

# *Estudi sobre l'efecte antibiòtic de productes alimentaris*



*Cristina Saubi Puignau*

*Tutors: Teresa Cels i Xavier Sàbat*

*2n Batxillerat Científic*

*INS Pere Alsius i Torrent*

*17 d'octubre de 2014*

*M'agradaria poder donar les gràcies a totes les persones que m'han ajudat en la realització d'aquest treball de recerca.*

*Primer de tot a una de les tutores del treball, Teresa Cels, qui m'ha ajudat en el tram final de l'estudi. A més, també ho ha fet Hortènsia Belmonte, i per tant, li agraeixo. Per altra banda, també a Xavier Sàbat, per la seva orientació en determinar el tema del treball.*

*Així mateix, voldria donar gràcies a Jesús Garcia, qui m'ha orientat i facilitat part del material necessari en la part experimental.*

*Principalment, m'agradaria destacar l'atenció i interès que ha presentat el meu oncle en totes les parts del treball i per tant, vull donar-li les gràcies per tot.*

*Finalment, agrair també a Pol Fernández per animar-me i despertar-me il.lusió pel treball en els moments difícils.*

# Índex

## INTRODUCCIÓ

## MARC TEÒRIC

|   |    |
|---|----|
| 1. BACTERIS .....   | 13 |
| 1.2 LA ULTRAESTRUCTURA BACTERIANA .....                                 | 13 |
| 1.3 ESTRUCTURES CEL·LULARS BACTERIANES.....                             | 15 |
| 1.4 PUNTS DIANA PELS ANTIBIÒTICS .....                                  | 16 |
| 1.4.1 Àcid fòlic .....  | 18 |
| 1.4.2 La paret cel·lular .....  | 19 |
| 1.4.3 Síntesi d'ADN.....  | 20 |
| 1.4.4 Síntesi de proteïnes.....   | 21 |
| 1.5 BACTERIS PATÒGENS.....  | 22 |
| 1.5.1 Toxicitat.....  | 22 |
| 1.5.2 Contagi de patògens.....  | 23 |
| 1.5.3 Tipus d'infecció.....   | 24 |
| 1.6 BACTERIS UTILITZANTS EN L'EXPERIMENT.....                           | 24 |
| 1.6 .1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                               | 24 |
| 1.6 .2 <i>Salmonella spp</i> .....                                      | 27 |
| 2. ELS ENZIMS.....  | 28 |
| 3. ANTIBIÒTICS .....  | 30 |
| 3.1 SELECCIÓ D'UN DETERMINAT ANTIBIÒTIC PER COMBATRE UNA MALALTIA ..... | 31 |
| 3.2 CLASSIFICACIÓ ANTIBIÒTICS .....                                     | 32 |
| a) Inhibidors de la síntesi de la paret cel·lular.....                  | 34 |
| β- lactàmics.....   | 34 |
| Glicopèptids.....   | 37 |
| b) Inhibidors de la síntesi de la membrana cel·lular .....              | 37 |
| Antisèptics .....   | 38 |
| Ionòfors.....   | 38 |
| c) Inhibidors de la síntesi de proteïnes .....                          | 38 |
| Aminoglicosídics .....  | 39 |
| MLSK (Macrolides, Licosamides, Streptogramines, Ketolides).....         | 40 |
| Tetraciclins.....   | 41 |

|   |    |
|---|----|
| Fenicols .....  | 41 |
| Oxazolidinones.....                                   | 42 |
| Ansamícines.....                                      | 43 |
| d) Inhibidors de la síntesi dels àcids nucleics ..... | 44 |
| Quinolones.....                                       | 44 |
| e) Anti-metabòlits.....                               | 44 |
| Sulfonamides .....                                    | 45 |
| Trimetoprim, metotrexat i pirimetamine:.....          | 45 |
| 3.3 ORGANISMES PRODUCTORS D'ANTIBIÒTICS .....         | 45 |
| 3.4 RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS .....                  | 48 |
| a) Transformació .....                                | 50 |
| b) Transducció .....                                  | 51 |
| c) Conjugació.....                                    | 52 |
| 4. SUBSTÀNCIES TEST .....                             | 53 |
| 4.1 L'ALL ( <i>Allium sativum</i> ) .....             | 53 |
| 4.2 L'ORENGA ( <i>Origanum vulgare</i> ).....         | 55 |
| 4.2 L'ALBERCOC ( <i>Prunus armeniaca</i> ) .....      | 56 |
| 4.3 FARIGOLA ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....         | 57 |
| 4.4 CANYELLA .....                                    | 58 |
| 4.5 LLIMONA ( <i>Citrus limonun</i> ).....            | 59 |
| 4.6 CEBA ( <i>Allium cepa</i> ) .....                 | 61 |
| PRÀCTICA  |    |
| 5. DISSENY DE LA PRÀCTICA.....                        | 64 |
| 5. 1 CONTROL DE VARIABLES .....                       | 64 |
| Variable independent .....                            | 64 |
| Variable dependent .....                              | 65 |
| Controlades.....                                      | 65 |
| 5.2 MATERIAL .....                                    | 65 |
| 5.3 PROCEDIMENT .....                                 | 66 |
| 6. RESULTATS I INTERPRETACIÓ .....                    | 69 |
| <i>6.1 Salmonella spp</i> .....                       | 69 |
| <i>6.2 Staphylococcus aureus</i> .....                | 69 |
| CONCLUSIONS   |    |

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Conclusions de la part pràctica..... | 77 |
| Conclusions del marc teòric.....     | 79 |
| GLOSSARI.....                        | 82 |
| BIBLIOGRAFIA.....                    | 85 |
| <b>ANNEX</b>                         |    |

# INTRODUCCIÓ

---

En aquest treball s'intenta fer un estudi de l'efecte antibiòtic de certs productes, no comercialitzats com a medicaments, sinó com a productes alimentaris.

Aquesta idea va sorgir en observar el descobriment d'Alexander Fleming, qui se'n va adonar del poder que tenia un fong que va contaminar una de les seves plaques amb *Staphylococcus aureus*: *Penicillium notatum*. En buscar informació sobre els antibiòtics, es va observar que els antibiòtics que consumim actualment, el seu origen ens remet principalment a bacteris o fongs que sintetitzen substàncies inhibidores de processos imprescindibles per la supervivència d'altres microorganismes.

Per això, primer de tot es va fer una cerca sobre diversos fongs amb poders antibiòtics i va sorgir la qüestió de si estudiant microorganismes d'aquest mateix grup es podrien descobrir fongs amb propietats semblants. Però, conseqüentment, va sorgir el dubte de si organismes pluricel·lulars del mateix regne, per exemple els bolets, presenten el mateix poder que té la penicilina sobre els bacteris. No obstant això, les pràctiques del treball s'havien de realitzar a l'estiu i per tant, l'obtenció d'aquests fongs era difícil.

Per altra banda, actualment s'ha observat que la resistència dels bacteris patògens als antibiòtics pot convertir-se en una gran amenaça, tal i com s'ha demostrat ja amb l'aparició de les soques de *Staphylococcus aureus* resistents a la metilina, i les soques de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistents.

A conseqüència d'aquests dos aspectes, l'origen dels antibiòtics i la necessitat de cercar-ne de nous, van sorgir diverses idees. Primerament es va pensar en fer un estudi testant diverses substàncies de varis orígens: insectes, algues, herbes... La idea de testar insectes es basava en comprovar si els escarabats, que tenen fama de poder resistir fins i tot explosions nuclears, presentaven propietats antibiòtiques. Tot i això, es va descartar la idea per evitar patiments innecessaris als animals.

Un altre tema important en l'actualitat és la cerca de nous éssers productors d'antibiòtics en zones poc poblades i bastant desconegudes, tals com zones marítimes. Això va dur a la qüestió de si les algues, a les quals actualment se'ls hi associen efectes beneficiosos per a la salut humana, podrien tenir efectes antibacterians. A més, es va mostrar la intenció d'intentar fer

l'estudi analitzant els bacteris de diversos estanyols del voltant de l'Estany de Banyoles i de la Font de la Puda, que presenten una gran varietat d'aquests microorganismes. Malauradament, a causa d'una sèrie d'imprevistos l'experiment no es va poder dur a terme. No obstant, a partir d'aquí, es va decidir focalitzar el treball en l'estudi del poder antibiòtic de la nostra dieta, és a dir, dels aliments que ingerim.

Avui en dia podem trobar diversos productes naturals en botigues de productes dietètics i naturistes, farmàcies o en altres centres. Generalment, es venen sense prescripció mèdica i sovint es parla de què aquests productes "poden ajudar" en diversos casos per millorar la nostra salut. Però, poques vegades, aquests són aconsellats per metges o infermers. Fins i tot, en moltes ocasions els ciutadans desconfien de la seva efectivitat i poden ser classificats com a pseudomedicaments o simplement, complements alimentaris. Aquest fet podria ser a causa de la seva utilització al llarg de la història com a herbes medicinals o medicina tradicional. Així mateix, es pot creure que els medicaments sintètics són més efectius que els naturals, ja que abans no es tenia coneixement de la medicina moderna i havien d'utilitzar els productes directes que els proporcionava la natura, en els quals sovint se'ls hi atribuïen també, poders místics.

Per altra banda, també es troba part de la població que creu plenament en els productes naturals. És més, es pot arribar a creure que els productes naturals són millors que la medicina actual, perquè no són perjudicials. No obstant això, pot ser que els productes naturals a grans quantitats causin desequilibris al nostre cos.

Però, aquest treball es centrarà principalment en l'efecte antibacterià dels productes naturals, deixant de banda els desequilibris que puguin causar.

D'aquesta forma, s'uneixen dos temes de gran importància en l'actualitat: els aliments i antibiòtics.

Tot i això, la determinació del tema també ve influenciat per l'interès personal cap a la microbiologia, ciències biomèdiques i sobretot a la recerca. D'aquesta manera, el treball també ha permès un enriquiment personal sobre els temes anteriors, tot posant a prova els coneixements al laboratori i coneixent el món fascinant dels éssers invisibles: els microorganismes.

Seguidament, recordant els aspectes citats anteriorment i diverses cures tradicionals basades amb productes naturals, es van establir una sèrie d'objectius pel treball:

- Conèixer els bacteris i la seva estructura, per ser capaços de veure com alguns dels centenars d'antibiòtics actuen en elles.
- Investigar sobre algunes de les molècules ja conegudes amb funció antibiòtica i com actuen.
- Testar el poder antibiòtic de certs aliments que es troben presents en les nostres dietes (all, ceba, llimona, canyella, farigola, orenga i pinyol d'albercoc) en cultius de bacteris de *Salmonella spp* i *Staphylococcus aureus*.
- Estudiar la fiabilitat de part de la medicina tradicional amb productes naturals.
- Adquirir destresa i habilitats en mètodes utilitzats usualment al laboratori de microbiologia.

Tal i com es pot intuir en els objectius, la pregunta que dirigeix aquest estudi és si les diverses substàncies escollides com a substàncies test presentaran poder antibiòtic en les mostres de bacteris.

Per tal de complir amb els objectius plantejats, es va escriure una memòria que consta de diverses parts.

Al tractar sobre el poder antibiòtic que poden presentar alguns aliments, s'ha pensat que era una bona opció parlar dels antibiòtics . Així mateix, es va cercar informació sobre: què són els antibiòtics, aspectes importants i imprescindibles per escollir un bon antibiòtic i diferents mètodes d'acció i els productors d'antibiòtics.

Però, per comprendre amb claredat les possibles formes d'actuació d'aquests medicaments s'ha pensat que era necessari tenir un mínim coneixement de les parts i/o els processos en els quals actuen els antibiòtics sobre el bacteri i també dels enzims, ja que sovint els antibiòtics actuen d'inhibidors enzimàtics o bé, són desactivats per enzims. Però per altra banda, com que l'objectiu principal és combatre bacteris, també es tractarà dels seus factors de virulència, el contagi de patògens, etc.

Conseqüentment, l'ordre en què es presenta aquest marc teòric, comença pels bacteris i enzims (amb l'objectiu de facilitar la comprensió de l'acció antibiòtica) i acaba amb els antibiòtics.

Per altra banda, per realitzar la part pràctica, va ser necessari fer una tria de les substàncies a testar. En primer lloc, es va intentar fer una selecció intuïtiva de diverses substàncies. Per exemple, la ceba es va escollir intuïnt una possible vinculació entre les substàncies volàtils que es desprenen en tallar el bulb i que irriteren els ulls, amb una substància que afectés la flora



ocular. Per altra banda, en observar possibles similituds entre la ceba i l'all, es va creure oportú fer una investigació sobre ambdues substàncies. Seguidament, es van intentar pensar en característiques de diversos aliments que poguessin tenir efectes antimicrobians. D'aquesta forma, es va seleccionar l'acidesa de la llimona. Un altre fet que va determinar aquesta selecció, va ser la medicina tradicional, que fa esment d'una gran varietat d'herbes medicinals. En aquest cas, es van escollir la farigola (una planta que habitualment se'n fan infusions o bé s'utilitza com a expectorant) i l'orenga (un condiment molt habitual en la cuina mediterrània). A continuació, es va escollir la canyella com a substància test, que també s'utilitza habitualment en la cuina, però en aquest cas, en postres. Finalment, la última substància, la llavor d'albercoc, es va escollir amb la intenció de comprovar si les molècules d'amigdalina que conté, que han suscitat molta controvèrsia com a possible cura contra el càncer, també són capaces d'actuar davant de bacteris.

Tot i això, la selecció no va ser tant fàcil, ja que la llista de possibles substàncies a testar era molt àmplia. Però, es va intentar escollir substàncies bastant diferents entre elles.

A continuació, es va fer una recerca d'informació científica i històrica sobre les diverses substàncies, per estudiar el que deien els mites comparat amb estudis de l'actualitat. En la recerca, es va comprovar que en diverses etapes històriques els productes naturals escollits es van o s'han esmentat com a productes amb propietats curatives.

Aquesta informació sobre les substàncies test, s'ha inclòs en el marc teòric; concretament en l'últim apartat, per seguir directament amb la part experimental.

En la pràctica de la memòria, s'hi presenta l'experiment realitzat que intenta complir amb els objectius proposats i sobretot, fer l'estudi de l'activitat antimicrobiana de les diverses substàncies. L'experiment es basa en la preparació d'antibiogrames amb cultius de dos tipus de bacteris, l'un gram positiu: *Staphylococcus aureus* i l'altre gram negatiu: *Salmonella spp.* Possiblement la dificultat de la pràctica recau en mantenir un medi estèril i la preparació de les mostres. Al tractar-se d'un estudi amb productes naturals, aquests sovint presenten una gran varietat de bacteris i cultius, que poden contaminar tots els resultats. No obstant això, es va intentar tractar cada substància amb aigua i alcohol (dos tipus de dissolvents), per tal d'assegurar la dissolució de diverses molècules hidrosolubles i liposolubles, però alhora, l'alcohol (un antisèptic), també ajudava a "matar" els possibles microorganismes presents, és a dir, a esterilitzar les mostres. En la memòria, primerament hi trobem el control de variables i el disseny de la pràctica, seguit d'un anàlisi dels resultats que està complementat amb taules i gràfics.

