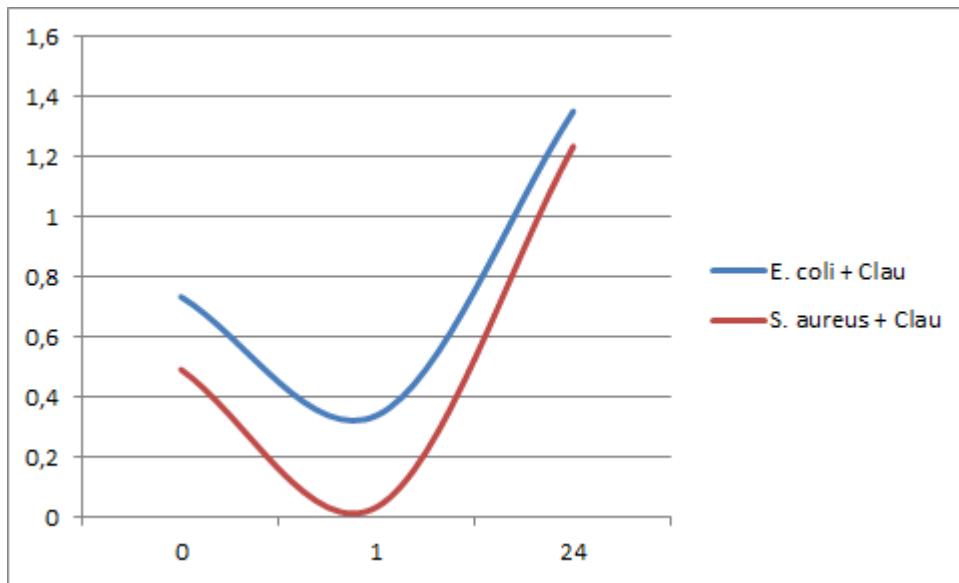


Figura 31. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte del clau. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

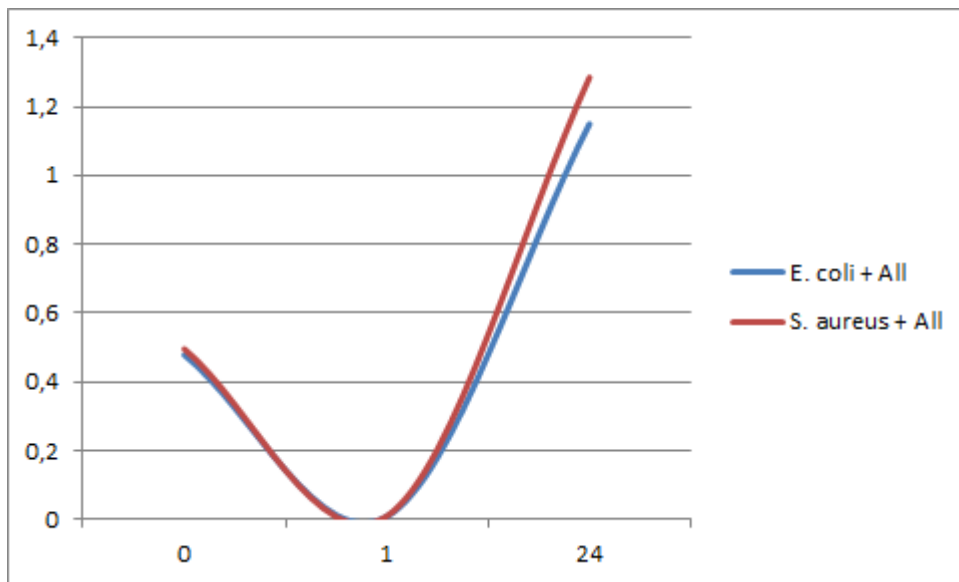


Figura 32. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte de l'all. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

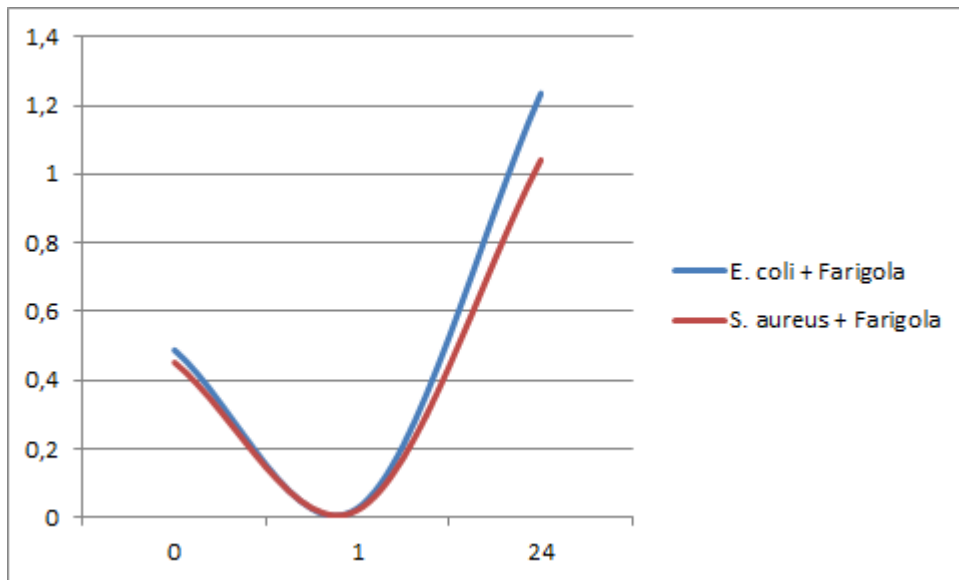


Figura 33. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte de la farigola. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

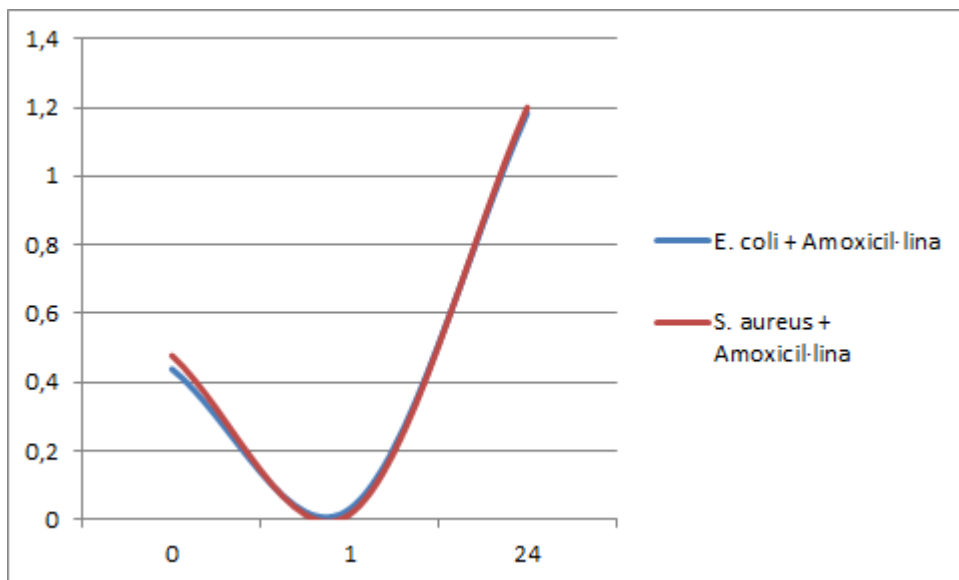


Figura 34. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte de l'amoxicil·lina. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