## *Estudi de l'efecte antibiòtic en productes alimentaris*

Finalment, el treball presenta unes conclusions generals, un glossari on s'hi definiran diversos mots marcats amb un asterisc, una bibliografia on consten els llibres, les webs i els articles consultats i finalment, una galeria d'imatges en un annex

# MARC TEÒRIC

---

*Aquesta part de la pràctica, tal i com s'ha comentat en la introducció, es centra principalment en la presentació de la teoria per comprendre l'experimentació.*

*En primer lloc, es parla dels bacteris, ja que és un element imprescindible per la pràctica, ja que l'estudi pretén fer un anàlisi de les substàncies test sobre ells. Dins d'aquest apartat es tracta la ultraestructura bacteriana, per poder estudiar les zones on poden actuar diversos antibiòtics i també els bacteris patògens, pels quals és necessària la recerca d'antibiòtics.*

*Tot seguit, es parla dels enzims, ja que la majoria d'antibiòtics es veuen relacionats amb el tema: poden actuar com a inhibidors enzimàtics, o bé ser desactivats pels enzims.*

*A continuació, es parla dels antibiòtics, posant èmfasi al seu mètode d'acció, la classificació i la resistència antibiòtica; un dels grans problemes en l'actualitat.*

*Finalment, un cop el lector s'ha pogut situar dins del tema, es parlarà dels productes alimentaris a testar, per comprovar si poden actuar d'una forma semblant a les molècules presentades en l'apartat anterior.*

## **1. BACTERIS**

Els bacteris són un grup d'organismes unicel·lulars formats per cèl·lules procariotes. Tot i que les seves cèl·lules són més simples que les eucariotes, són els organismes més abundants, capaços de sobreviure en una gran varietat de medis, fins i tot els més extrems de temperatura, pH, pressió, etc.

Hi ha bacteris que davant de circumstàncies desfavorables són capaços de formar "espores". Un estat a través del qual aconsegueixen fer un estalvi d'energia i limitar-se a utilitzar-la, només, per reparar el dany causat als seus constituents essencials: àcids nucleics, proteïnes, lípids i sucres complexos.

Són organismes imprescindibles en la naturalesa, ja que són presents en molts cicles\*, com per exemple el del nitrogen o carboni. No obstant això, habitualment només som conscients de la presència de bacteris quan aquests mostren la seva capacitat d'infecció.

Dins d'aquest grup d'éssers vius unicel·lulars, podem distingir dues tipologies de bacteris: els Gram positius i Gram negatius.

Aquesta classificació es determina a partir de la reacció d'aquests éssers davant la prova Gram:

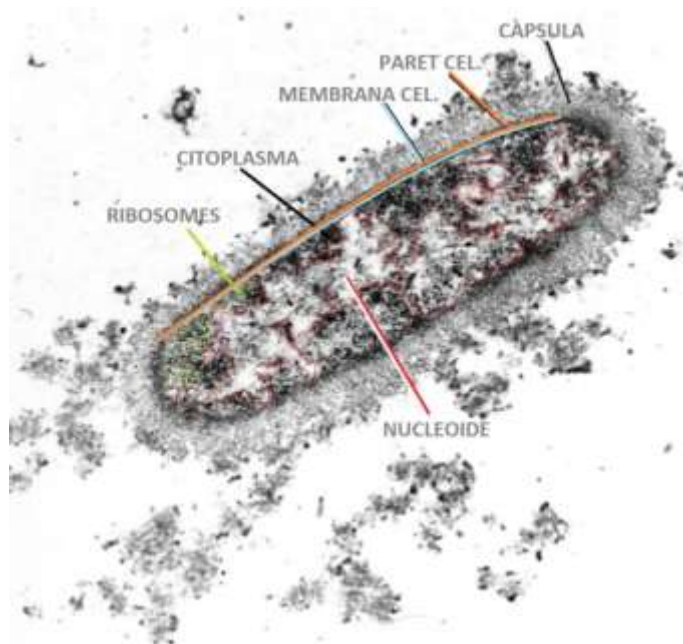
- Gram positius: retenció del color lila del Cristall Violeta\* emprat en la tinció.
- Gram negatius: presenten un color vermellós, a causa de la poca capacitat de tinció davant el Cristall Violeta i l'absorció de la safranina\*, una substància de color vermell.

Aquesta capacitat de reacció és causa de la seva paret cel·lular (tal i com s'explica més endavant).

### **1.2 LA ULTRAESTRUCTURA BACTERIANA**

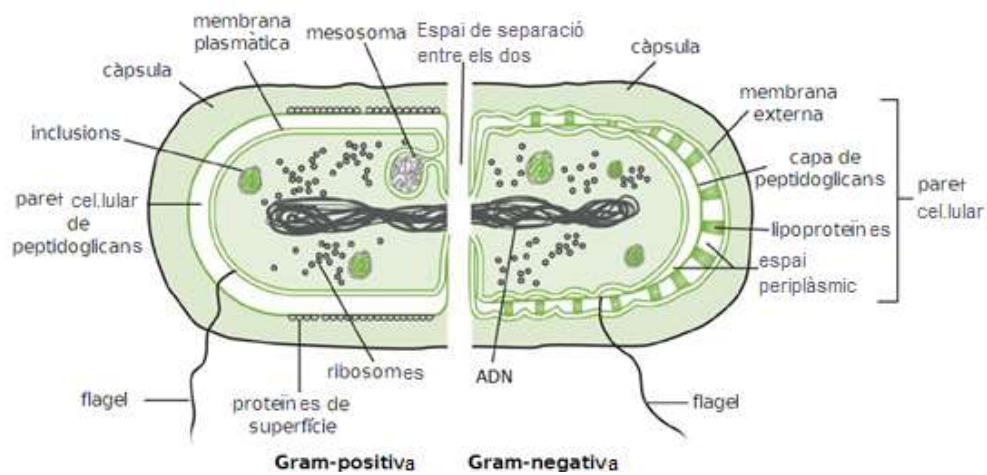
La ultraestructura bacteriana, igual que la resta de cèl·lules, no es va poder començar a conèixer detalladament fins el 1950 gràcies al microscopi electrònic.

A partir d'aquest moment, es van poder observar imatges com la següent:



Imatge 1. Adaptació de: <http://mibr.asm.org/content/68/1/132/F2.large.jpg>

No obstant això, els bacteris presenten una estructura més complexa de la que hem pogut apreciar anteriorment, i així ens ho mostra el dibuix següent:



Imatge 2. En aquesta representació gràfica podem observar l'estructura cel·lular de dos bacteris diferents: un Gram + (dreta) i l'altre Gram - (esquerra). A diferència de la paret i membranes cel·lulars, podem apreciar una clara igualtat en les estructures d'ambdues cèl·lules. Adaptació de: <http://www.imagui.com/a/estructura-de-las-bacterias-irepGAK66>

### **1.3 ESTRUCTURES CEL·LULARS BACTERIANES**

**Citoplasma:** Omple l'interior de la cèl·lula. Està constituït majoritàriament per aigua (80%), però també conté enzims catalitzadors de diverses reaccions metabòliques, sucres, lípids, compostos de baix pes molecular i sals minerals. A més, també hi trobem diverses estructures: el material genètic (ADN, ARN), ribosomes i inclusions citoplasmàtiques.

**Nucleoide:** Regió del citoplasma que conté la cadena d'ADN nua. A diferència de les cèl·lules eucariotes, no està separat de la resta del citoplasma per cap membrana nuclear.

**Plasmidi:** En alguns bacteris podem trobar molècules d'ADN bacterià extracromosòmic (generalment en forma circular), totalment independent del cromosoma bacterià. Aquest, pot passar-se d'una cèl·lula a una altra, proporcionant informació útil per la resistència a antibiòtics o metalls, la producció de toxines, etc.

**Ribosomes:** Són unes estructures també presents en les cèl·lules eucariotes\*, encarregades de la síntesi de proteïnes a partir de l'ARN missatger, que s'ha format amb ADN com a base. En ambdós casos estan constituïts per dues subunitats, cada una formada per ARN ribosòmic i proteïnes. No obstant això, els que trobem en les cèl·lules procariotes són menors (70S) que els de les eucariotes (80S).

**Membrana plasmàtica:** Controla l'entrada i sortida de substàncies. Està formada per una bicapa lipídica\*, en la que hi ha incloses proteïnes que ajuden al transport, reconeixement de substàncies del medi extern, etc.

**Mesosomes:** Són plects de la membrana plasmàtica. Poden tenir una àmplia varietat de funcions, com per exemple: de zona d'anclatge per l'ADN o on es realitza part de la respiració cel·lular de bacteris aeròbics. Poden intervenir en la bipartició\* cel·lular o contenir molècules necessàries per bacteris fotosintètics\*.

**Paret cel·lular:** Protegeix la cèl·lula tant de l'exterior com de la possible ruptura en un augment de la pressió interna. Està formada bàsicament per sucres, i la seva composició canvia segons l'espècie bacteriana.

Les estructures que es descriuen a continuació no estan presents en tot tipus de bacteris, sinó que depenen de l'espècie:

**Pili:** Són estructures ancorades a la membrana cel.lular que permeten a les cèl.lules connectar-se.

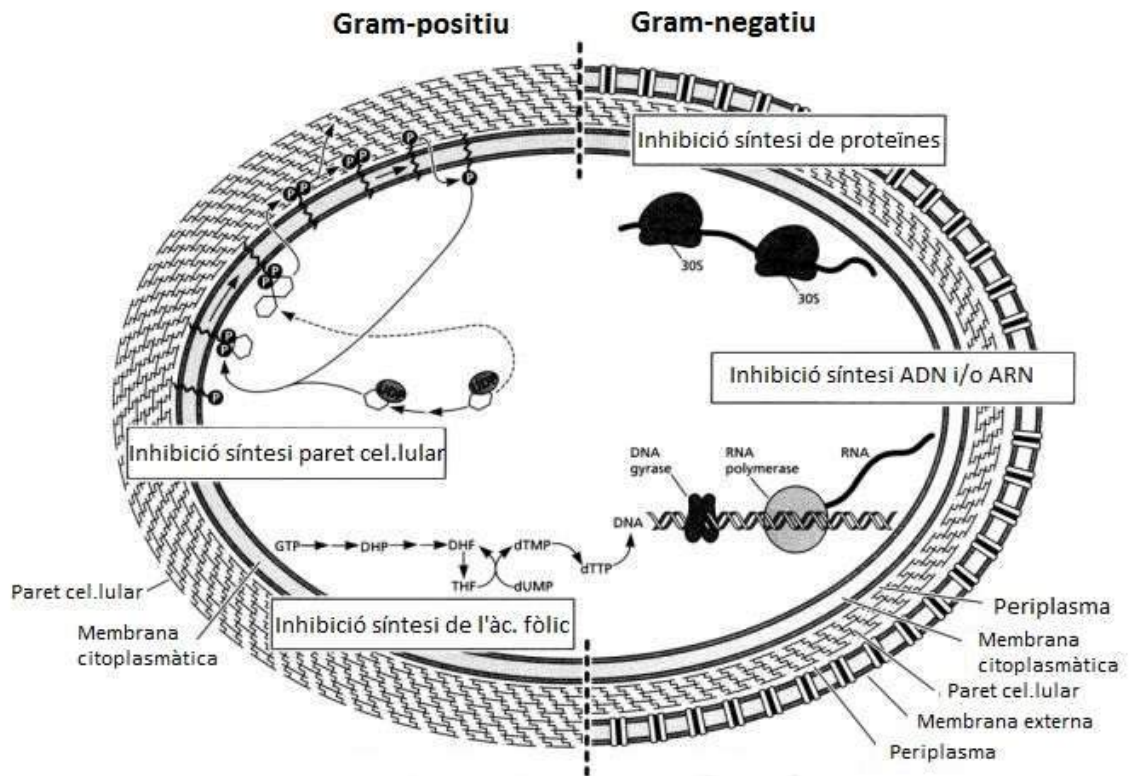
**Flagels:** Estructures proteiques unides a la membrana cel.lular que permeten la locomoció\* al bacteri.

**Càpsula:** Es tracta d'una acumulació de polímers\* orgànics sobre la paret bacteriana, actuant com una capa protectora davant la fagocitosi\*, on també s'hi dipositen nutrients i s'hi eliminen substàncies de rebuig. Conté una gran quantitat d'aigua útil en condicions extremes i en patògens, els permet adherir-se en cèl.lules hoste. Per altra banda, també protegeix la cèl.lula contra molècules antibiòtiques.

**Inclusions citoplasmàtiques:** Sota diverses condicions de creixement substàncies (tant inorgàniques com orgàniques) es poden acumular en el citoplasma, esdevenint fonts de reserva. Hi ha molts tipus d'inclusions, els quals poden ser un senyal de diferenciació d'una varietat de bacteris.

## **1.4 PUNTS DIANA PELS ANTIBIÒTICS**

En l'apartat anterior s'ha presentat d'una forma general les parts principals de la cèl.lula. No obstant això, és imprescindible destacar algunes d'aquestes estructures i processos de la cèl.lula, per tal de poder interpretar millor el mètode d'acció antibiòtic.



Imatge 3: Punts diana pels antibiòtics. Adaptació d'un pòster: Mecanismes d'acció d'antibiòtics i resistència, C. Walsh, J. Trauger, P. Courvalin i J. Davies (2001), *Tendències en Microbiologia. La Malaltia Llaceta Infecciosa, l'Opinió Actual de la Microbiologia, les Tendències en la Medicina Molecular*.

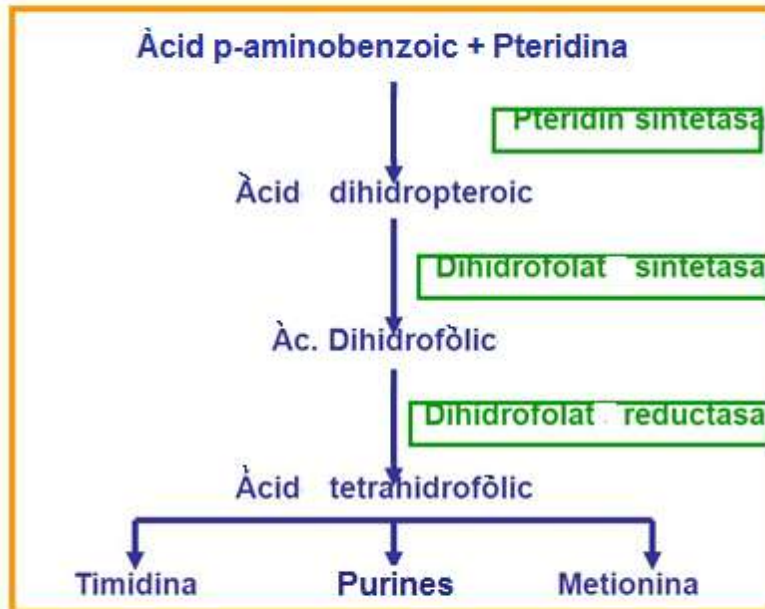
Tal i com es veu en la imatge 3, els antibiòtics actuen en processos imprescindibles per la supervivència de la cèl·lula. Al ser els objectius d'acció, sovint se'ls anomena: punts diana. Així doncs, actuen principalment sobre quatre processos diferents: el procés de síntesi de l'àcid fòlic, el de la paret cel·lular, el de proteïnes, i el de la síntesi d'ARN i ADN.