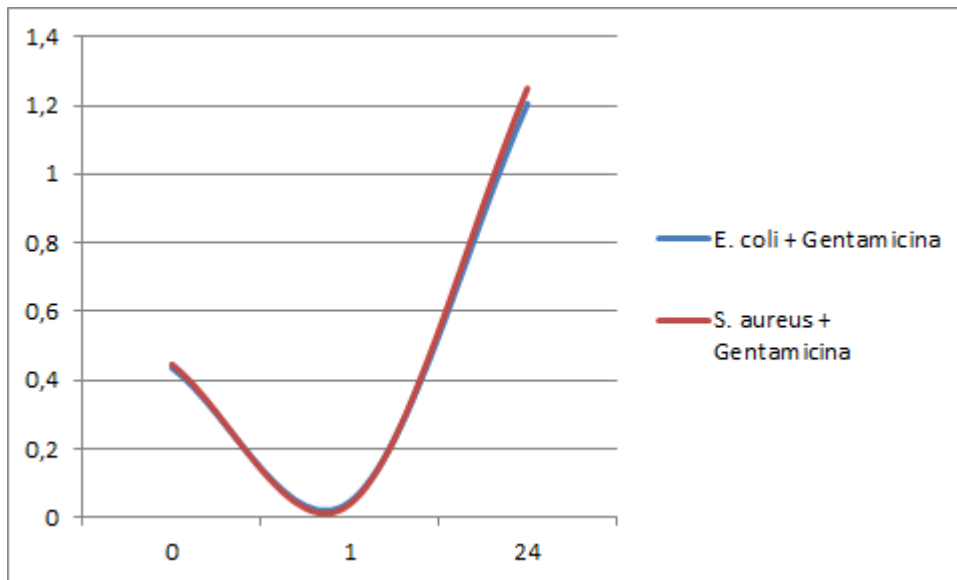


Figura 35. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte de la gentamicina. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

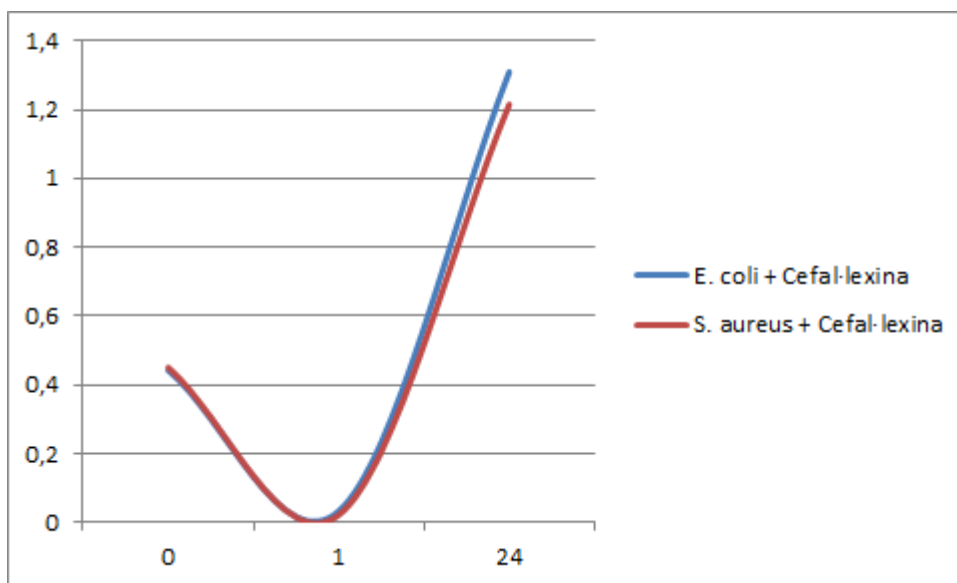


Figura 36. Corba de creixement de les dues soques amb l'efecte de la cefal·lexina. Unitats: eix d'abscisses (eix x) en hores, eix de coordenades (eix y) en nm.

3.4. Conclusions de l'espectrofotometria

Primer de tot cal destacar que hem observat coloracions del medi dels recipients amb antibiòtics naturals, sobretot en el cas del clau. Això haurà afectat notablement la lectura de l'absorbància de l'espectrofotòmetre, perquè interfereix en els resultats. Per evitar-ho en una altra ocasió, s'haurien de fer controls amb les substàncies naturals soles per observar el canvi d'absorbància provocat pel seu propi pigment, per tenir-ho en compte després en els resultats.

Podem veure que al cap d'una hora baixa molt la concentració de microorganismes, ja que l'absorbància captada per l'espectrofotòmetre és molt més baixa, però després es recupera. D'això en podem interpretar que hi ha una part dels microorganismes que no van ser eliminats, és a dir, que eren resistents als productes, i que durant les següents hores es van poder anar multiplicant.

Una segona lectura podria ser, en el cas dels productes naturals, que són productes volàtils i, per tant, poden perdre efectivitat al cap d'un temps.

Finalment, podríem tenir una tercera interpretació dels resultats, que consisteix en el fet que segurament vam inocular massa bacteris (6 mL) pel poc antibiòtic que vam introduir a cada recipient (30 µg).

Per analitzar els resultats de reducció de la població de microorganismes durant la primera hora compararem els percentatges de reducció de la població de cada recipient que conté substàncies antibacterianes amb els resultats obtinguts amb els recipients de control. Per tant, seguirem la següent equació:

$$\frac{\text{valor del control} - \text{valor amb antibacterià}}{\text{valor del control}} \times 100$$

Així, obtindríem aquests resultats:

<i>E. coli</i>	Clau	All	Farigola	Amoxicil·lina	Gentamicina	Cefal·lexina
Reducció	-593,9%	83,7%	44,9%	38,8%	8,2%	34,7%

<i>S. aureus</i>	Clau	All	Farigola	Amoxicil·lina	Gentamicina	Cefal·lexina
Reducció	18,6%	79,1%	51,2%	67,4%	11,6%	51,2%

Figura 37. Percentatges de reducció de la població en els diferents recipients al cap d'una hora.

Com podem observar, el recipient amb *E. coli* i clau dóna un resultat totalment fora de la normalitat, perquè el seu pigment no ha permès fer una bona lectura de l'absorbància de la mostra. Per tant, no tindrem en compte els seus resultats d'ara endavant, ni tampoc els de *S. aureus* i clau, per extensió.

Podem veure que tots els altres percentatges de reducció són positius, és a dir que la quantitat de microorganismes ha disminuït. Per tant, podem dir que totes les substàncies tenen un efecte bactericida sobre aquestes dues soques bacterianes, i cal destacar la gran efectivitat, en l'*E. coli*, de l'all i la farigola, i en l'*S. aureus*, de l'all, la farigola, l'amoxicil·lina i la cefal·lexina.

CONCLUSIONS FINALS

La hipòtesi principal del treball ha quedat corroborada. Efectivament, amb aquestes proves *in vitro* que hem dut a terme, podríem considerar, en alguns casos, un antibiòtic natural com a substància equiparable a un antibiòtic sintètic a l'hora d'actuar sobre un bacteri *in vitro*, no només sense perdre eficàcia, sinó fins i tot augmentant-la. Això ho podem veure clarament en el cas dels valors de reducció de la població en l'espectrofotometria, en què l'all sobresurt notablement d'entre les altres opcions tant en l'*E. coli* com en l'*S. aureus*, amb un 83,7% i un 79,1%, respectivament.

No tots els resultats, però, han estat concloents, i caldria augmentar el nombre de rèpliques per tal que tinguin més representativitat. Així, per exemple, la farigola ha obtingut resultats molt diversos: ha destacat en l'espectrofotometria de les dues soques bacterianes (44,9% de reducció de població), però en canvi no ha mostrat efecte en l'antibiograma. D'altra banda, la intensitat de la coloració del pigment del clau ha ocasionat problemes de lectura dels resultats, que es podrien esmenar fent un extracte de l'agent antimicrobià en el cas de l'antibiograma, o restant l'efecte exercit pel pigment en la lectura de l'absorbància en el cas de l'espectrofotometria. També caldria fer rèpliques per comprovar l'efecte amb diferents concentracions d'extractes dels antibiòtics naturals, així com de bacteris patògens.

Els agents antimicrobians han exercit un efecte diferent en cadascuna de les dues soques bacterianes estudiades. Si ens fixem en els percentatges de reducció de la població obtinguts en l'espectrofotometria, les substàncies antibiòtiques han estat més efectives en l'*Staphylococcus aureus* que en l'*Escherichia coli*, exceptuant l'all, que ha obtingut un percentatge lleugerament superior en el segon. Això significa que l'*E. coli* té una resistència més elevada envers els antibiòtics estudiats.

Un antibiòtic natural com l'all s'erigeix com a millor opció en totes les lectures, cosa que avala la medicina natural com a complement vàlid en algunes ocasions, contràriament a allò que haurien qüestionat alguns escèptics d'aquesta branca de la medicina, que haurien validat *a priori* l'amoxicil·lina, la gentamicina i la cefal·lexina com a substàncies més solvents. Insisteixo, però, en la necessitat de repetir l'experiment per tal d'augmentar-ne la fiabilitat. A més, la reacció de l'all envers els antibiòtics en un experiment *in vitro* pot ser molt diferent dels efectes terapèutics reals (*in vivo*) que tindria davant d'infeccions bacterianes.

D'altra banda, el canvi de paradigma alimentari que estem vivint actualment posa en valor la reducció d'antibiòtics sintètics a favor dels antibiòtics naturals. Aquest és un altre element a tenir en compte per elevar els estàndards de qualitat dels productes ramaders, tant en les granges ecològiques com en les convencionals.

Amb les entrevistes fetes a professionals de l'àmbit de la ramaderia i de la veterinària (vegeu annexos), m'he adonat que la voluntat de reducció de l'ús d'antibiòtics no és patrimoni exclusiu de les granges ecològiques, sinó que els protocols de les granges convencionals també van adreçats a aquest objectiu. És el cas del sistema de producció conegut com a "tot dins tot fora", que consisteix a introduir a les instal·lacions tots els caps de bestiar alhora i fer que segueixin tot el cicle de producció conjuntament, que compleix unes normes d'higiene i bioseguretat molt estrictes. Abans de començar un nou cicle, cal una desinfecció acurada de totes les instal·lacions.

De tota manera, actualment és utòpic poder criar un animal destinat al consum humà sense fer servir cap antibiòtic mentre no es modifiquin paràmetres econòmics bàsics. Així, els metres quadrats disponibles per cap i el respecte pel seu ritme vital són dos dels ítems que haurien de ser reconsiderats en el marc d'una cria intensiva que podria estudiar la supressió de l'ús d'antibiòtics. De fet, ja que cada vegada hi ha més soques bacterianes resistents, es preveu una data de caducitat per a l'efectivitat dels antimicrobians. De moment, però, no hi ha alternatives eficients; és una línia d'investigació que queda pendent per a futurs treballs.

Lluny de ser un fracàs, la necessitat de realitzar més rèpliques de l'estudi reforça la seva utilitat, en tant que l'ànim principal de les recerques és seguir investigant. Cada ítem de les conclusions esdevé un filó a desenvolupar en un futur, de manera que la filosofia és que cada recerca científica en generi d'altres que contribueixin a l'avenç científic. Aquesta ha estat la meva humil pretensió a l'hora de fer aquest treball.

BIBLIOGRAFIA

Llibres:

- QUINN, P. J., MARKEY, B. K. et al. *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. Saragossa: Editorial Acribia, 2002: pp 12-639.
- STANIER, Roger Y., INGRAHAM, John L. et al. *Microbiología*. Barcelona: Editorial Reverté, 1991. Capítols 1, 2, 3, 6, 7, 10 i 11.

Treballs de recerca:

- ENAMORADO, Maribel. *Antibiòtics naturals. Un mètode antimicrobià més eficaç?* [en línia]. Santa Perpètua de Mogoda: Institut Rovira-Forns, 2015. Disponible a http://rovira-forns.cat/files/TRDestacats/Antibi%C3%B2tics%20naturals_%20MARIBEL%20ENAMORADO.pdf
- PLANAS, Judit. *Prodigis amb data de caducitat. Resistència als antibiòtics i a altres substàncies antimicrobianes*. Banyoles: Institut Pere Alsius i Torrent, 2011.
- SAUBÍ, Cristina. *Estudi sobre l'efecte antibiòtic de productes alimentaris*. Banyoles: Institut Pere Alsius i Torrent, 2014.

Articles digitals:

- ABELLANA, Jaume (2017). *Els antibiòtics i la indústria de la carn* [en línia]. Ara: Economia. Recuperat l'agost de 2017 a https://www.ara.cat/economia/antibiotics-industria-carn_0_1716428370.html
- AGROLANZAROTE (2015). *Avicultura. ¿Convencional o ecológica?* [en línia]. Recuperat el maig de 2017 a [http://www.datosdelanzarote.com/Uploads/doc/Revista-Agrolanzarote-nº-31-\(octubre-2015\)-20151020152319135agro31_octubre2015_web.pdf](http://www.datosdelanzarote.com/Uploads/doc/Revista-Agrolanzarote-nº-31-(octubre-2015)-20151020152319135agro31_octubre2015_web.pdf)
- BAHAMONDE, F. J. (2012). *Colibacilosis porcina neonatal* [en línia]. Espanya: Porcicultura. Recuperat el juny de 2017 a <https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/colibacilosis-porcina-neonatal-t29490.htm>
- CAAE (2011). *Guía para la certificación ecológica* [en línia]. CAAE. Recuperat el maig de 2017 a [http://www.caae.es/attachments/article/8/guia_general\(1\).pdf](http://www.caae.es/attachments/article/8/guia_general(1).pdf)
- CHENG, G., HAO, H. et al. (2014) *Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?* [en línia]. NCBI: PubMed. Recuperat l'octubre de 2017 a <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4026712/>
- CLOSA, Daniel (2013). *Bacteris, antibiòtics i bestiar* [en línia]. Ara Ciència. Recuperat el juliol de 2017 a <http://ciencia.ara.cat/centpeus/2013/02/15/bacteris-antibiotics-i-bestiar/>

- COSTA, Natàlia (2017). *Per què hem de menjar ous ecològics?* [en línia]. Ara. Recuperat l'abril de 2017 a https://www.ara.cat/estils_i_gent/que-menjar-ous-ecologics_0_1763223682.html
- DÍAZ E., GUSTAVO M. (2016) *Uso de antibióticos en la ganadería lechera* [en línia]. Recuperat el setembre de 2017 a <http://articles.extension.org/pages/9858/uso-de-antibioticos-en-la-ganadera-lechera#top>
- DÍAZ-SÁNCHEZ S., D'SOUZA D. et al. (2015) *Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production* [en línia]. NCBI: PubMed. Recuperat el juliol de 2017 a <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25743421>
- EFSA (2017). *És hora de reduir, reemplaçar i repensar l'ús d'antimicrobians en els animals per a producció d'aliments* [en línia]. Generalitat de Catalunya: Agència Catalana de Seguretat Alimentària. Recuperat el juny de 2017 a <http://acsa.gencat.cat/ca/detall/noticia/Es-hora-de-reduir-reemplacar-i-repensar-lus-dantimicrobians-en-els-animals-per-a-produccio-daliments.-EFSA>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (2016). *The FAO action plan on Antimicrobial Resistance* [en línia]. FAO. Recuperat el juny de 2017 a <http://www.fao.org/3/a-i5996e.pdf>
- GONZÁLEZ A., REDONDO F. et al. (2011). *Manual de conversión a la producción ecológica* [en línia]. Sevilla: Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera: Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación. Recuperat el maig de 2017 a http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Manual_de_Conversixn_a_la_Produccixn_Ecolxgica.pdf
- PRIETO, J. (2017). *Antimicrobianos en agricultura y ganadería* [en línia]. Esfera Salud. Recuperat el juliol de 2017 a <http://esferasalud.com/alimentacion-salud/antimicrobianos-agricultura-ganaderia>
- SANMARTÍN, J., MARTÍNEZ, C. et al. (2017). *Síndromes colibacilares en el ganado porcino* [en línia]. Recuperat l'agost de 2017 a <http://bmeditores.mx/sindromes-colibacilares-en-ganado-porcino/>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1999). *WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. 1* [en línia]. Gènova, 1999. Recuperat el juny de 2017 a <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42052/1/9241545178.pdf?ua=1>

Pàgines web:

- AMCRA (2017) [en línia]. Center of Expertise on Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals. Recuperat l'abril de 2017 a <http://www.amcra.be/en>
- FERNÁNDEZ, Fabiola (2012). «Técnica analítica de la espectrofotometría» [en línia]. *Espectrofotometría*. Recuperat el setembre de 2017 a <http://espectrofotometria.blogspot.com.es/2012/01/tecnica-analitica-de-la.html>
- HANS, J. (2014). Mecanismo de acción de los antibióticos [en línia]. Lambayeque: UNPRG. Recuperat el juny de 2017 a <https://es.slideshare.net/HansJc/mecanismo-de-accin-de-los-antibioticos>
- VQUIPÈDIA. L'ENCICLOPÈDIA LLIURE (s. d.) [en línia]. Disponible a <https://ca.wikipedia.org/wiki/>
- «Infecciones por Escherichia coli en cerdos» (s. d.) [en línia]. 3tres3. Recuperat l'agost de 2017 a <http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/nfondevila/ecoli.htm>
- «Les propietats medicinals de l'all» (2014) [en línia]. El blog del Bo de Bo. Recuperat el juny de 2017 a <http://elblogdelbodebo.blogspot.com.es/2014/03/les-propietats-medicinals-de-lall.html>
- «¿Qué es una granja ecológica?» (2016) [en línia]. Granja Ecológica Las Pencas. Recuperat el juny de 2017 a <http://www.laspencas.es/>
- «Remedios con plantas medicinales con propiedades antibióticas». *Antibióticos naturales* (2017) [en línia]. Botanical online. Recuperat l'agost de 2017 a <https://www.botanical-online.com/medicinalsantibioticosnaturales.htm>
- «Staphylococcus en animales» (s. d.) [en línia]. EcuRed. Recuperat el juliol de 2017 a https://www.ecured.cu/Staphylococcus_en_animales#Estructura_ant.C3.ADgena

ANNEXOS

Transcripció de l'entrevista amb l'Alberto Moreno (28-6-17)

Si fas servir antibiòtics afavoreixes l'aparició de resistències. És molt important fer el tractament complet, perquè si deixes de prendre'l quan ja et trobes bé fas una selecció artificial dels més forts, que són el petit percentatge que sobreviu si no acabes el tractament (apareixen soques resistents).

Període de neteja obligatori (amb pinsos de retirada) abans de consumir la carn. La tendència general és utilitzar els antibiòtics només quan són necessaris, sense utilitzar la metafílaxi o els antibiòtics profilàctics, que són tractaments preventius a l'engròs.

Hipra ha creat el programa Orígens (el seu objectiu és acabar no fabricant cap més antibiòtics), que aposta per la cria d'aviram sense fer servir cap tipus d'antibiòtic. Ha començat per l'aviram perquè és el més senzill, i el proper pas són els porcs. Procés: Hipra va a l'empresa interessada, fa tot un estudi per l'estat de salut dels animals, la història de la granja, etc., posen totes les dades recollides a un programa informàtic que fa una metaanàlisi i una anàlisi multivariant. Així donen uns índexs que diuen si la granja té possibilitats d'entrar al programa i que funcioni, o si no és així, determina què és el que cal millorar. A les granges que ho poden tirar endavant, Hipra els dissenya un pla de vacunacions i diferents consideracions pel que fa al maneig dels animals, de manera que garanteixen que podran arribar a la fi del procés sense haver fet servir cap antibiòtic. Després aquestes gallines les poden vendre com a carn lliure d'antibiòtics, un producte que cada cop té més demanda.

McDonald's fa temps que compra només aquesta carn, i altres grans empreses com Mercadona també estan entrant en això també.

Com ho fan per evitar infeccions?

- Neteja i desinfecció
- Maneig adequat: m² mínims per animal, etc.
- Tot dins tot fora: consisteix en entrar a les instal·lacions tots els caps de bestiar, i no deixar entrar o sortir cap animal més fins que s'hagi acabat tot el cicle de producció. Si passen uns dies i no hi ha cap brot de malaltia, en teoria no hi haurà d'haver cap brot nou en tot el cicle. Només entrarà el personal, que segueix protocols estrictes d'higiene (es canvia de roba, porten monos nets que no surten d'allà, etc.). Quan

s'acaba el cicle i es treu el bestiar, es desinfecten totes les instal·lacions i torna a començar el cicle.

- Aquest procés és fàcil de fer amb aviram, però amb animals com les vaques no es podria fer.

Les vacunes bacterianes són una alternativa als antibiòtics. Hi ha diferents tipus:

- Matar el bacteri per calor (bacterina)
- Amb compostos químics (formaldehids)

O si no el mates:

- Trossejar la vacuna
- Fer un extracte del bacteri per quedar-te el que t'interessa: proteïnes de dins o de fora (càpsida)
- Recombinants (bacteri model *E. coli*, i posar-li un gen extern modificat (per exemple una toxina) de manera que quedi mal plegada i no sigui dolent, "toxoid").

Arguments per utilitzar antibiòtics:

Són imprescindibles, però s'han d'administrar sense abusar-ne.

Són controlats molt estrictament per diferents normatives.

El motiu que duu a fer servir antibiòtics en comptes d'altres alternatives és l'econòmic.

Quan un antibiòtic ha generat resistències i ja no és efectiu has de trobar-ne un altre que sí que ho sigui, per quan el bestiar ja està infectat (no hi ha gaires alternatives). El que sí que es pot fer és posar mesures preventives per no arribar a tenir la infecció.

- Maneig adequat i vacunació adequada
- Ús adequat dels antibiòtics per no generar tantes resistències (no abusar-ne)
 - Dur a terme tot el cicle de tractament, sobretot al final (per no fer selecció dels més forts, explicat anteriorment)

Medicines alternatives: l'acupuntura està demostrada, però s'utilitza en humans.

- Immunoestimuladors naturals (ginseng) que s'adjunten a les vacunes i les fan més eficients.

Administració de vacunes:

- Punxar els animals un a un
- En peixos: per immersió (abocar el producte a la piscina perquè hi estiguin en contacte una estona, o agafar els peixos amb salabres i submergir-los uns segons en la solució)
- Vacunació de pollets per esprai: màquines Hipraspray. Els pollets passen per una cinta transportadora, se'ls tira la solució perquè la respirin i se'ls deixa anar.
- Vacunació “in ovo”: punxar els ous fecundats de manera que els pollets neixin ja vacunats
- Esprai de gota grossa: ruixar la superfície amb una solució amb colorant (per exemple vermell), les gallines tenen curiositat i el picotegen, de manera que s'autovacunen.
- En aigua de beguda: tancar una estona els abeuradors perquè els animals comencin a tenir set, i tornar-los a obrir i que tinguin la solució amb la vacuna introduïda. Els animals van directes a beure l'aigua i s'autovacunen. No usual en animals grossos.

Testar antibiòtics: proves de seguretat (administrar una sobredosi de l'antibiòtic, doble o deu dosis) i eficàcia (administrar l'antibiòtic a un grup i tenir un grup control, posar-los en contacte amb un patogen, i demostres l'eficàcia segons la disminució de l'efecte en els vacunats respecte els de control).

Els resultats obtinguts al laboratori contra els resultats reals un cop posat en pràctica: tenen relació, però en el cas real pot ser que s'hagi creat un biofilm (al laboratori està en suspensió), bacteris en pausa que impedeixen que l'antibiòtic traspassi. Són les infeccions típiques de gent que porta pròtesis o catèters.

Enginyeria genètica i biologia sintètica: es fan servir a vegades (bio sint: fabricar virus immunògens). Els medicaments dirigits són més d'humana per raons de preu.

Diferències en el producte final: sembla que no hi ha diferències gastronòmiques, ja que s'han fet tasts a cegues. Pot dependre de l'aliment que s'administra (per exemple pinsos basats en peix).

Transcripció de l'entrevista amb l'Eduard González (28-6-17)

Actualment es treballa perquè els productors de porc puguin treballar sense medicacions digestives.

Fases que passa un garrí:

Fase 1: Gestació (3 mesos, 3 setmanes i 3 dies) i lactació (21-28 dies).

Fase 2: Deslletament i separació de la mare (60 dies). 6 kg a 20 kg. Fase de més consum d'antibiòtics.

Fase 3: 20 kg a 110 kg. Engreixament per portar a l'escorxador.

És utòpic actualment poder criar un porc sense fer servir cap antibiòtic, al contrari de l'aviram. Pel tipus de condicions de vida té moltes possibilitats de tenir una malaltia. Es fa una cria intensiva, amb poc espai pels animals, per tal que el preu de la carn sigui baix. Si es volgués fer cria sense antibiòtics s'hauria de deixar uns m² determinats per cada animal, no tenir pressa a l'hora de criar-los, etc.