No obstant això, també hi ha uns quants antibiòtics que actuen sobre la membrana citoplasmàtica, però amb l'explicació de l'apartat anterior, és suficient per comprendre com actuen els antibiòtics sobre aquesta.



### 1.4.1 Àcid fòlic

## METABOLISME DE L'ÀCID FÒLIC



Imatge 4: Síntesi de l'àcid fòlic

Modificada de:

[http://images.slideplayer.es/1/117999/slides/slide\\_71.jpg](http://images.slideplayer.es/1/117999/slides/slide_71.jpg)

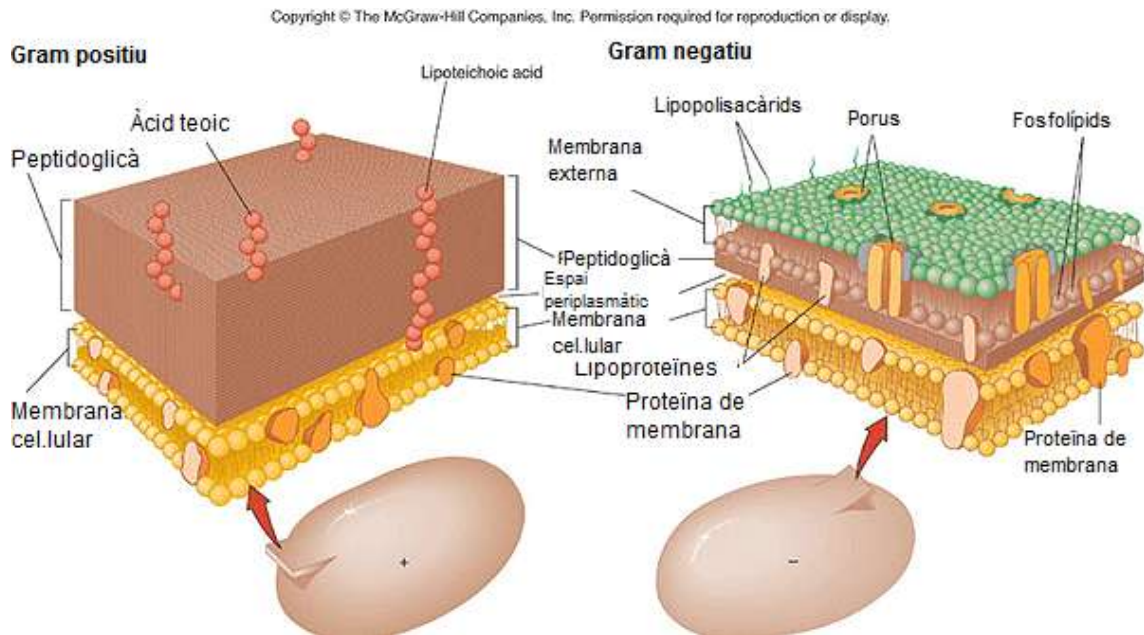
L'àcid fòlic<sup>1</sup> és un coenzim que intervé en la transferència de grups metil (unir un metil a una molècula) i en la síntesi d'aminoàcids i nucleòtids.

És la vitamina B9, essencial per la supervivència de les cèl.lules. Tot i això, observem clares diferències entre les bacterianes i les eucariotes. Mentre que nosaltres, formats per cèl.lules eucariotes,

l'obtenim dels aliments que ingerim, els bacteris el sintetitzen. D'aquesta forma, observem que la inhibició d'aquest procés pot ser una bona diana, ja que els antibiòtics presenten dificultats en actuar sobre les cèl.lules eucariotes perquè no realitzen aquest procés.

<sup>1</sup> Sovint es parla d'àcid fòlic per denominar aquest grup d'àcids vitamínics que presenten una funció biològica semblant. En aquest cas, al parlar de la síntesi de l'àcid fòlic, es fa referència al procés que es pot observar en la imatge 4, on s'obté com a àcid resultant, l'àcid tetrahidrofòlic.

### 1.4.2 La paret cel.lular



Imatge 5: Paret cel.lular bacteriana. Adaptació de: <http://water.me.vccs.edu/courses/ENV108/clipart/cellwall.gif>

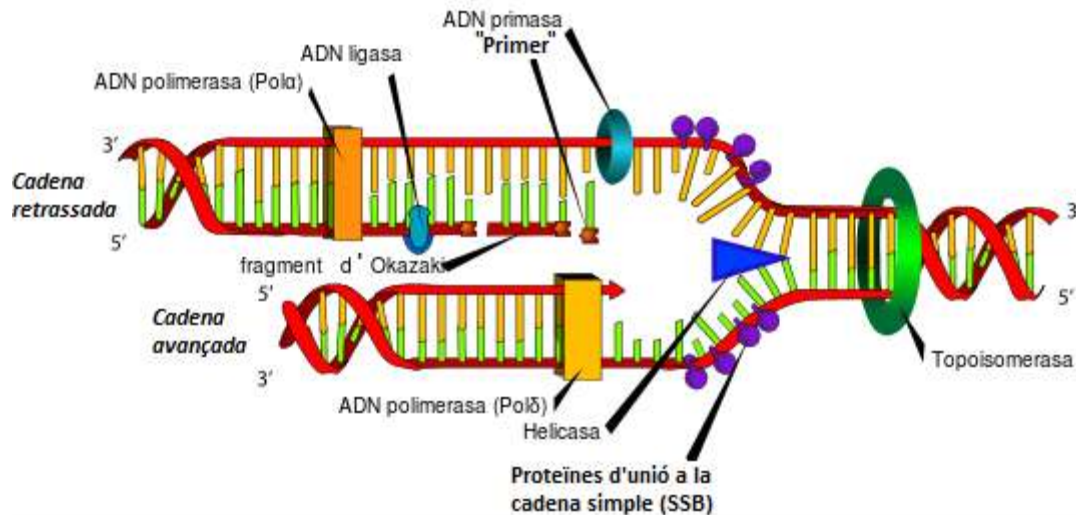
La paret cel·lular és una estructura essencial per a la protecció dels bacteris, principalment del trencament que pot provocar un canvi de la pressió osmòtica de la cèl.lula respecte al medi, i que, en absència de la paret, provocaria el trencament de la cèl.lula. Això és degut al mitjà de dissolució on viuen, el qual comporta una major concentració de soluts dins la cèl·lula, en relació a l'exterior.

Sense la presència d'una paret rígida que permeti el pas de substàncies entre el citoplasma i l'exterior, la cèl.lula es veuria exposada a una pressió entre 10-25 atm. que la membrana cel.lular, en ser sensible, no podria suportar i comportaria la lisi de la cèl.lula. En el cas de les cèl·lules bacterianes, aquesta paret està composta, per un únic reticle peptidoglicà, la mureïna.

A partir d'això, s'observa que els bacteris reactius davant la prova Gram, presenten diverses capes de mureïna. Perpendicularment a elles, es troben els àcids teicoics\*. Contràriament, les Gram - negatives no posseeixen la capacitat de retenció del cristall violeta, a conseqüència de tenir poques capes de peptidoglicà. No obstant això, aquesta capa està envoltada per una membrana externa, la qual pot contenir constituents que poden ser tòxics per als animals: els lipopolisacàrids\* (LPS o endotoxina).

En ambdós casos, la síntesi de la paret cel·lular és semblant. Al peptidoglicà, compost per molècules de N – acetilglucosamina\* i àcid N – acetilmuràmic\* alternades, s'uneix una cadena de cinc aminoàcids\* als àcids del peptidoglicà. Per a la unió de les diferents capes de mureïna, sobretot una transpeptidasa (un enzim), s'encarrega d'unir les cadenes d'aminoàcids de les capes.

### 1.4.3 Síntesi d'ADN



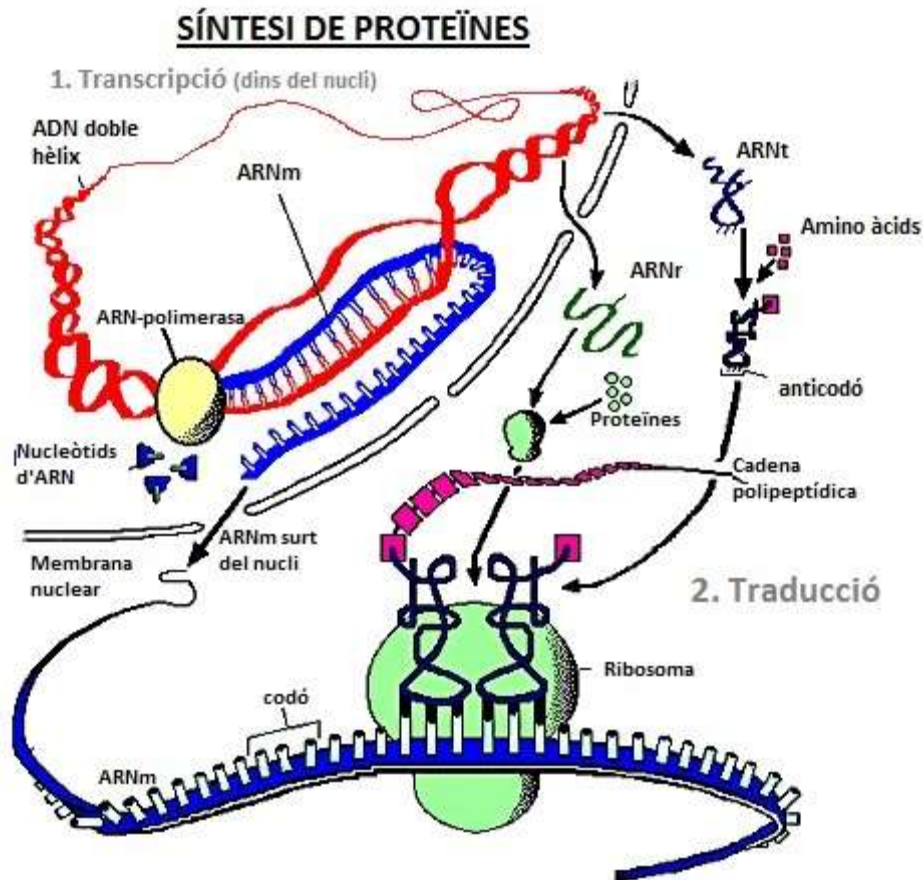
Imatge 6: Síntesi d'ADN. Adaptació de: [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/28/DNA\\_replication\\_es.svg/538px-DNA\\_replication\\_es.svg.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/28/DNA_replication_es.svg/538px-DNA_replication_es.svg.png)

En l'ADN, igual que en les cèl·lules eucariotes, és on es troba el material genètic que aporta la informació necessària per a la síntesi de proteïnes. Es tracta d'una molècula bicatenària\* constituïda per nucleòtids, els quals presenten complementarietat entre les dues cadenes.

La síntesi de l'ADN és bastant complex, tal i com podem comprovar en el dibuix. Però, d'una forma bàsica, podríem dir que a partir d'una bombolla de replicació oberta per una helicasa\*, l'ADN polimerasa és capaç d'agregar nucleòtids complementaris a cada una de les dues cadenes, utilitzant cada una d'aquestes com a patró. D'aquesta forma, s'obtenen dues molècules d'ADN amb una cadena vella i l'altra de nova.

Però per altra banda, al tractar-se de cadenes llargues d'ADN, l'enzim topoisomerasa - II s'encarrega d'evitar que la hèlix d'ADN es retorci sobre si mateixa. Per altra banda, en el cas dels bacteris, al ser ADN circular, les molècules d'ADN de les cèl·lules filles es veuen entrellaçades. Conseqüentment, es necessita d'un altre enzim per poder separar-les: la topoisomerasa-IV.

### 1.4.4 Síntesi de proteïnes



Imatge 7: Síntesi de proteïnes. Adaptació de: [http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/images/protein\\_synthesis.gif](http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/images/protein_synthesis.gif)

La síntesi de proteïnes és un procés pel qual la cèl.lula té la necessitat de transmetre la informació del material genètic cap als ribosomes amb l'objectiu de sintetitzar proteïnes. El procés està diferenciat per dues etapes: la transcripció i la traducció.

La transcripció és un procés pel qual es sintetitza ARN a partir de l'ADN, ja que la cèl.lula té la necessitat de transmetre la informació del material genètic cap als ribosomes. D'aquesta forma, a partir d'una molècula gran d'ADN, la seva informació pot ser transportada a través de la cèl.lula per una molècula més petita: l'ARN missatger.

L'ARN-polimerasa és l'enzim encarregat de portar a terme la transcripció genètica. Per això, utilitza una de les dues cadenes de l'ADN com a patró, per crear una seqüència d'ARN complementària a una de les dues cadenes.

El procés es pot dividir en diverses fases:

1. Iniciació: la iniciació del procés està indicada per una seqüència de bases nitrogenades anomenada "promotor" que alhora també determina quina de les dues cadenes ha de ser transcrita.
2. Elongació: l'ARN-polimerasa s'acobra a la cadena indicada i desenrotlla un fragment de l'hèlix d'ADN. D'aquesta forma el fragment patró d'ADN queda al descobert i l'enzim pot desplaçar-se en sentit 3'-5' per la cadena, inserint nucleòtids complementaris per formar una altra cadena. Amb el desplaçament de l'enzim, la cadena és capaç de recuperar la seva estructura inicial.
3. Terminació: l'ARN-polimerasa al trobar un senyal de terminació (una altra seqüència de bases nitrogenades determinada), allibera la cadena d'ARN sintetitzada.

Tipus d'ARN:

- Ribosòmic: forma part dels ribosomes
- Transferència: s'uneix als amino àcids (constitueixen la base estructural de les proteïnes) presents al citoplasma de la cèl.lula, fins als ribosomes.
- Missatger: Molècula llarga que conté la informació necessària per sintetitzar una proteïna.

Seguidament, s'inicia el procés de traducció. En ell, el fragment d'ARN missatger, és transportat cap als ribosomes. Allà, l'ARNm serà utilitzat com a patró, on s'hi uniran l'ARN de transport (transportadors d'aminoàcids), gràcies a la complementarietat codó (ARNm) - anticodó (ARNt)\*. D'aquesta forma, s'uneixen els aminoàcids que formaran la cadena de pèptids.