Actualment hi ha gent que està més disposada a pagar més per carn de més qualitat. Tanmateix, el percentatge que aquesta gent representa del mercat global és molt petit.

A Espanya el 52% de la producció de carn s'exporta a fora. Si encarim molt el cost es perd el mercat exterior i el sector s'enfonsa.

Arguments per convèncer una persona que la carn no té cap traça d'antibiòtics:

Els antibiòtics s'administren en la seva majoria quan el porc té de 6-20 kg. Quan és enviat a l'escorxador, amb 100 kg, no hi ha antibiòtic a la seva carn. Dels 20-100 kg se'ls administra un pinso blanc, neutre, i només se'ls dona antibiòtic quan realment tenen una patologia.

Els escorxadors tenen programes estrictes de control de presència d'antibiòtics a la carn.

Alternatives per utilitzar menys antibiòtics (no per deixar-los d'utilitzar):

- En patologies digestives: la infecció més típica en porcs és per *E. coli*. Per controlar-ho hi ha estratègies alternatives, a nivell nutricional, de maneig i d'instal·lacions.
- Fer una bona neteja i desinfecció, treballar amb "tot dins tot fora", etc. Hi ha granges que no ho respecten per pressa (per voler produir ràpidament).

- Vacunes: administrar-les a les mares, i posteriorment via calostre transmeten immunitat per determinats E. coli. Si la mare està ben immunitzada no s'haurà d'utilitzar tants antibiòtics en els fills.
- Nutrició: hi ha productes naturals demostrats (p. e. Àcids grassos de cadena mitja: àcid làuric, àcid caproic, etc., Olis essencials: orenga, etc.) que milloren la digestió. Tenen efectes bactericides i bacteriostàtics, i controlen el creixement de l'E. coli. Aquests productes normalment s'afegeixen al pinso (additius).
- Immunomodular els animals mitjançant la dieta: aconseguir que la microbiota de l'animal guanyi a la microbiota patògena.
- Per patògens respiratoris: és més complicat d'administrar, i per tant s'han de fer servir antibiòtics injectats. Si que existeixen bones vacunes contra alguns bacteris respiratoris, com el Mycoplasma. De vacunes víriques també n'hi ha moltes, i eficients.
- Normes de bioseguretat: no estan definides, cada explotació les determina. És un conjunt de pràctiques que es fan a la granja per evitar l'entrada de patògens i la reproducció dels patògens un cop són a dins.
- Tancar bé la granja: controlar animals (ocells, rates, etc.) i persones que entren (control de visites estrictes). Una persona s'hauria de dutxar i canviar de roba i calçat.
- Neteja i desinfecció després de cada cicle. Eliminar els residus, rentar amb aigua i sabó, esbandir amb aigua calenta, aplicar un bon desinfectant i deixar assecar.
- Densitat d'animals: estan marcades per una normativa, i et diu quants animals hi pot haver a cada m², depenent del seu pes o volum.

En granges on els porcs poden tenir tancats a l'aire lliure (normalment ibèrics) els animals estan més exposats a vectors (transmissors de malalties). Sí que hi ha granges semiextensives d'avicultura, on les gallines ponedores tenen tancats per córrer.

Hi ha molt poques granges ecològiques perquè hi ha poca demanda. A grans trets, la diferència més important entre les ecològiques i les convencionals és el pinso que ingereixen els animals. En una granja intensiva convencional el pinso és a partir de blat, soja, ordi i blat de moro normals (OGM, etc.), i en les ecològiques està fet amb matèria primera certificada com a ecològica, que és molt difícil de trobar. Això vol dir que el preu és molt més car, i per tant la producció de porc ecològic és molt escassa. En gallines i vedelles és més fàcil.

Metafilaxi i profilaxi: Actualment la profilaxi està molt controlada. Fa poc Europa va posar un pla en marxa per reduir l'ús de Colistina, perquè es fa servir en medicina humana per tractar bacteris molt forts com a últim recurs. Per tant, s'ha reduït molt l'ús per evitar crear resistències. L'ús profilàctic de la Colistina està molt perseguit actualment, però sí que es permet l'ús metafilàctic. La metafilaxi és el tractament en massa d'un grup d'animals pel sol fet que s'han començat a veure símptomes de malalties infeccioses en un parell d'animals. La profilaxi es continua fent sobretot via pinso, i també la metafilaxi, fent servir antibiòtics com amoxicil·lina, doxiciclina, etc.

El primer que es mira en una central lletera és: cèl·lules somàtiques (per saber si hi ha infeccions a la glàndula mamària) i si hi ha antibiòtic (perquè no es podrien fer iogurts).

Opinió personal: Els antibiòtics són totalment necessaris, sense ells no podríem criar els porcs com ho fem ara. Històricament se n'ha fet un abús, perquè suposava una millora econòmica per al ramader. Actualment està prohibit fer-los servir com a promotors del creixement. Estem en via de corregir aquest abús perquè Europa ens pressiona a fer-ho. Holanda, Dinamarca i Alemanya són els altres tres països on es produeix molt de porc, però si comparem les xifres d'ús d'antibiòtic, Espanya els sobrepassa de molt. La gent té la percepció que els porcs es crien a palades d'antibiòtic, que la llet i el pollastre estan plens d'hormones (quan fa molts anys que no es donen hormones per engreixar-los). En definitiva, que la ramaderia provoca moltes resistències als antibiòtics. En humana també se n'ha fet un mal ús durant molts anys, metges que receptaven antibiòtics preventius, gent que s'automedica a casa amb antibiòtics, o gent que no respecta el termini de la medicació.

El 100% de les dietes dels animals de granges convencionals provenen de productes transgènics (OGM). La gent en té molt mala visió, però d'entrada sembla que no és cap problema.

De tant en tant hi ha hagut crisis del sector càrnic, com la publicació fa poc de la OMS que deia que la carn vermella i la carn processada eren molt cancerígenes, les dioxines a Alemanya fa uns anys o, si anem més enrere, la malaltia de les vaques boges (es van descobrir els prions, talls de RNA infectiu que poden provocar malalties com la de Creutzfeldt-Jakob, anomenada *malaltia de les vaques boges* en bovins o Scrapie en ovins).

Òxid de zinc: inhibeix el creixement de patògens i no s'absorbeix, serveix per tractar problemes digestius. Es va descobrir fa poc i s'ha fet servir molt, però s'està a punt de prohibir perquè pot donar problemes ambientals. S'acumula en els purins i és molt tòxic i contaminant.

Transcripció de l'entrevista amb la granja La Selvatana (1-9-17)

Per obtenir el certificat de granja ecològica: t'inscrius com a ecològic, passes un temps de transició (les terres tarden dos anys i els animals sis mesos). Tens com a mínim una inspecció obligatòria a l'any, durant la qual comproven que compleixis totes les normatives. Aleshores tens un segell que es renova anualment.

Ser ecològic no vol dir no fer servir cap antibiòtic. En producció ecològica està prohibit medicar un animal (en aquest cas, una vaca) més de dos cops l'any. També està prohibit medicar de manera preventiva.

Les vaques lleteres, un cop tenen una vedella, van fent llet fins el dia 100, que és quan en fan més. A partir d'aquest dia la producció baixa fins que se'ls acaba la llet. Això seria insostenible, perquè una granja de vaques és com un hotel: han de pagar el menjar (un dia de pinso i palla equival a 6,5€ per vaca), l'allotjament, el manteniment, etc. Per tant no pots tenir vaques que no fan llet. Per tal que no es quedin sense llet han de tornar a parir: les inseminem, i quan falten més o menys dos mesos per parir les deixem de munyir.

El que fan en granges convencionals en aquests casos és posar tubs d'antibiòtics al braguer perquè no agafin mastitis. Això seria medicina preventiva, i en ecològic està prohibida.

Què es fa en aquests casos en ecològic: com que en les granges ecològiques es fa menys llet (una mitjana de 20 o 22 litres al dia per vaca, envers els 31 litres de les convencionals), les vaques estan més relaxades i tenen el sistema immunològic molt més fort. Per tant hi ha molts menys problemes. A més, quan s'eixuga una vaca (es deixa de munyir) té menys necessitats energètiques i el menjar és més suau.

Es mediquen les vaques només en cas que sigui necessari. En granges de vaques de llet, la malaltia més habitual és la mastitis. Quan l'actual propietària va arribar a l'explotació, era habitual tenir una galleda plena de xeringues a punt per tal d'injectar antibiòtic a la vaca quan calgués. Va decidir fer una prova: durant dos o tres mesos, quan hi havia un quarteró (les quatre mamelles que té cada vaca) que tenia mastitis, a la meitat els donava antibiòtic i a l'altra meitat no. Amb això va comprovar dues coses: que hi havia un alt índex de curació

espontània i que, de les vaques que semblava que es curaven, ho feien durant tres setmanes, després de les quals requeien, la qual cosa demostrava que hi havia bacteris que s'encapsulaven i que al cap d'unes setmanes tornaven a ser actius.

Una granja ecològica no pot punxar hormones per sincronitzar el zel de les vaques, com es fa a les granges convencionals. A més, un zel natural és molt més fèrtil que no pas un zel induït. S'ha d'estar a l'aguait de les mostres de zel de les vaques per tal de prenyar-les. Si no es fa, es queden sense llet.

Per tant, com prevenen la mastitis? Bàsicament s'ha de tenir un nivell altíssim d'higiene. Patis molt i molt nets, higiene de mugrons molt acurada, higiene molt estricta a l'hora de munyir. Tenir les munyidores molt ben balancejades, que no perdin buit, etc. En aquest moment hi ha quatre vaques amb mastitis, però no és preocupant perquè són coagulases negatives, sense febre. Moltes vegades es cura de manera espontània, altres vegades el millor és munyir a part el mugró afectat, cada cop menys cops fins que s'asseca. Encara que es perdi productivitat, es redueixen els problemes.

Altres malalties freqüents:

La mastitis colibacil·lar s'ha de medicar, perquè les toxines passen a la resta del cos i els animals poden morir. Aquest cas mereixeria medicació per no perdre la vaca.

Cal vigilar molt els vedells. Quan hi ha moltes pluges i humitat poden agafar pulmonies, són petits i dèbils. Cal medicar-los si tenen tos, abans que es debilitin massa.

Una altra cosa molt habitual en vaques és el quall. És una operació gran però amb un alt índex d'èxit, i la superen molt bé.

Cal donar calostre als vedells per proporcionar-los defenses: el primer dia amb la mare, llavors a través del biberó. Així tindran el sistema immunitari més fort. Després ja se'ls socialitza.

Vam veure la infermeria, on hi havia vaques una mica coixes, de resultes d'accidents durant la monta o altres.

Una altra estança era la de maternitat. Les vaques tenen un temps de gestació semblant als humans, 270 dies (9 mesos).

El que fan quan estan a punt de donar a llum és separar-les i observar-les, per tal que puguin parir soles. Si cal les ajuden. No cal pas fer molta força, sinó que cal penjar-se del vedell que està sortint. És una feina esgotadora.

Quan hi ha malalties que afecten molts animals, en comptes d'utilitzar antibiòtics bactericides o bacteriostàtics, què es fa? Per sort, no tenen casos massius de malalties que afectin tot el ramat.

Tenen algun aigüerol: es clava una pedreta, els creix el casc a sobre i els fa tant mal (el líquid dins de l'ungla) que no poden caminar per la pressió del líquid per sota l'ungla. El ferrer els aixeca el casc, els el rebenta i s'arregla la situació.

Pododermatitis o laminitis (cascos tous). Un excés de proteïnes provoca mal als peus. En una granja convencional administra un 60% de concentrat i un 40% de farratge. En ecològic, els percentatges s'inverteixen. Fins i tot administren menys d'un 40% de component proteic. Així no es tenen tants problemes a les potes.

La fitoteràpia o l'homeopatia també es fan servir, però allà no ho fan servir. L'homeopatia no convenç a la propietària, perquè una dissolució amb una concentració tan petita no la veu efectiva. A més, en animals no se sol fer servir de manera individualitzada, sinó per problemes generalitzats del ramat, cosa que, per sort, no es troben.

La majoria dels problemes no els tenen perquè les vaques no tenen estrès. Tenen un tancat sense restriccions per tal d'entrar i sortir quan volen. Fitoteràpia sí que en van utilitzar al principi, però poca. Hi ha poca incidència de malalties, i quan n'hi ha una de grossa, s'ha d'anar a per totes, no es pot jugar amb l'animal.

A més, en el cas d'aquests tractament alternatius, fa por que tingui una conseqüència en el gust de la llet, perquè la majoria dels productes són d'administració oral. Per exemple, després d'utilitzar fitoteràpia (l'all, el julivert, la carxofa...).

Requeriments de qualitat de la llet: com que ells actuen com una central, estan obligats a tenir les analítiques de cada setmana. De la llet crua, tres analítiques setmanals i de l'obrador moltes més.

Què es controla? Llet crua: menys de 400000 cèl·lules somàtiques, menys de 100000 de bacteriologia, que no hagi posat aigua a la llet.

Greix, urea i proteïna també són analitzats.

Si per culpa d'una malaltia un animal ha estat tractat més de dos cops (dues malalties en un any), què es fa?

Una vaca que té tants problemes no pot seguir al ramat. És un animal que no té futur a la granja, s'envia a l'escorxador.

La normativa, en teoria, diu que l'has de separar del ramat però, on la poses? Què en fas, de la seva orina i la seva femta?

Mentre estan en tractament es pot comercialitzar la llet? Les restes d'antibiòtic estan controlades tant en convencional com en ecològic. En ecològic, cal doblar el període de supressió dels medicaments de la llet del que indica l'envàs del medicament.

S'administren tractaments metafilàctics: Si més d'un 15% del lot té la malaltia? o profilàctics?

El tractament preventiu està prohibit, en ecològic. Caldria contemplar el tractament massiu si els vedells agafessin pulmonia, per exemple. Però és molt difícil controlar la dosi. Tot i diluir-la en aigua, el més malalt serà el que menys voldrà anar a beure. És complicat.

Només tenen femelles, els mascles es venen en una granja de carn.

Diferència de preu entre un tractament ecològic i un tractament convencional? La medicació és la mateixa.

Les granges molt grans tenen veterinaris propis. Els veterinaris fan qualls, inseminar, diagnosticar i poca cosa més. Cada vegada hi ha menys veterinaris de vaques, perquè cada vegada hi ha més processos que poden fer els grangers tots sols.

Actualment estan muntant un robot de munyir, ja no munyiran més a la sala. Els munyidors (les persones) són cada vegada menys i és més difícil trobar-ne de bons, que siguin polits, que ho facin bé. És moltíssima feina.

El robot neteja i muny. Han anat a Galícia per veure un robot com el que han triat. El robot té una càmera tridimensional. Les vaques volen tornar a entrar a munyir, perquè mentre es munyen els cau pinso.

Medeix paràmetres de la llet que indiquen el moment de l'ovulació. És una passada, però caldrà treballar molt per pagar-lo, és caríssim!

CORRESPONDÈNCIA RELLEVANT

Primera Trobada Programa Argó

Marina Feliu

28 de març de 2017 a les 23:00

Per a: Anna Muñoz

Hola Anna,

La trobada va anar bé, i hi havia tres alumnes més. Tots vam explicar una mica el nostre punt de partida del treball, i tots són bastant diferents uns dels altres. El tutor ens va dir que li semblaven bé totes les propostes i ens va dir el que podíem fer per tenir-ho fàcil, però la veritat és que ell mateix ens va dir que no participaria gaire en les decisions que prenguéssim, sinó que ell era una figura de suport i d'ajuda per buscar informació. Ens va dir que nosaltres érem els líders. Ell no es llegirà el treball, ni el corregirà, només li hem d'enviar una còpia quan l'hàgim defensat i que el treball ha de dur el nom del programa Argó. Quan acabem farem una mini presentació entre els quatre que fan el treball amb el mateix tutor. Vaig quedar una mica decebuda perquè esperava que ens ho pautés més, però suposo que és normal.

A continuació et faré una mica de resum del que li vaig dir i d'idees que m'han anat venint, també ajudada pels meus pares. T'he de confessar que els articles que el tutor ens va enviar me'ls he llegit bastant per sobre, però aquest cap de setmana miraré de posar-m'hi, mirant quin em pot interessar.