## **1.5 BACTERIS PATÒGENS**

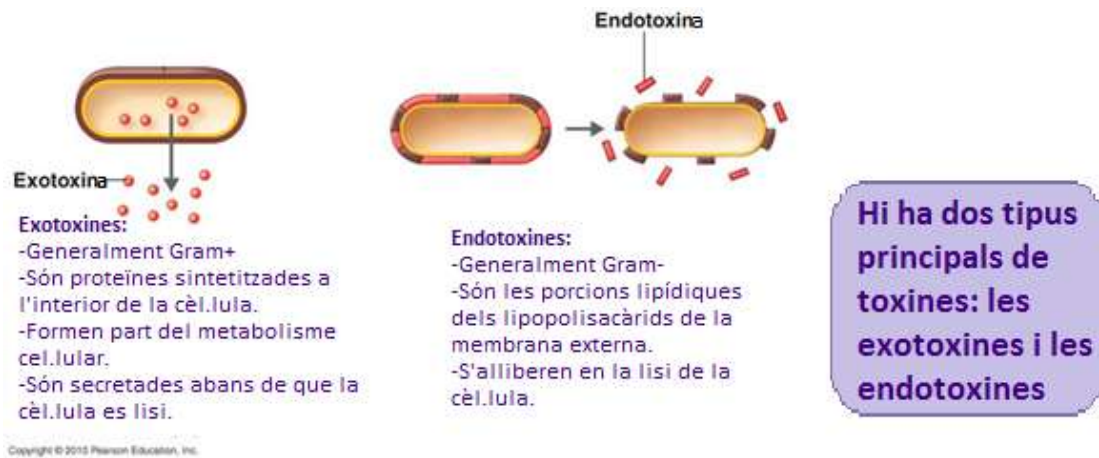
En aquest apartat, tal i com ja s'ha explicat, es tractaran els bacteris patògens\*, per tal de conèixer els organismes que es volen combatre amb els antibiòtics.

### **1.5.1 Toxicitat**

Sovint, la perillositat dels bacteris recau en la síntesi de determinades toxines\*. En alguns casos (generalment en bacteris Gram +) el bacteri és capaç de sintetitzar una cadena proteica altament tòxica o fins i tot letal, la qual té la capacitat d'afectar la zona infectada i d'altres més llunyanes. Es tracta de les exotoxines, les quals tenen la propietat de moure's per tot el cos.

Per altra banda, trobem un altra tipus de substàncies menys tòxiques: les endotoxines; la part lipídica d'uns lipopolisacàrids (LPSs) constituents de la membrana de bacteris Gram negatius.

Quan la cèl.lula es lisa i la paret cel.lular es trenca, les endotoxines s'alliberen i a diferència de les altres, provoquen febre i dolors a l'individu infectat.



Imatge 8: Toxines dels bacteris. Adaptació: [http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap15/FIGURE\\_15\\_04\\_LABELLED.jpg](http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap15/FIGURE_15_04_LABELLED.jpg)

Un exemple clar el podem observar en l'*Escherichia coli*, un bacteri Gram-negatiu que es troba als intestins d'animals de sang calenta. Generalment és un bacteri inofensiu, però en alguns casos poden ser realment virulents.

L'*Escherichia coli* verotoxigènica és un patògen que sintetitza una toxina inactivadora de la subunitat 60S dels ribosomes, trencant l'ARNr. Conseqüentment, la toxina inhibeix la síntesi de proteïnes, cosa que causa irregularitats a l'epiteli intestinal\*, fins i tot, pot provocar insuficiència renal\*.

## 1.5.2 Contagi de patògens

Un terme important en l'estudi de malalties és identificar les vies de transmissió del patògen.

Els bacteris, gràcies a la seva mida microscòpica, poden presentar varis mètodes de contagi:

- Per contacte: el bacteri pot entrar directament al cos d'un nou individu penetrant en la pell. (P. e., *Staphylococcus aureus*)
- Gotes en suspensió a l'aire: una persona infectada, a l'esternudar o tossir, pot expulsar bacteris en l'aire, els quals podran entrar fàcilment en un altre individu, quan aquest respiri. Aquest tipus d'infeccions és molt usual en malalties del sistema respiratori. (P. e. *Mycobacterium tuberculosis*)
- A través de talls: un tall en la pell comporta un alt risc d'infecció, ja que es trenca una capa de protecció: la pell. (P. e. *Clostridium tetanii*)



- Menjar o aigua contaminada: al ingerir productes infectats per bacteris, aquests poden penetrar fàcilment per les parets de l'intestí. (P. e. *Salmonella spp*)
- Transmissió sexual: els patògens poden entrar a través de les mucoses de la vagina o penis. (P. e. *Treponema pallidum* causant de la sífilis)
- Picades d'insectes: els insectes poden estar infectats per patògens, els quals, en una picada, entren directament als vasos sanguinis de l'individu. (P. e. *Plasmodium falciparum*, que no és un bacteri, però és un dels patògens típics de transmissió per mosquits)

### 1.5.3 Tipus d'infecció

Hi ha dos tipus d'infeccions bacterianes:

Extracel·lular: el patògen entra en l'individu i es manté en l'espai intercel·lular d'on n'extreu els nutrients necessaris per viure. És habitual trobar aquest tipus d'infeccions en l'aparell respiratori, tal i com fa l' *Streptococcus*, un patògen que tal i com fan altres bacteris, és capaç de sintetitzar una càpsula de resistència per promoure la seva supervivència en front les respostes immunològiques de l'ésser infectat.

Intracel·lular: en aquest cas, el patògen entra dins les cèl·lules de l'hoste, generalment per endocitosis, i n'aprofita els recursos per sobreviure. El seu mètode d'infecció pot recordar al d'alguns virus, ja que aquest tipus de bacteris necessiten d'una altra cèl·lula per créixer i duplicar-se. Llavors aquests nous bacteris redueixen en volum i són expulsats de la cèl·lula amb l'objectiu d'infectar-ne d'altres.

## 1.6 BACTERIS UTILITZANTS EN L'EXPERIMENT

En aquest apartat del treball, es pretén fer un estudi general dels bacteris amb què es treballarà a la part experimental, per tal de tenir un mínim coneixement sobre ells.

### 1.6.1 *Staphylococcus aureus*

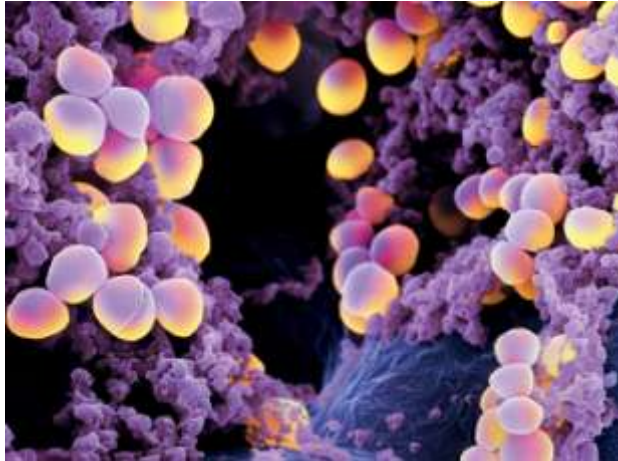
Els bacteris del gènere *Staphylococcus* són uns dels grans causants de malalties infeccioses, però dins d'aquest gènere, segurament els *Staphylococcus aureus* poden ser els més virulents.

A tot això, cal afegir la poca sensibilitat que sol presentar el bacteri davant els antibiòtics. Anys enrere, l'únic antibiòtic actiu i conegut davant del bacteri era la vancomicina\*. Però actualment, ja es hi ha presència de soques resistents a ell i s'està treballant per la recerca de nous antibiòtics, tot i que també se'n coneixen d'altres amb certa activitat en front *S. aureus*.

Contràriament, també trobem que forma part de la flora normal humana, és a dir, podem trobar-ne colònies al nostre cos, però sense presentar virulència.

Diversos estudis han observat que aproximadament un 20% de la població té permanentment aquest tipus de bacteris a les fosses nasals. Tanmateix, un altre el té 30% de forma intermitent.

Són bacteris cocs (forma esfèrica), Gram-positius, immòbils, generalment sense càpsula i no tenen la capacitat de formar espores. Tot i això, presenten una gran resistència a la calor i dessecació.



Imatge 9. *Staphylococcus aureus*, bacteri amb forma de coc Gram positiu. Font: <http://ngm.nationalgeographic.com/2013/01/microbes/img/10-staphulococcus-aureus-670.jpg>

En els últims anys s'ha observat un augment de les infeccions provocades per *S. aureus*, principalment de resistents a la meticilina (un antibiòtic).

A Espanya, entre un 30 i 40% de les infeccions provocades per aquest bacteri són resistents a l'antibiòtic anterior. Alhora, també s'ha vist una disminució del nombre de persones contagiades per contacte hospitalari, augmentant la quantitat d'infeccions adquirides fora els hospitals.

### **Virulència**

Els patògens en aquest cas, produeixen endotoxines i generalment infecten a través de les colònies de les fosses nasals.

Tot i això, també tenen la capacitat de colonitzar la pell i tracte gastrointestinal (òrgans relacionats amb el procés de digestió). A aquest fet, cal afegir-hi que en cas d'un trencament dels teixits dels òrgans anteriors, els bacteris poden infectar-ne de més interns.



*Staphylococcus aureus* poden afectar a les cèl.lules hostes de diverses maneres. En la següent taula, podem observar alguns d'aquests exemples i les malalties que poden causar:

**Taula 1. Factors de virulència més rellevants de *Staphylococcus aureus*.**<sup>2</sup>

| Fase cel.lular                                      | Factors de virulència més rellevants  | Infeccions associades  |
|---|---|--|
| Adherència bacteriana                               | Proteïnes d'unió del bacteri s'uneixen al fibrinogen, fibronectina i col.lagen de l'hoste   | Endocarditis, infeccions associades a pròtesis i caràcters intravasculars, osteomielitis i artritis  |
| Persistència bacteriana                             | Formació de biocapes* (polisacàrid d'adhesió intracel.lular), variants de colònies petites i persistència intracel.lular  | Infeccions recurrents, fibrosi quística, a més de les infeccions anteriors   |
| Evasió dels mecanismes de defensa de l'hoste        | Càpsula polisacàrida, proteïna A, proteïna inhibidora de quimiotaxis (moviment de la cèl.lula depenent de les concentracions de substàncies químiques al medi extern), proteïna d'adherència extracel.lular i toxines | Infeccions cutànies invasives, pneumonia necrotizant i abscessos   |
| Penetració i invasió tisular                        | Proteases, lipases, nucleases, hialuronidases, fosfolipasa C i elastases (producció enzimàtica)   | Destrucció tissular i infeccions metastàtiques   |
| Shock sèptic (hipotensió arterial) i quadres tòxics | Enterotoxines (exotoxines), toxines exofoliatives, toxina $\alpha$ , peptidoglicà, àcids teoics i toxina del síndrome del shock tòxic   | Toxiinfeccions alimentàries, síndrome del shock tòxic, síndrome de la pell escalada, impetigen (ampolles) i sepsi (inflamació general del cos) |

Per assegurar una bona coordinació dels sistemes d'atac entre els diversos bacteris, existeix un sistema de comunicació bacterià (Quorum sensing). Gràcies això, els bacteris sintetitzen proteïnes (autoinductors) que, depenent dels factors ambientals, poden activar un gran nombre de gens, incloent els de virulència.

<sup>2</sup> És una adaptació de la taula 4 del llibre: PAHISSA, Albert. *Infeccions produïdes per Staphylococcus aureus*. ICG Marge. Barcelona, 2009.

Tot i això, actualment es té poca informació sobre l'expressió de molts gens en una infecció.

### 1.6.2 *Salmonella spp*

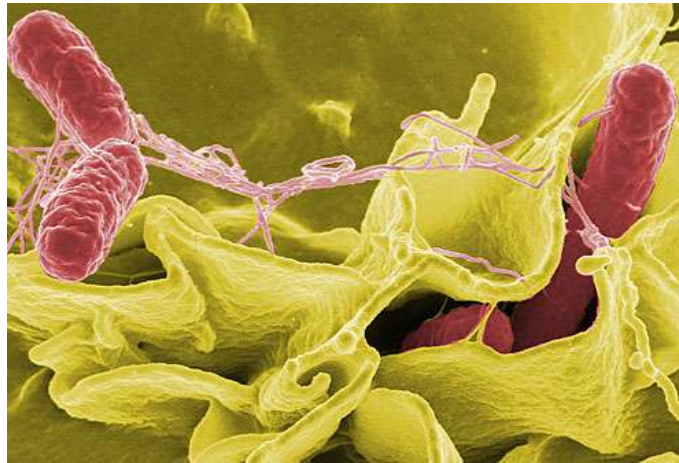
A nivell general, les infeccions de *Salmonella* continuen essent importants tant en humans com animals. Les soques de *Salmonella* que causen brots de la infecció solen variar al llarg dels anys. Fins a mitjans dels anys 80 la *S. typhimurium* era la més comuna, però en els últims anys ho ha sigut *S. enteritidis*.

En aquest cas, a causa del desconeixement de l'espècie de *Salmonella* a treballar en l'experiment, es tractarà el bacteri d'una forma més general que *Staphylococcus aureus*, i per tant, s'anomenarà *Salmonella spp*.

Es tracta d'un bacteri anaeròbic que sovint presenta flagels i per tant, són mòbils.

El seu descobriment ens remet al 1888 i es creu que la *Salmonella* és la causa més important d'intoxicació alimentària arreu del món. Actualment, encara es troben diversos brots de la malaltia, que sovint afecten a un col·lectiu, però també podem trobar casos aïllats.

Per evitar aquest tipus



Imatge 10. *Salmonella spp.* al microscopi. Font:

[http://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer\\_assets/site\\_images/articles/health\\_tools/salmonella\\_outbreak\\_tomatoes\\_slideshow/PRinc\\_rm\\_photo\\_of\\_salmonella1.jpg](http://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer_assets/site_images/articles/health_tools/salmonella_outbreak_tomatoes_slideshow/PRinc_rm_photo_of_salmonella1.jpg)

d'infeccions, en els últims anys les mesures industrials i de salut pública promouen un control sobre diversos productes que podrien portar el bacteri, principalment d'origen aviar (carn, ous, ...).

### Virulència

Un cop el microorganisme ha pogut colonitzar un individu, es multiplica dins del cos hoste i s'adhereix als seus teixits, generalment als intestinals.

A més, el bacteri sol sintetitzar una exotoxina que és la causant de la inflamació i diarrea (síntomes habituals de la infecció provocada per *Salmonella*).

En el cas de què el bacteri sigui capaç de combatre el sistema immunològic de l'hoste, aquest pot penetrar cap al sistema limfàtic\* o venós\*, causant malalties més greus. Un exemple podria ser gastroenteritis amb febre tifoide, septicèmia o sepsi (inflamació de tot el cos) i seqüeles cròniques.