Al tutor li vaig dir que volia comparar dues granges, una d'ecològica i una altra de convencional, visitar-les i veure com tracten les malalties i infeccions, i quina és l'efectivitat d'aquest tractament. També voldria fer una introducció teòrica aclarint alguns conceptes com què vol dir ecològic, els reglaments vigents sobre els antibiòtics... Amb això miraria quines granges són realment ecològiques (mirant el reglament del Consell Català de Producció Agrària Ecològica), o quina idea tenim sobre les ecològiques i si estem equivocats (com a persones "normals", s'entén).

Podria fer una hipòtesi inicial que fos extrema, com ara que les granges ecològiques no fan servir antibiòtics i les convencionals en fan servir moltíssims, que seria la visió que en tenim externament.

També li vaig dir que m'agradaria fer un seguiment sobre quant triguen a marxar de l'organisme dels animals els antibiòtics; ell em va dir que això ja es controlava i es pautava un període de retirada amb pinsos diferents segons els animals, però que si em feia gràcia podia fer un petit anàlisi d'orina (fer una hipòtesi i respondre-la, encara que no seria gaire fiable per la falta de rèpliques de l'anàlisi).

El tutor em va donar la idea d'aprofundir potser en el maneig dels animals a la granja, si hi havia condicions precàries que condicionessin l'aparició de malalties (ell en va dir bioseguretat). També va dir que podria fer entrevistes a algun veterinari i algun granger preguntant-los sobre quins són els factors que diferencien les granges per la propagació de malalties (nombre d'animals per corral, sistemes de seguretat respecte les epidèmies que vénen de fora...), com perceben l'ús d'antibiòtics i el seu posicionament davant d'això, quina mortalitat poden tolerar les granges econòmicament (si les granges ecològiques accepten que tindran menys rendiment), el posicionament respecte la metafilaxi (tractament en massa preventiu), si els antibiòtics profilàctics (preventius) són necessaris, etc. És a dir, establir uns indicadors per poder fer un treball comparatiu.

També podria fer una llista amb les malalties més comunes i com es tracten, però potser no és necessari.

Tot això que he dit podria ser interpretat en contra dels antibiòtics, però també voldria obrir un debat sobre si els antibiòtics són dolents, perquè sembla que no arriben al producte i ajuden al sector ramader a tenir més rendiment. Aquesta és la posició del tutor. Els antibiòtics no són dolents. L'abús sí, perquè s'han creat resistències. De fet, si la carn es veu afectada o no per la ingesta d'antibiòtics és una qüestió que està controlada a l'escorxador. A alguns dels altres nois, els va dir que es possessin en contacte amb un escorxador.

Finalment ens va dir que ens llegíssim bé els articles, que eren molt interessants, i que visitéssim la web *PiGutNet* (<http://www.pigutnet.eu/>), una xarxa europea d'investigadors sobre la cria del porc. D'aquí, si volem, ens pot donar contactes d'alemanys i de danesos, sobretot.

També ens va dir que hi havia una cosa que es deia una *call* dirigida per en Jordi Serratos, un antic membre de l'Agència Europea de Seguretat Alimentària, que té molts contactes.

Aquest cap de setmana tinc la intenció de fer un esquema amb les parts que veig factibles per al treball i mirar quins articles m'interessen dels que ens va enviar. Què et sembla si t'ho envio després per correu?

Fins aviat,
Marina

Informació

Marina Feliu Hernández

2 de juliol de 2017 a les 18:50

Per a: José Francisco Pérez Hernández

Hola José Francisco,

Necessitaria algunes coses per continuar avançant el treball de recerca, no sé si tu me les podries proporcionar:

- Voldria fer un antibiograma. Ja tinc laboratori, però necessitaria plaques de Petri amb cultius de E. coli i Streptococcus, i també les mostres d'antibiòtic que podríem fer servir. Podria fer servir antibiòtics com Colistina, Neomicina, Amoxicil·lina, Florfenicol, Ampicil·lina, Cefalosporina o Lincomicina (no tots, sinó tres o quatre). Per fer la tinció de Gram, comparant els negatius i els positius, també necessitaríem reactius de Gram.
- La universitat em deixaria les instal·lacions per fer una espectrofotometria, per estudiar la corba de creixement d'un bacteri amb i sense antibiòtic?
- Tens algun contacte a prop de Middlesbrough, a Anglaterra? Hi vaig uns dies a l'agost en una estada de ciència i podria aprofitar per visitar alguna granja per veure les condicions de bioseguretat, les instal·lacions, etc.

Moltes gràcies,

Marina Feliu Hernández

José Francisco Pérez Hernández

4 de juliol de 2017 a les 5:57

Per a: Marina Feliu Hernández

Cc: Maria dels Àngels Calvo Torras

Hola Marina,

yo creo que para el antibiograma no necesitas dosificar antibióticos. Hay procedimientos preparados para hacerlos con placas de petri y unos pequeños trozos de papel impregnados con cada antibiótico.

Hay una profesora en nuestra facultad que os pueda ayudar. Aunque me sabe mal porque estoy abusando de ella cada dos por tres. Creo que este viernes y próximo lunes podría ayudarte con esto.

El tema de la curva de microorganismos, lo podemos mirar tb cuando vengas.

No te puedo ayudar con los contactos en Inglaterra; pero quizás una vez allí te lo puedan facilitar.

ya nos dirás

Fco

Informació i materials TdR

Marina Feliu

2 de juliol de 2017 a les 18:45

Per a: Anna Muñoz

Hola Anna,

Aquests dies he fet dues entrevistes, una a l'Alberto Moreno, un home de l'Hipra que treballa en I+D, i una altra amb l'Eduard González, un veterinari. N'he tret bastanta informació, però cal posar-la en ordre.

Volia informar-te que ara escriuré al tutor de la UAB per preguntar-li algunes coses:

- Si podria aconseguir plaques de Petri amb cultius de E. coli i Streptococcus, per fer l'antibiograma, i també les mostres d'antibiòtic que podríem fer servir. El veterinari que vaig entrevistar va dir que amb aquests bacteris estaria bé comparar els resultats amb antibiòtics com Colistina, Neomicina, Amoxicil·lina, Florfenicol, Ampicil·lina, Cefalosporina o Lincomicina (no tots, sinó tres o quatre). Per fer la tinció de Gram també necessitaríem reactius de Gram.
- Si em deixarien les instal·lacions per fer l'espectrofotometria, per estudiar la corba de creixement d'un bacteri.
- Si té algun contacte a Middlesbrough, a Anglaterra, per poder visitar alguna granja per veure les condicions de bioseguretat, les instal·lacions, etc.

Et sembla bé? Potser al Pere Alsius tenen algun material?

Marina Feliu Hernández

Anna Muñoz

3 de juliol de 2017 a les 14:25

Per a: Marina Feliu

Hola Marina,

Em sembla tot molt bé. Jo, per la meua banda he mirat per internet si podíem comprar material per a antibiogrames. Estic mirant. No ho acabo de veure clar.

Al Pere Alsius m'han dit que podem disposar del laboratori. Més que res és per l'estufa. Aquí tenim cristall violeta per a la tinció de Gram, però ens falten coses. Potser en tenen també a Banyoles. Ho acabaré d'aclarir.

Jo crec que ja li vaig insinuar en el meu correu al tutor de la UAB si podies fer la corba allà...no va dir res. Insisteix!

Seguim parlant i intentaré concretar dia i hora per Banyoles.

Salut,

Anna Muñoz Dilmé

Marina Feliu

3 de juliol de 2017 a les 21:12

Per a: Anna Muñoz

Ok. El de l'Hipra m'ha dit que hi ha una empresa, el CESIRE, que potser poden proporcionar materials gratis per a instituts. Tenen E. coli, però no Streptococcus, potser ens aniria bé un Staphylococcus epidermidis.

Anna Muñoz

4 de juliol de 2017 a les 12:10

Per a: Marina Feliu

Hola Marina,

Ara veig que el CESIRE és l'antic CDEC. No hi havia pensat. He parlat amb la Teresa i tenen un treball de recerca sobre la resistència a antibiòtics que van utilitzar aquest servei i el CESIRE li va facilitar a aquesta alumna les soques de bacteris i les plaques.