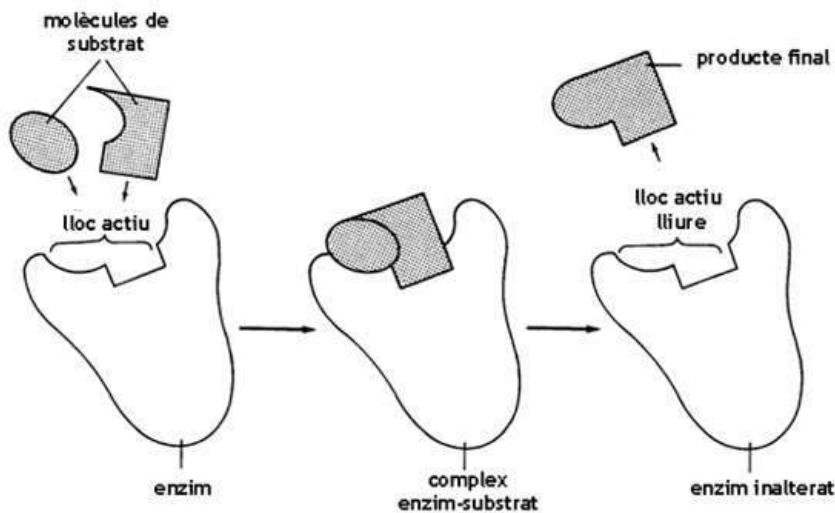
Sovint s'intenta evitar l'ús d'antibiòtics en països desenvolupats contra *Salmonella*, però aquest tipus de bacteri cada cop presenta més resistència als antibiòtics actuals, tal i com observem en la majoria de bacteris.

## 2. ELS ENZIMS

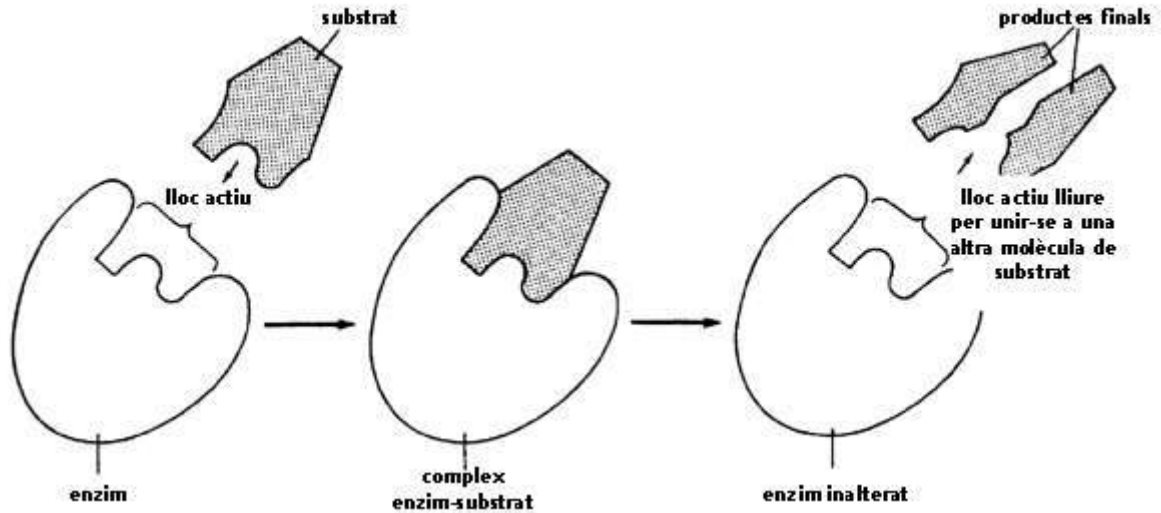
Els enzims són proteïnes que actuen com a catalitzadors en organismes vius, és a dir, acceleren reaccions químiques.

Les molècules substrat\* encaixen al centre actiu enzimàtic\*, provocant una interacció entre les molècules substrat, cosa que comporta una formació o trencament d'enllaços entre elles. Així doncs, hi té lloc una reacció química.

Els enzims, al controlar processos biològics, els trobem en totes les cèl.lules, on hi fan funcions necessàries per la seva supervivència. En aquest sentit, veiem que és un bon punt diana pels antibiòtics, perquè la seva inactivació pot comportar la lisi\* de la cèl.lula.



Imatge 11. Activitat enzimàtica. Il·lustració adaptada de: TORRANCE, James. *Mòduls de Biologia*. Londres, 1998.



Imatge 12. Activitat enzimàtica. Il·lustració adaptada de: TORRANCE, James. *Mòduls de Biologia*. Londres, 1998.

No obstant això, l'organisme viu no sempre té la necessitat de què es faci una determinada reacció química, sinó que depenent de les circumstàncies s'activa o inhibeix l'enzim.

Per una banda, trobem l'activació d'un enzim, que generalment és a conseqüència de la unió de l'enzim amb una determinada molècula. Aquesta pot tractar-se d'un cofactor (molècula inorgànica) o coenzim (molècula orgànica).

Per altra banda, també existeixen els inhibidors enzimàtics que en fan l'acció oposada.

Els inhibidors enzimàtics són molècules que interactuen amb enzims, afectant a la seva funció. Tanmateix, veiem que precisament aquesta és la funció que usualment semblen fer els antibiòtics.

Hi ha diversos grups d'inhibidors enzimàtics, dins dels quals trobem diversos tipus d'antibiòtics. No obstant això, un inhibidor enzimàtic no és necessàriament un antibiòtic.

Primerament trobem dos grans grups: els inhibidors inespecífics i els específics.

**Inespecífics:** Són els inhibidors que afecten en el funcionament de tots els enzims per igual. Per processos físics o químics, desnaturalitzen els enzims de forma irreversible (en canvien l'estructura proteica i perden la seva activitat).

Exemples: alcohol, àcids i bases, metalls pesants, agents reductors i la temperatura.

**Específics:** Aquest tipus d'inhibidors actuen sobre un determinat enzim. Tal i com veurem més endavant, una propietat molt important dels antibiòtics és la seva especificitat, ja que és interessant que actuïn, només, en cèl·lules patògenes.

Dins d'aquest últim grup hi trobem: inhibidors competitiu, no-competitiu, reversibles i irreversibles.

**Competitiu:** L'estructura molecular d'aquests inhibidors és molt semblant a la del substrat de l'enzim contra qui actuen. Així doncs, l'inhibidor es col·loca a la part activa de l'enzim, evitant l'acoblament del substrat a ell.

Usualment aquest tipus d'inhibició és reversible, per tant l'activitat de l'inhibidor depèn de la seva concentració, de la concentració del substrat i la seva afinitat per l'enzim.

**No-competitiu:** Un inhibidor no-competitiu és aquell que interactua amb l'enzim però no per la part activa. L'inhibidor s'uneix a l'enzim, tot provocant-li un canvi estructural (també a la part enzimàtica activa) i com a conseqüència, el substrat no pot acoblar-se a la seva zona activa.

Aquesta inhibició normalment també és irreversible, però no es veu influenciada per les concentracions de les molècules. Però per altra banda, també veiem inhibidors que estableixen forts enllaços covalents\* amb l'enzim, comportant-li un canvi estructural permanent, i per tant, també la seva inactivació.

### 3. ANTIBIÒTICS

Els antibiòtics són substàncies químiques sintetitzades per un microorganisme, que inhibeixen el creixement o causa la mort d'altres microorganismes.

Per altra banda, també existeixen els agents antimicrobians, unes substàncies amb les mateixes característiques que els antibiòtics, però estan creades al laboratori (sintètiques) amb l'objectiu de millorar la seva eficàcia.

Tot i que tenen significats lleugerament diferents, sovint s'utilitzen com a sinònims, ja que ambdós tenen el mateix objectiu.

Per això, podríem utilitzar la paraula antibiòtic per parlar tant de les substàncies naturals com de les sintètiques i les semi-sintètiques.

Sovint es pot observar una relació inversa entre la toxicitat i l'efectivitat dels antibiòtics en el seu origen. Quant més naturals són les substàncies, més toxicitat poden presentar i menys efectivitat; a diferència dels sintètics, que solen ser més efectius i menys tòxics per l'home.

Aquest fet és conseqüent a què els bacteris i altres microorganismes poden trobar-se sovint en contacte amb aquests antibiòtics, cosa que afavoreix la probabilitat de què els afectats puguin presentar una resistència adquirida. A més, aquestes substàncies naturals tenen un baix grau de selectivitat en la seva actuació, ja que poden provocar danys en cèl·lules tant eucariotes com procariotes a causa de la seva inespecificitat.

Per combatre aquests problemes, s'ha fet i s'està fent recerca en els laboratoris amb l'objectiu de sintetitzar molècules que actuïn sobre processos essencials de les cèl·lules patògenes, sent a més, desconegudes per aquests i promou la selectivitat i disminució de la toxicitat (tot i que sempre ho són en cert grau).

Tal i com s'ha vist en la definició d'antibiòtic, s'observa que aquest pot actuar de dues maneres: matant la cèl·lula o inhibint-ne el creixement.

Conseqüentment, sovint es parla de dos tipus d'antibiòtics:

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

No obstant això, la seva línia divisòria no és clara, ja que un sol tipus d'antibiòtic pot actuar com a bacteriostàtic i bactericida alhora, o bé, pot variar segons la seva concentració i dosi.

### **3.1 SELECCIÓ D'UN DETERMINAT ANTIBIÒTIC PER COMBATRE UNA MALALTIA**

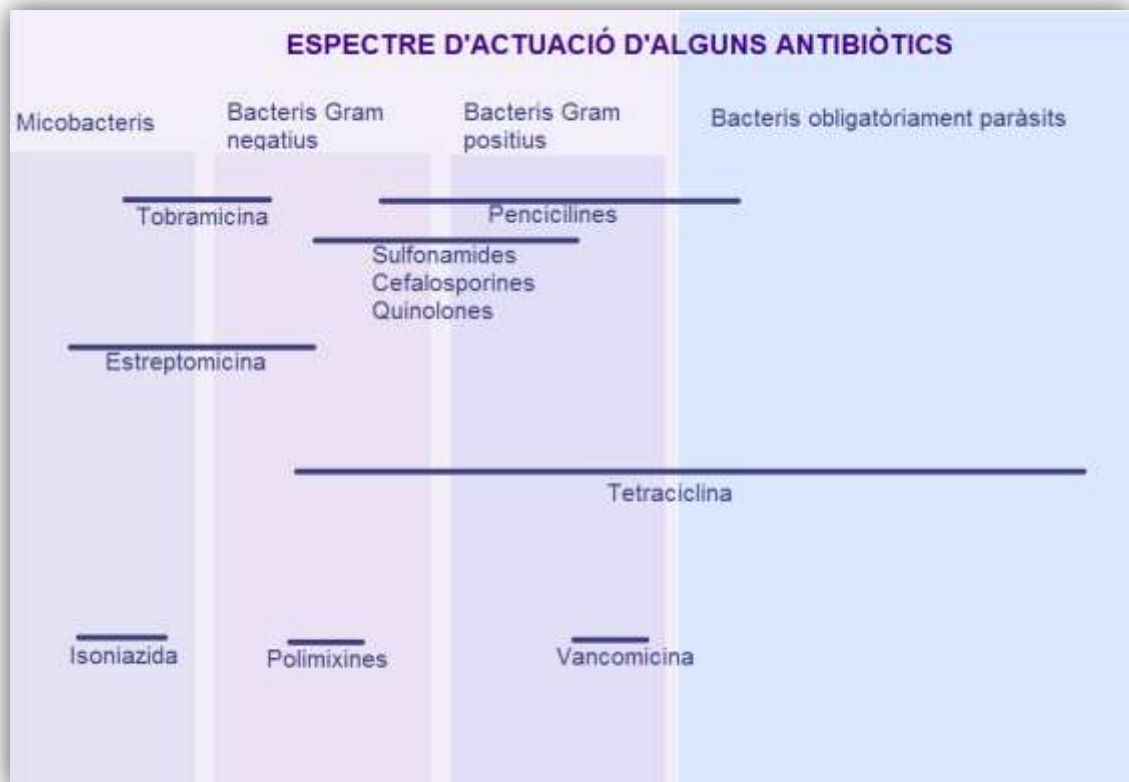
En un cas d'infecció bacteriana, els metges sovint fan tests de susceptibilitat. Aquests els ajuden a determinar la teràpia més adequada pel pacient infectat i d'altres propers; seleccionant l'antibiòtic més barat, de major amplitud d'espectre i el més efectiu. Però per altra banda, aporten informació per millorar la recerca d'antibiòtics i són molt útils per fer un control de les resistències bacterianes als antibiòtics. Conseqüentment, els tests proporcionen un benefici individual (pel pacient a tractar), però alhora a tota la població.

### 3.2 CLASSIFICACIÓ ANTIBIÒTICS

Els antibiòtics es poden classificar de diverses formes. En aquest cas, ho veurem a partir del seu espectre i sobretot a partir del mètode d'acció. Tot i això, també es comentarà una mica la seva estructura molecular.

Per començar, observem què és l'espectre d'acció i com es poden classificar:

- Ampli espectre: Antibiótics actius sobre una àmplia varietat d'espècies i gèneres.
- Espectre reduït: Antibiótics actius sobre un grup reduït d'espècies.



Imatge 13. Espectre d'actuació d'alguns antibiòtics. Adaptació de: <http://slideplayer.com.br/slide/51595/>

Però per altra banda, considero que el sistema de classificació més clar és a partir de la funció, és a dir, a partir de la zona on ataquen els diversos medicaments.

Anteriorment, en l'apartat de bacteris ja s'ha comentat amb més concreció els diversos punts diana dels antibiòtics. Però en aquest apartat, s'aprofitarà l'explicació per mostrar alguns dels

mètodes d'acció dels principals grups d'antibiòtics (se n'expliquen només uns quants, ja que hi ha una gran varietat d'aquest tipus de medicines).

En aquest cas, s'ha considerat que la classificació següent dels antibiòtics podia ser bastant entenedora:

a) Inhibidors de la síntesi de la paret cel.lular

β- lactàmics

Glicopèptids

b) Inhibidors de la funció de la membrana

Antisèptics

Ionòfers

c) Inhibidors de la síntesi de proteïnes:

Aminoglycosides

MLSK (Macrolides, Lincosamides, Streptogramins, Ketolides)

Tetracyclines

Glycylcyclines

Fenicols

Oxazolidinones

Ansamycins

d) Inhibidors de la síntesi d'àcids nucleics

Quinolones

e) Anti-metabòlics

Sulfanamides:

Trimetoprim



## a) Inhibidors de la síntesi de la paret cel.lular

### $\beta$ -lactàmics

#### CARACTERÍSTIQUES GENERALS

Actualment podem trobar uns 50 tipus diferents d'aquests antibiòtics al mercat

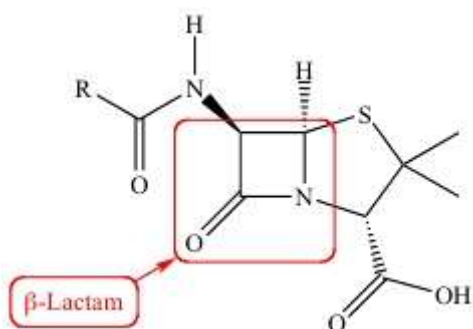
- Són bactericides
- El grau de toxicitat no és molt elevat, es poden subministrar a altes dosis (tal i com s'ha dit anteriorment, tots són tòxics però en diferents graus)
- Són bastant barats

Poden ser inactivats per enzims bacterians, com per exemple:

- Penicillinases
- Cephalosporinases
- ESBL's (beta-lactamases d'ampli espectre)
- Cephamycinases
- Carbapenemases

Conseqüentment, habitualment els antibiòtics d'aquests tipus estan compostos per les molècules antibiòtiques i inhibidors de beta-lactamases, per evitar la inactivació de les molècules antibiòtiques.

#### ESTRUCTURA



Imatge 14. Molècula beta-lactàmics. Font: [http://www.chem.ucla.edu/harding/IGOC/B/beta\\_lactam01.jpg](http://www.chem.ucla.edu/harding/IGOC/B/beta_lactam01.jpg)

Els antibiòtics  $\beta$ -lactàmics tenen una estructura molecular molt similar. Són àcids orgànics que presenten un anell  $\beta$ -lactàmic. Tot i això, trobem una gran varietat d'antibiòtics en aquest grup, els quals, normalment, es diferencien per la cadena radical ( R ) unida a l'amida.

La majoria són solubles en aigua, i en aquest cas, l'estructura i la funció de les molècules són similars.

#### MÈTODE ACCIÓ

**Propietat:** Són solubles en aigua

**Objectiu:** PBP (Proteïna d'Únió de Penicilina)

**Selectivitat:** Aquest tipus d'antibiòtics no presenten nivells de toxicitats elevats per les nostres cèl.lules, degut a la selectivitat. Les cèl.lules eucariotes, al no presentar paret bacteriana, no es veuen afectades pels beta-lactams

**Diferenciació de la capacitat inhibidora:** depenent de la composició de la paret cel.lular. més o menys lípids.

#### GRAM +

Les molècules  $\beta$ - lactàmiques, tal i com s'ha dit anteriorment, tenen com a objectiu unir-se a les PBP que es troben en la superfície de la membrana cel.lular. Per això, en els bacteris Gram-positius, els antibiòtics  $\beta$ - lactàmics únicament han de travessar les capes peptidoglicanes per realitzar la seva funció.

A aquest tipus de molècules, la solubilitat en aigua els confereix la capacitat de travessar les capes peptidoglicanes amb facilitat, ja que permeten la difusió de molècules petites.

Per altra banda, els antibiòtics es poden trobar amb bacteris que presenten una resistència natural, com pot ser el cas de l'enterococcus. Aquest tipus de bacteri presenta components lipídics en la paret cel.lular, cosa que provoca una lleugera resistència envers les penicilines i resistència a C1G.

#### GRAM -

A causa de les diferències entre les composicions de les parets cel.lulars entre els tipus de bacteris, veiem que en les cèl.lules Gram-negatives, els antibiòtics tenen una certa dificultat en arribar al seu punt diana. En aquest cas, les molècules antibiòtiques han de travessar la membrana externa, la paret cel.lular i l'espai periplasmàtic.

### **-Membrana externa**

#### **Porines**

Són proteïnes transmembranoses que formen canals d'aigua a través de la membrana. Aquest fet permet l'entrada de molècules hidrofíliques d'un pes molecular inferior a 600 u per difusió passiva.

#### **Fosfolípids**

En certs casos, trobem molècules  $\beta$ -lactàmiques lipofíliques capaces de difondre per la bicapa lipídica gràcies a la seva afinitat. Tot i això, la presència de lipopolisacàrids en la cèl.lula bloqueja la seva difusió.

### **-Peptidoglicà**

Difonen a través de les seves capes sense dificultats.

### **-Zona periplasmàtica**

Els  $\beta$ -lactàmics poden trobar-se amb  $\beta$ -lactamases i ser inactivats.

A causa de les dificultats que presenta l'entrada de les molècules  $\beta$ -lactàmiques a les cèl.lules Gram-negatives, podem considerar que aquest tipus de bacteris presenten una resistència natural. Tot i això, podem trobar molècules capaces de difondre per les diverses capes i establir un enllaç amb les PBPs.

En ambdues cèl.lules hi trobem diversos tipus de PBPs les quals efectuen funcions diferents en la síntesi de la paret cel.lular:

- PBP glicosiltransferasa: genera cadenes peptidoglicàniques
- PBP transpeptidasa: reticula diverses cadenes
- PBP carboxipeptidasa: regula la producció peptidoglicànica

D'aquesta manera, en el cas de què les molècules beta-lactàmiques arribin a la superfície de la membrana cel.lular actives, al unir-se amb una PBP mitjançant un enllaç covalent, inhibiran una part del procés de la síntesi de la paret cel.lular dependent del tipus de PBP.

## **Glicopèptids**

- Estructura complexa i d'alt pes molecular (1500-2000 u)
- Són bactericides
- Són inactius en cèl.lules Gram -
- Dins d'aquest grup hi trobem dos components principals: la vancomicina i el teicoplanin, els quals tenen una estructura i un model semblants, però diferent als beta-lactams. Per altra banda, també podem classificar els glicopèptids en dos grups: els glicopèptids i els lipoiglicopèptids

### **MÈTODE ACCIÓ**

Generalment, tal i com hem observat anteriorment, els bacteris Gram-negatius són naturalment resistents a aquest tipus d'antibiòtics, ja que al presentar una estructura molecular d'alt pes, aquestes no poden difondre a través de la membrana cel.lular exterior.

Contràriament, són difoses sense dificultats per la mureïna de la paret cel.lular de les Gram-positives.

Les molècules glicopèptiques aprofiten la seva gran estructura per inhibir l'últim procés de la síntesi de la paret cel.lular. La molècula s'uneix a l'extrem final de la cadena dels cinc aminoàcids units a l'àcid N-acetilmuràmic, impedit la unió de la cadena amb la pentaglicina, ja que tampoc permet actuar als enzims encarregats de crear els enllaços entre les dues cadenes (glicosiltransferases i transpeptidases). D'aquesta manera, impedeixen la unió de les diverses capes peptidoglicanes.

### **b) Inhibidors de la síntesi de la membrana cel.lular**

Generalment aquest tipus d'antibiòtics, a l'actuar en la membrana cel.lular, una estructura molt semblant tant en les cèl.lules procariotes com en les eucariotes, no mostra gaire selectivitat i per tant, sovint presenten alta toxicitat.

## **Antisèptics**

### **MÈTODE D'ACCIÓ**

L'agent microbià s'uneix als components de la membrana cel·lular, sembla que principalment a les proteïnes. Si ja s'ha aconseguit descompondre la paret cel·lular, els antisèptics poden actuar sobre el bacteri en molt baixes concentracions.

La alteració de la funció de la membrana comporta una sortida de components citoplasmàtics de baix pes molecular de la cèl·lula cap al medi exterior.

1. Primer signe de l'alteració membranosa és la presència de ions de potassi al medi extern de la cèl·lula, ja que normalment la cèl·lula capta una gran concentració d'aquests per adquirir un medi més concentrat q el medi.
2. Sortida de nucleòtids i certs aminoàcids
3. Ions fosfat i glúcids.

Això només indica una gran alteració a la membrana. El que causa la lisi de la cèl·lula és l'alteració de la membrana que permet alliberar enzims cel·lulars (amb funció de degradar proteïnes) i àc. nucleics.

Altes concentracions d'antisèptics: alteració morfologia cel·lular i a la seva bioquímica. l'antisèptic penetra dins la cèl·lula.

## **Ionòfors**

### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

- Són polipèptids cíclics i lineals que faciliten el pas dels ions orgànics a través de les membranes.
- No s'utilitzen en medicina perquè són molt tòxics per tot tipus de cèl·lules.

### **c) Inhibidors de la síntesi de proteïnes**

La síntesi de proteïnes és un procés essencial per la vida de les cèl·lules, tant les eucariotes com les procariotes. No obstant això, els antibiòtics inhibidors poden fer una selecció al actuar en aquest procés, ja que les cèl·lules eucariotes necessiten més temps per sintetitzar una cadena peptídica i per tant, poden actuar en les cèl·lules procariotes abans d'afectar la resta. Tot i

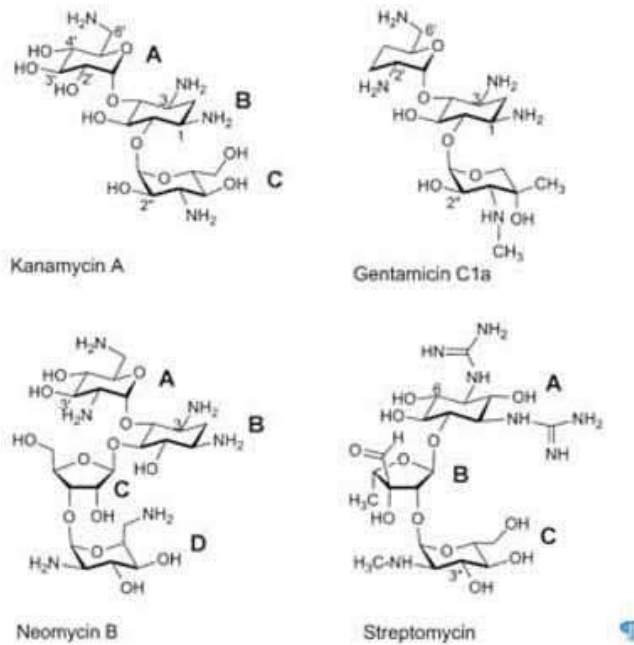
això, aquest fet comporta un alt nivell de toxicitat i per tant, sovint és necessari fer un control mèdic durant la teràpia.

## Aminoglicosídic

### CARACTERÍSTIQUES GENERALS

- Són molècules que actuen de forma bactericida.
- La seva estructura és semblant, composta per tres anells bàsics.

### ESTRUCTURA



Imatge 15. Exemples molècules aminoglicosídiques. Font: [http://www.cpbs.cnrs.fr/IMG/jpg/Capture\\_d\\_e\\_cran\\_2013-05-21\\_a\\_15-](http://www.cpbs.cnrs.fr/IMG/jpg/Capture_d_e_cran_2013-05-21_a_15-)

### MÈTODE D'ACCIÓ

La diana d'aquest tipus de molècules són els ribosomes que es troben al citoplasma.

Per això, aquests antibiòtics es veuen obligats a travessar diverses capes:

#### 1. Membrana externa i mureïna

Tant en cèl.lules Gram positives com en negatives, les molècules poden penetrar fàcilment a través de les capes externes, gràcies a la seva càrrega positiva, ja que són atretes per la càrrega negativa dels LPS de la membrana externa o bé pels àcids teoics de la mureïna.

## **2. Membrana citoplasmàtica**

La capacitat que presenten en travessar aquesta capa, és deguda als enzims respiratoris que presenten els bacteris anaeròbics o anaeròbics facultatius (tenen la capacitat de crear ATP per fermentació o anaerobicament, depenent de la concentració d'oxigen del medi extern.

Conseqüentment, aquest tipus de molècules només són actives davant d'aquest tipus de bacteris.

Un cop les molècules es troben al citoplasma, s'uneixen a la cavitat 30S dels ribosomes, causant una deformació que bloqueja tots els processos de la síntesi de proteïnes. Com a conseqüència, s'obtenen proteïnes errònies sense funció o bé tòxiques, que a l'incorporar-se a la membrana cel.lular, impossibilita la seva activitat funcional.

## **MLSK (Macrolides, Licosamides, Streptogramines, Ketolides)**

### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

- Són molècules amb funció bacteriostàtica.
- Presenten gran varietat d'estructures moleculars, però actuen de forma similar.

### **MÈTODE D'ACCIÓ**

#### **GRAM+**

En aquest cas, les molècules d'aquest grup d'antibiòtics no presenten resistència en la penetració a l'interior de la cèl.lula, ja que difonen a través de la mureïna i la membrana cel.lular.

#### **GRAM-**

La majoria de bacteris d'aquest tipus són resistents als MSLK (lipofílics) a causa de la seva poca afinitat amb l'aigua. La membrana externa hidrofílica d'aquests bacteris impedeix el pas de les molècules i a més, al ser d'alt pes molecular, la via a través dels porus també es veu obstruïda.

Els antibiòtics d'aquest grup, a diferència de l'anterior, s'uneixen a la subunitat ribosòmica 50S. No obstant això, el seu efecte és similar als antibiòtics aminoglicosídics, ja que també bloquegen tots els passos del procés de síntesi de proteïnes, causant proteïnes deformades o tòxiques.

## **Tetraciclines**

### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

- És un grup d'antibiòtics amb poder bacteriostàtic, derivats d'una tetraciclina d'un *Streptomyces spp.*
- Els bacteris habitualment presenten resistència a elles. Però per altra banda, són d'ampli espectre.
- Difonen bé a través de cèl.lules i ossos, els quals poden intoxicar.
- En dones embaressades, poden ser tòxics pels ossos del fetus.

### **MÈTODE D'ACCIÓ**

Les tetraciclines per travessar la membrana externa de les cèl.lules Gram-negatives, són capaces de formar complexos amb magnesi carregats positivament, els quals són atrets per la membrana. Seguidament, s'acumulen al periplasma, on es desfà l'enllaç i esdevenen tetraciclines amb càrrega neutre. Això, els hi confereix la destresa de traspasar la capa biliídica de la membrana amb facilitat. D'una forma semblant, veiem com les tetraciclines traspassen les diverses capes dels bacteris Gram-positius fins arribar als ribosomes.

Un cop dins, les molècules s'uneixen a la subunitat 30S per evitar la unió de l'amino-acyl ARNt a la cavitat A del ribosoma. Tot i això, sembla que les glicilciclines estableixen una unió més forta que la resta de generacions tetracíclics.

## **Fenicols**

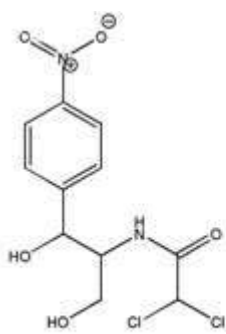
### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

- Poden ser substàncies altament tòxiques. Poden provocar severos problemes sanguinis, tals com anèmia de medul.la òssia.

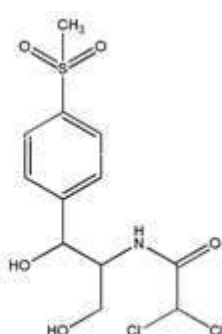


- Són bacteriostàtics.
- Són actius enfront molts bacteris, tant Gram-positius com negatius. Tot i això, hi ha restriccions en el seu ús davant infeccions greus de *Salmonella*.

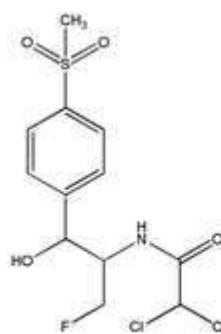
ESTRUCTURA:



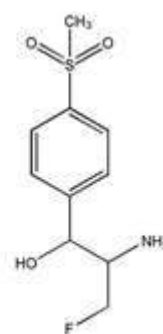
Chloramphenicol (CAP)



Thiamphenicol (TAP)



Florfenicol (FF)



Florfenicol-amine (FFA)

Imatge 16. Molècules del grup antibiòtic dels fenicols. Font. <http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/ArticleImage/2012/AN/c2an16052h/c2an16052h-f1.gif>

## MÈTODE D'ACCIÓ

Les molècules dels fenicols són relativament petites, cosa que els hi permet entrar amb bastanta facilitat dins ambdós tipus de cèl.lules bacterianes.

En aquest cas, a diferència dels altres que hem vist com a inhibidors de la síntesi de ribosomes, observem que s'enllacen a la subunitat 50S del ribosoma amb l'objectiu d'inhibir una etapa més concreta d'aquest procés: l'elongació de la cadena proteica.