Envia'ls un correu. Ho pots fer tu mateixa. Explicant el que vols fer i diria que també t'enviaran antibiòtics (les rodonetes de les que parla el tutor). A veure què tenen i què et poden deixar. De fet, ara sóc a l'institut i veig que la Sílvia té una superlupa que pensava que era nostra i li ha deixat el CESIRE. Doncs au! Aprofitem que tenim aquest servei.

<http://srvcnpbs.xtec.cat/cdec/>

A veure si ho pots tenir ràpid.

Aquest divendres he quedat amb la Teresa a Pere Alsius. Si no tenim les plaques encara no podríem començar, però igualment estàs convidada a venir i així veus el treball de recerca i el laboratori. Encara no hem quedat amb l'hora però dèiem de quedar per dinar i nosaltres veure'ns 1-2 hores abans. Compta cap a les 11h. Ja ho concretaré. Si no poguessis no passa res. Quan tinguem material i ho puguem fer ja ens organitzarem.

A veure què et diuen els del CESIRE.

Ajuda TdR

Marina Feliu Hernández

10 de juliol de 2017 a les 12:13

Per a: M. Àngels Calvo Torras

Bon dia,

Sóc la Marina Feliu Hernández, tutoritzada pel treball de recerca de batxillerat per en José Francisco Pérez. Ell m'ha posat en contacte amb tu.

Per al treball de recerca m'agradaria fer algunes coses, i no sé si tu me les podries proporcionar:

- Voldria fer un antibiograma. Ja tinc laboratori i plaques de Petri amb cultius de *E. Coli* i *Staphylococcus epidermidis*, però no sabem d'on treure mostres d'antibiòtic. Podria fer servir antibiòtics com Colistina, Neomicina, Amoxicil·lina, Florfenicol, Ampicil·lina, Cefalosporina o Lincomicina (no tots, sinó tres o quatre). Per fer la tinció de Gram, comparant els negatius i els positius, també necessitaríem reactius de Gram.
- La universitat em deixaria les instal·lacions per fer una espectrofotometria, per estudiar la corba de creixement d'un bacteri amb i sense antibiòtic?

Les plaques les hem demanat al CESIRE, una empresa de recursos per a instituts, i la comanda estarà llesta el 14 de juliol més o menys. He demanat 4 plaques amb bacteris i 6 més sense, només amb el cultiu. T'aniria bé quedar un dia de la setmana que ve a la tarda?

Moltes gràcies,
Marina Feliu Hernández

Espectrofotometria TdR

Marina Feliu Hernández

26 d'agost de 2017 a les 13:00

Per a: Mariangels Calvo

Bon dia M. Àngels,

Espero que t'estigui anant bé l'estiu. T'aniria bé quedar un dia de la setmana que ve o l'altra per fer la corba de creixement dels bacteris que necessito per al meu TdR? Seria comparar el creixement de bacteris amb antibiòtic i sense. Saps quant temps es triga a fer-ho, i quins materials necessitem?

Moltes gràcies,

Marina

Marina Feliu Hernández

28 d'agost de 2017 a les 9:55

Per a: Maria dels Àngels Calvo Torras

Bon dia,

Els microorganismes que m'agradaria treballar són l'E. coli i l'*Staphylococcus epidermidis*, que són els que vaig fer servir per fer un antibiograma. Els antibiòtics que vam fer servir van ser Amoxicilina, Azitromicina, Gentamicina i Cefotiofur. No sé si se'n fa servir només un o més, com vagi bé.

Si alguna cosa es difícil d'obtenir i vols proposar un canvi, cap problema.

Moltes gràcies,

Marina

Part pràctica TdR a la UAB

Marina Feliu Hernández

5 de setembre de 2017 a les 15:43

Per a: Anna Muñoz

Hola Anna,

Avui he anat a parlar amb la professora de la UAB. Ella m'ha proposat de fer tant l'antibiograma com la corba de creixement allà, ja que així ens assegurem que els bacteris seran idèntics i reaccionaran igual, i fem servir els mateixos productes en les mateixes condicions. Hem quedat que, si et sembla bé, els dies 12 i 13 aniré allà a fer-ho. Ells em poden proporcionar els cultius per a totes dues coses, jo només hauria de portar els antibiòtics i les substàncies naturals que vulgui fer servir.

Et sembla bé? Després quan comenci el curs podem trobar-nos un dia a l'hora del pati o així i t'explico com ho he fet i com ha anat. Hauria de contestar a la professora abans del dijous perquè pugui preparar els materials.

Moltes gràcies,
Marina

Anna Muñoz Dilmé

5 de setembre de 2017 a les 15:46

Per a: Marina Feliu Hernández

Quina sorpresa! Jo havia quedat amb la Teresa de fer l'antibiograma la setmana vinent al Pere Alsius. Havíem de quadrar agendes. Però vaja! Millor proposta que aquesta impossible!!

Dubtes part pràctica TdR Marina Feliu

Marina Feliu Hernández

19 de desembre de 2017 a les 15:54

Per a: Mariangels Calvo

Cco: anna.munoz@insvilablareix.cat

Bona tarda M. Àngels,

Sóc la Marina Feliu, la que va venir a fer la part pràctica del treball de recerca als laboratoris de la Facultat de Veterinària. Ara mateix estem a la recta final del procés, perquè hem d'entregar el document definitiu després de Nadal.

El cas és que he tingut algun problema a l'hora d'interpretar els resultats de l'espectrofotometria, i m'agradaria que miressis si em pots resoldre els dubtes el més aviat possible. A continuació t'adjunto la part del treball on es parla dels resultats de l'experimentació.

A l'apartat de resultats del document adjunt hi ha una taula on es mostren les longituds d'ona obtingudes amb l'espectrofotòmetre (unitats: nm). A continuació hi ha els diferents gràfics, cadascun de les dues soques bacterianes utilitzades (*E. coli* i *S.aureus*) com a control i amb l'efecte de les diferents substàncies amb agents antimicrobians (all, farigola, clau, amoxicil·lina, gentamicina i cefal·lexina). A cada gràfic, l'eix d'abscisses (eix x) representa el temps (vam agafar mostres al temps inicial, al cap d'una hora i al cap de 24 hores), i l'eix d'ordenades representa les dades obtingudes amb l'aparell, en nm.

En aquestes gràfiques no hi podem veure cap fase estacionària dels bacteris per les poques dades que en tenim, però els que ens sobta més és la forma de la funció, que és al revés del que ens esperàvem i no hi ha gaire diferències entre el control i les mostres amb antibiòtic.

Els que se m'ha acudit és que les dades de la lectura de l'espectrofotòmetre poden tractar-se de transmitància i no pas d'absorbància, però no ho sé del cert. Podries donar-hi un cop d'ull i dir-me quina interpretació en fas tu dels resultats?

Moltes gràcies,

Marina Feliu i Hernández

Maria dels Àngels Calvo Torras

24 de desembre de 2017 a les 9:50

Per a: Marina Feliu Hernández

Bon dia,

Comentaris:

La campana on treballem es una cabina de seguretat per evitar contaminació

En quant a resultats:

Si revises els resultats veuràs que al cap d'hora baixa molt la concentració de microorganismes ja que la absorbància es molt mes baixa i després es recupera això por ser degut a:

- els microorganismes que no varen ser eliminats i per tant van ser resistents als productes al cap de 24 es van anar multiplicant, ens falten resultats intermedis per veure la evolució Un altre fet afegit en el cas del productes naturals es que son productes volàtils i poden perdre per tant efectivitat al cap del temps.

Amb els resultats jo diria:

Al cap de 60 minuts quin dona mes percentatge de reducció, això ho pots calcular de la següent manera, per exemple

E. coli

en el cas de l'all 1h

control 0.049

all 0.008

reducció: (valor del control - valor amb all) /valor control i multiplicat per 100

reducció: $(0,049-0,008)/0,049$ i el resultat per 100, si dona negatiu en lloc de positiu voldrà dir que el producte no redueix sinó que incrementa la presència del microorganisme per tant no es efectiu

Millor no fer les corbes, per no induir a erro, jo posaria les taules i els valors de reducció o increment i faria els comentaris. Si vols quan ho hakis fet, si et sembla be m'ho envies i ho tonem a parlar.

Una forta abraçada i Molt Bon Nadal

petons

M. ANGELS