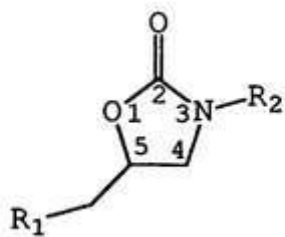
## Oxazolidinones

### CARACTERÍSTIQUES GENERALS

- Són bacteriostàtics, però bactericides per la majoria d'*Streptococcus*.

És un grup d'antibiòtics sintètics relativament nou. Això comporta que dins d'aquest grup trobem poques varietats antibiòtiques.

## ESTRUCTURA



Imatge 17. Font: <http://www.google.com/patents/EP1578723A3?cl=en>

## MÈTODE D'ACCIÓ

Tal i com hem vist anteriorment, les seves molècules són relativament petites, cosa que facilita l'entrada d'aquests en les cèl.lules Gram-positives. El seu mètode d'acció és interessant en l'àmbit biomèdic, ja que a diferència dels altres antibiòtics inhibidors de la síntesi de proteïnes, aquest actuen en una etapa prèvia a la dels anteriors. La molècula es col.loca a la cavitat P de la subunitat 50S del ribosoma, evitant l'iniciació del procés. D'aquesta manera, aquest grup d'antibiòtics no sol veure's afectat pels mètodes de resistència desenvolupats per la majoria de bacteris.

## Ansamicines

### CARACTERISTIQUES GENERALS

- Antibiòtics naturals o semi-sintètics derivats de l' *Amicolatopsis rifamycinica*.
- Depenent de la concentració i del bacteri que es tracta, el seu efecte pot ser tant bactericida com bacteriostàtic.
- Són subministrats en combinació amb altres antibiòtics per tractar malalties com la tuberculosi o infeccions de *Staphylococcus*.

## MÈTODE D'ACCIÓ

Aquest tipus de molècules actua en una etapa encara més primera que ho fan el grup anterior. S'acoblen a la RNA polimerasa per evitar la transcripció del ADN a ARN, el qual porta la informació necessària per la síntesi de proteïnes.

#### **d) Inhibidors de la síntesi dels àcids nucleics**

La síntesi d'àcids nucleics la trobem comuna i bastant semblant en tot tipus de cèl·lules, tant en procariotes com eucariotes. Això, comporta una poca selectivitat en la activitat antibiòtica centrada en la inhibició d'aquest procés i per tant, medicaments amb molts efectes secundaris.

#### **Quinolones**

##### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

- Molècules petites i hidrofíliques
- Tal i com s'ha comentat anteriorment, poden arribar a ser molt tòxiques
- De les quinolones trobem diversos grups: la primera generació (d'espectre limitat) i la segona generació que serien les fluoroquinolones.

##### **MÈTODE D'ACCIÓ (fluoroquinolones)**

Al tractar-se de molècules petites i hidrofíliques, no tenen problemes en traspasar la membrana externa, la cel·lular o la mureïna.

Els antibiòtics fluoroquinolones inhibeixen la funció de les dues topoisomerases. Aquestes molècules poden unir-se al complex d'ADN i topoisomerasa II. Com a resultat, la hèlix de l'ADN es retorça fins a trencar, causant la mort de la cèl·lula. D'altra banda, en les Gram-positives, usualment la molècula s'uneix a la topoisomerasa IV, provocant el mateix resultat que en el mecanisme anterior.

#### **e) Anti-metabòlits**

Els compostos antibacterians que trobem dins d'aquest grup, no són estrictament antibiòtics, perquè el seu origen no és natural. Han estat creats al laboratori amb l'objectiu d'actuar sobre els enzims del metabolisme bacterià intermediari.

En aquest cas, presentarem els antibiòtics que intervenen en el procés de la síntesi de l'àcid fòlic.

Actualment trobem dos grups antibiòtics que intervenen en aquest procés: les sulfonamides i trimetoprim, metotrexat i pirimetamine. Sovint, per augmentar l'efecte antibiòtic d'aquestes substàncies, les sulfonamides i el trimetoprim es combinen per inhibir dues etapes de la síntesi de l'àcid fòlic.

## **Sulfonamides**

### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

Les sulfonamides són un grup d'antibiòtics descobert el 1935 per Domagk, qui fent investigacions amb colorants va observar un efecte antibiòtic en ells.

### **MÈTODE D'ACCIÓ**

Les sulfonamides són molècules anàlogues de l'àcid para-aminobenzoic (PABA), un metabòlit essencial pels bacteris, ja que ho és per la síntesi de l'àcid fòlic. Tanmateix, la semblança estructural d'ambdues molècules, confereix a les sulfonamides la possibilitat d'aturar el procés de síntesi de l'àcid fòlic, al unir-se a l'enzim sintetasa de l'àcid tetrahidropterico.

## **Trimetoprim, metotrexat i pirimetamine:**

### **CARACTERÍSTIQUES GENERALS**

Aquest altre grup d'antibiòtics sintètics, de la mateixa manera que les sulfonamides, també és bacteriostàtic.

### **MÈTODE D'ACCIÓ**

A diferència del grup anterior, aquest antibiòtics intervenen en una altra etapa de la síntesi de l'àcid fòlic, s'uneixen a la dihidrofolat reductasa.

## **3.3 ORGANISMES PRODUCTORS D'ANTIBIÒTICS**

En l'actualitat, tal i com hem pogut veure anteriorment, es coneix una gran varietat d'antibiòtics, els quals provenen generalment de substàncies naturals produïdes per altres organismes.

En aquest apartat, es presenten alguns dels antibiòtics més comuns consumits en els últims anys. A partir d'aquests, s'intenta fer una extrapolació per obtenir una idea general dels organismes productors dels antibiòtics que fem servir habitualment com a medicines.

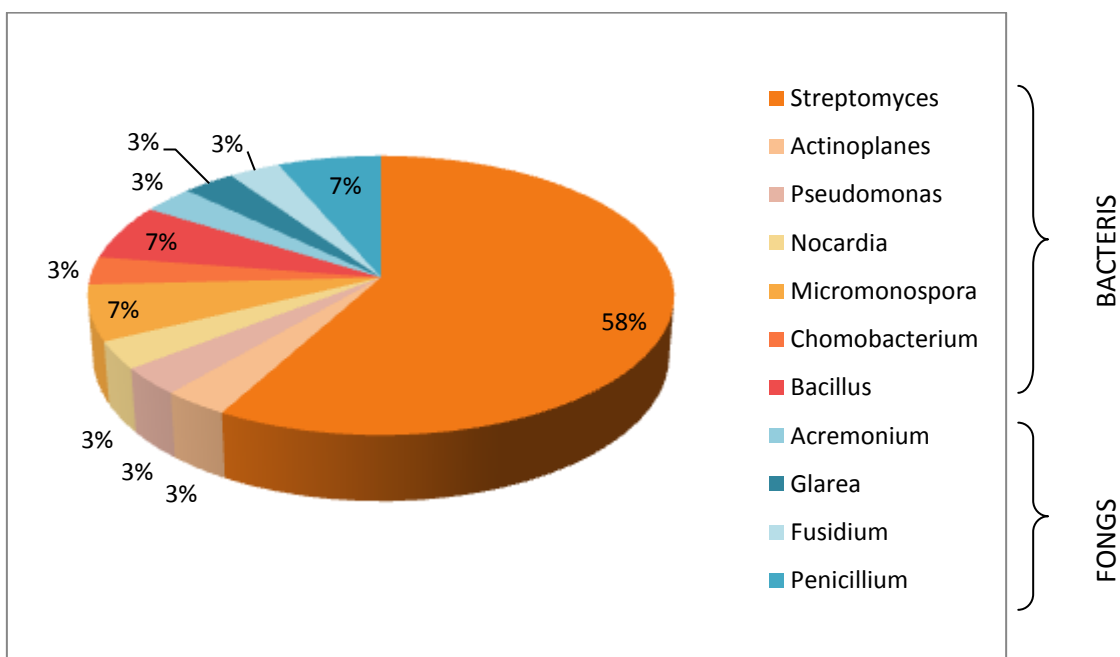
**Taula 2: Antibiòtics més comuns dels últims anys i el seu origen natural.** <sup>3</sup>

| Antibiòtic                      | Tipus        | Organisme productor  |
|---------------------------------|--------------|--|
| amikacina                       | Semisintètic |  |
| amoxicilina                     | Semisintètic |  |
| anfotericina B                  | Natural      | <i>Streptomyces nodosus</i>                                    |
| ampicilina                      | Semisintètic |  |
| azithromycina                   | Semisintètic |  |
| aztreonam                       | Semisintètic | <i>Chromobacterium violaceum</i>                               |
| Bacitracina                     | Natural      | <i>Bacillus licheniformis</i>                                  |
| Caspofungin                     | Semisintètic | <i>Glarea lozoyensis</i>                                       |
| Cefalosporina                   | Natural      | <i>Cephalosporium acremonium</i>                               |
| Cloramfenicol                   | Natural      | <i>Streptomyces venezuelae</i>                                 |
| Àcid clavulànic                 | Natural      | <i>Streptomyces clavuligerus</i>                               |
| Clindamicina                    | Semisintètic | <i>Streptomyces lincolnensis</i>                               |
| Dalfopristina-<br>Quinupristina | Semisintètic | <i>Streptomyces pristinaspiralis</i>                           |
| Daptomicina                     | Natural      | <i>Streptomyces roseoporus</i>                                 |
| Eritromicina                    | Natural      | <i>Scleropolyspora erythrae</i>                                |
| Fosfomicina                     | Natural      | <i>Streptomyces fradiae</i>                                    |
| Àcid fusídic                    | Natural      | <i>Fusidium coccineum</i>                                      |
| Gentamicina                     | Natural      | <i>Micromonospora purpurea</i>                                 |
| Griseofulvina                   | Natural      | <i>Penicillium griseofulvum</i>                                |
| Imipenem                        | Semisintètic |  |
| Josamicina                      | Natural      | <i>Streptomyces narbonensis subsp.</i><br><i>Josamyceticus</i> |
| Kanamicina                      | Natural      | <i>Streptomyces kanamyceticus</i>                              |
| Meticilina                      | Semisintètic |  |
| Mupirocina                      | Natural      | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                                 |

<sup>3</sup> Adaptació de la taula 1 del llibre: GUZMÁN, Carlos A.; FEUERSTEIN, Giora Z. *Pharmaceutical Biotechnology*. Springer Science+Business Media. Advances in experimental medicine and biology, vol. 655. Nova York, 2009.

|                |              |   |
|----------------|--------------|---|
| Netilmicina    | Semisintètic |   |
| Novobiocina    | Natural      | <i>Streptomyces spheroids S. Niveus</i> |
| Nistatina      | Natural      | <i>Streptomyces noursei</i>             |
| Penicilina     | Natural      | <i>Penicillium chryseogenum</i>         |
| Polimixina     | Natural      | <i>Bacillus polymyxa</i>                |
| Rifampina      | Semisintètic | <i>Nocardia mediterranei</i>            |
| Sisomicina     | Natural      | <i>Micromonospora inyoensis</i>         |
| Spectinomicona | Natural      | <i>Streptomyces flavopersicus</i>       |
| Spiramicina    | Natural      | <i>Streptomyces ambofaciens</i>         |
| Streptogramina | Natural      | <i>Streptomyces diastaticus</i>         |
| Streptomicina  | Natural      | <i>Streptomyces griseus</i>             |
| Teicoplanina   | Natural      | <i>Actinoplanes teichomyceticus</i>     |
| Tetraciclina   | Natural      | <i>Streptomyces aureofaciens</i>        |
| Tienamicina    | Natural      | <i>Streptomyces cattleya</i>            |
| Vancomicina    | Natural      | <i>Streptomyces orientalis</i>          |

A partir de les dades anteriors, s'ha intentat fer una classificació dels antibiòtics segons l'organisme productor:



Gràfic 1: representació global dels antibiòtics més populars dels últims anys, dependent de l'organisme productor.

En aquest cas, observem que més de la meitat dels antibiòtics presentats en la llista anterior, i que per tant, semblen ser els més consumits actualment; tenen el seu origen en substàncies produïdes pel tipus de bacteri *Streptomyces*.

Per altra banda, per agafar una idea general, s'han utilitzat colors ataronjats en els casos en què l'origen dels antibiòtics recau en bacteris, i d'una gamma de colors blavosa pels que són procedents de molècules produïdes per fongs\*.

D'aquesta forma, s'observa que principalment els antibiòtics que usem actualment provenen de fongs i bacteris, destacant els *Streptomyces* dins de l'últim regne.

Així doncs, sembla clar el fet de què els antibiòtics més utilitzats habitualment semblen provenir tots de microorganismes, no trobem cap cas de què siguin produïts per organismes pluricel·lulars. Aquest fet, podria anar en contra el plantejament de l'experiment.

### **3.4 RESISTÈNCIES A ANTIBIÒTICS**

Tal i com s'ha comentat anteriorment, l'especificitat d'un antibiòtic és molt important. D'aquesta manera, observem que cada antibiòtic té un element diana on actuar.

La diana pot ser una estructura comuna en la majoria de bacteris, però no en les cèl·lules eucariotes, cosa que assegura un antibiòtic sense toxicitat. Però contràriament, també hi ha elements o estructures diana que varien en les diferents varietats de cèl·lules procariotes, comportant una especificitat en l'actuació entre els diversos bacteris. Així doncs, observem que bacteris sense paret cel·lular, com per exemple els del gènere *Mycoplasma*, no presenten paret cel·lular i per tant, no es veuen afectats pels antibiòtics inhibidors de la síntesi de la paret. Aquest fet, l'anomenem resistència natural.

Per altra banda, també s'observen diversos bacteris que en un passat eren sensibles al poder dels antibiòtics però que al llarg del temps, han aparegut soques resistents a determinats antibiòtics. Això ens informa d'un canvi en l'estructura del bacteri, que causa dificultats en l'actuació de l'antibiòtic.

Aquest canvi pot ser degut a mutacions o a l'intercanvi de material genètic entre bacteris:

Una mutació és una alteració del material genètic. La síntesi d'ARN i ADN és un procés que es duu a terme a velocitats molt elevades. Sovint això comporta errors en la transcripció o bé

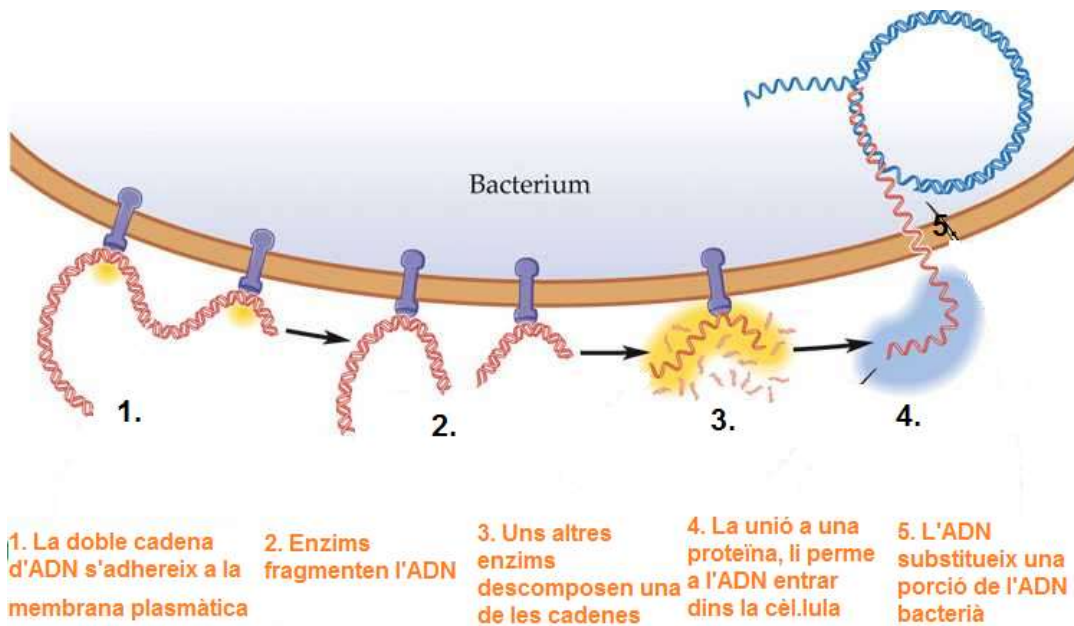
duplicació. Però també hi ha certs agents mutàgens que poden alterar l'ADN, com per exemple: radiacions ionitzants i certs compostos químics.

Aquests canvis, si no són modificats per la pròpia cèl.lula, poden causar canvis en ella. Llavors, en la traducció de proteïnes, les proteïnes es poden veure modificades. Un canvi d'aquests en un punt diana pels antibiòtics, podria comportar una dificultat per l'actuació del medicament o bé, sensibilitzar el bacteri davant d'ell. Com a conseqüència, observem que davant d'un antibiòtic la selecció natural actua i només sobreviuen els bacteris més resistents.

Tanmateix, també observem altres formes que comporten un canvi en el material genètic del bacteri.

Sorprenentment, s'ha observat que els bacteris tenen la capacitat de transmetre's el material genètic d'un a l'altre, també, tot i ser de diverses espècies. Ho poden fer de diverses formes:



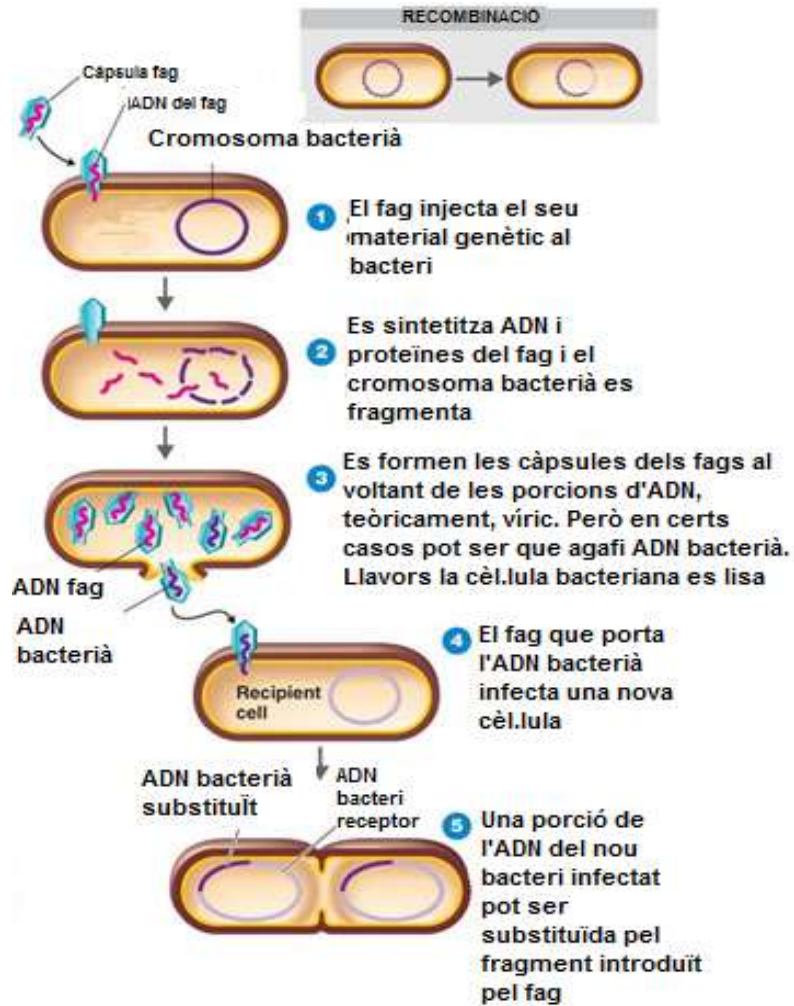


Imatge 18. Transformació. Font: <http://www.nicerweb.com/doc/class/med/Transformation.jpg>

### a) Transformació

Quan un bacteri es lisa els seus elements estructurals es troben en suspensió al medi, i, generalment també fragmentats. Conseqüentment, hi ha fragments d'ADN lliures en el medi, que un altre bacteri pot captar i introduir-lo al seu propi material genètic.

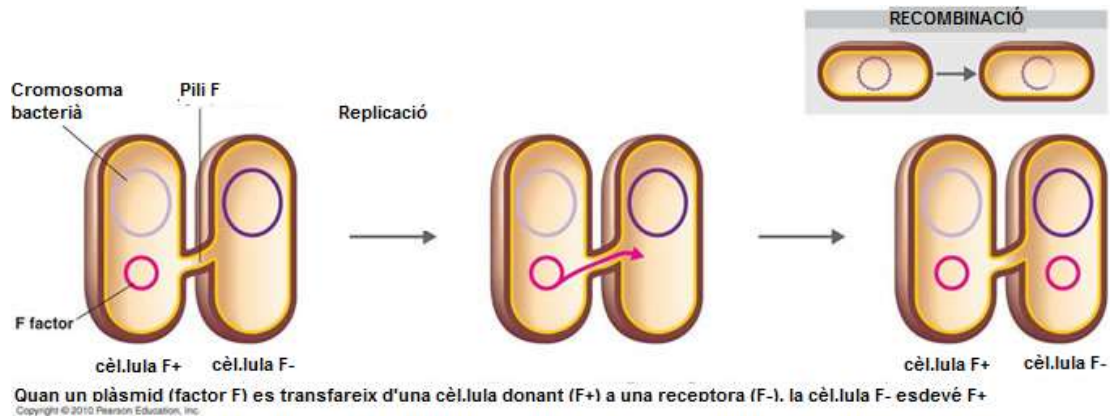
Un fragment de doble cadena d'ADN cèl.lula lisada s'adhereix a la superfície d'una cèl.lula. Una de les cadenes es desintegra i l'altra penetra dins la cèl.lula per incorporar-se a una de les cadenes de l'ADN de la nova cèl.lula, concretament a la seva zona homòloga substituint el fragment que hi havia prèviament. Llavors, el sistema reparador de la cèl.lula transcriu correctament la seqüència complementària a una de les dues cadenes. En el cas de transcriure la porció adquirida, el bacteri es veurà modificat genèticament.



Imatge 19. Transducció. Font: [http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap08/10th ed figures/figure 08 28 labeled.jpg](http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap08/10th%20ed%20figures/figure_08_28_labeled.jpg)

## b) Transducció

En una infecció produïda per un bacteriòfag\*, el virus normalment incorpora el seu material genètic al del bacteri infectat. En un determinat moment, un enzim víric provoca la fragmentació de l'ADN bacterià. Seguidament, l'ADN del virus es replica i es formen càpsules d'aquest al seu voltant. No obstant això, en alguns casos s'observa ADN bacterià dins les càpsules, de tal manera que, en infectar un nou bacteri, aquest rebrà una porció d'ADN del bacteri anterior.



Imatge 20. Conjugació. Font:

[http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap08/10th\\_ed\\_figures/figure\\_08\\_27a\\_labeled.jpg](http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap08/10th_ed_figures/figure_08_27a_labeled.jpg)

### c) Conjugació

En aquest últim cas, observem que un bacteri (F+) que presenta un plasmidi (factor F), és capaç de transmetre la informació que conté aquest a un altre bacteri (F-). El plasmidi, a part de contenir una porció de la informació del material genètic de la cèl·lula, també duu la necessària per establir contacte amb altres bacteris a través d'un pili anomenat pili F. Els plasmidis, de la mateixa manera que l'ADN, també poden duplicar-se, però a diferència, poden ser transmesos a altres bacteris a través del conducte que forma el pili.

## 4. SUBSTÀNCIES TEST

### 4.1 L'ALL (*Allium sativum*)



Imatge 21. All. Font: <http://www.unidental.es/wp-content/uploads/2013/03/ajos-aliento.jpg>

El cultiu de l'all és un dels més antics de la humanitat. Ha format part tant de receptes culinàries com medicinals en l'actualitat i en el passat.

Els egipcis de l'Antiga Egipte van ser els primers en adonar-se de les propietats de l'all, tal i com hem pogut comprovar a través dels jeroglífics\*. En ells s'hi exposen més de 200 receptes que tenen com a objectiu aprofitar les seves propietats per la salut humana.

A més, els esclaus de la època, encarregats de construir les piràmides, consumien all habitualment per ser més forts. Però també soldats i atletes en prenién, sovint en forma del que coneixem actualment com la salsa d'"all-i-oli", per rendir més.

Al llarg de l'història s'han atribuït una gran quantitat de qualitats a l'all, fins hi tot ha adquirit la fama de ser protector contra esperits, vampirs i males vibracions.

De la mateixa manera, en l'Antiga Roma i Grècia es considerava un vegetal afrodisíac, però alhora beneficiós per accelerar les recuperacions dels malalts. L'ingerien de diverses maneres: bullit, triturat i fins i tot afegit al vi. Així mateix, Hipòcrates, el pare de la medicina, també el recomanava.

A Bulgària hi havia la tradició de consumir all per viure més de cent anys, confiant plenament en les propietats que pot tenir el vegetal. També ho feien els monjos budistes del Tibet amb

“La cura tibetana de l’all”, un tractament de 12 dies depuratiu i alhora beneficiós per combatre diverses malalties.

Altres pobles també intuïen que era saludable per l’aparell digestiu, però al tenir una olor forta, sovint el desaconsellaven. Potser a causa de la seva mala olor se li va atribuir el poder de protecció contra bruixes, vampirs i altres éssers espirituals.

Fins i tot Nicholas Culpepper, un metge anglès de principis del s. XVII, va mencionar que l’all podia guarir totes les malalties. El recomanava sovint, però especialment per combatre infeccions.

Vist això, durant la Primera Guerra Mundial l’all va ser un recurs per desinfectar les ferides quan no es disposava dels antisèptics convencionals.

L’all no és un dels aliments que ens aportin més vitamines, oligoelements, minerals o energia pel nostre organisme, ja que el consumim en quantitats molt baixes. Malgrat això, presenta una gran varietat de substàncies. És ric en hidrats de carboni, però també conté proteïnes i minerals, tals com: fòsfor, magnesi, zinc i iode. Per altra banda, hi trobem vitamines, sucres, lípids, terpens, enzims, flavonoides, compostos fenòlics, components de sofre, etc.

D’aquests últims components esmentats, en destaca la aliina, que constitueix un 0,24% del pes global de l’all. Per si sola no presenta grans efectes terapèutics, però al tallar o esmicolar l’all, aquesta substància entra en contacte amb l’enzim alinasa i es descompon amb àcid 2-propensulfènic. L’unió d’aquests dos àcids forma l’alicina, una substància molt reactiva que proporciona l’olor característica a l’all.

Les investigacions fetes fins ara, han identificat uns 30 components de l’all amb efectes molt diversos i beneficiosos sobre el cos humà.

Actualment l’all s’està tornant a revalorar com a base de diversos medicaments. Per exemple com a: antifebril, estimulant, diürètic\* i expectorant, per prevenir la hipertensió i la mala circulació, disminuir colesterol i grasses, ajudar en casos d’encefalitis\*, recomanat a pacients diabètics, prevenció alguns casos de meningitis, contra paràsits intestinals juntament amb la ceba, antibacteriana natural, etc. Fins i tot s’ha observat una possible acció contra el càncer o el sida.

Sembla ser que l’alicina és la que té efectes inhibidors sobre diversos enzims fúngics, bacterians i virals; però alhora també d’altres relacionats amb la biosíntesi del colesterol.

## 4.2 L'ORENGA (*Origanum vulgare*)



Imatge 22. Orenca. Font: <http://heublumen.net/images/heilpflanze/oregano.jpg>

L'orenga també és una substància ben coneguda al llarg de la tradició històrica. S'ha utilitzat tant en afers culinaris, com medicinals i fins i tot s'ha cregut que tenia poders màgics; a més de ser utilitzada com a símbol de l'alegria i felicitat.

La mitologia grega explica que Afrodita, deesa de l'amor, va otorgar-li la fregància tant característica de l'herba, per simbolitzar la felicitat. Però per altra banda, creien que era l'antídot contra verins, però també en feien tractaments per la pell i per combatre infeccions. En aquest sentit, metges tradicionals xinesos també en feien ús per diversos tractaments.

Al s. XVI, aquesta herba es feia servir per qualsevol cosa, fins i tot es creia que donava sort i salut al dur-la a la cartera. Es va arribar a utilitzar com a base de moltes pocions i rituals d'amor o bé per oblidar algú estimat que ha marxat.

L'orenga és originària de la zona mediterrània, utilitzat sobretot a Itàlia, França, Grècia i Espanya.

A Espanya i Mèxic és molt comú trobar l'espècie en sopes o carns, a diferència d'Itàlia, on es troba en moltes salses i pizzes.

En l'actualitat s'han fet varis estudis sobre les seves propietats, entre les quals trobem que és:

- Antibacterial
- Antioxidant
- Antifúngic
- Anti-inflamatori



- Beneficiós pel tractament d'al·lèrgies
- Calma malalties epitelials
- Estimulant immunològic
- Calma dolors musculars
- Tracta la congestió\* nasal i pulmonar
- Etc.

Sembla ser que el contingut fenòlic (més abundant en mostres deshidratades) de l'orenga és qui li atorga un poder antibacterià. Entre aquestes substàncies, possiblement el carvacrol és la més abundant i la que confereix aquesta activitat envers els bacteris. Això se suposa en observar que al posar oli d'orenga en diferents cultius bacterians, aquests no sobreviuen, i que a més, en exposar-los a diversos components per separat, mostren més dificultats per sobreviure amb el carvacrol que amb la resta.

#### **4.2 L'ALBERCOC (*Prunus armeniaca*)**



Imatge 23. Albercoc. Font: <http://www.abuelacebolleta.com/wp-content/uploads/2012/09/albaricoques1.jpg>

L'albercoc és una fruita que va ser introduïda a Europa pels romans des d'Armènia. És d'origen asiàtic, però actualment el trobem en diversos països. La primera referència històrica sobre la fruita ens remet a l'any 3000 a.C. a Xina.

Sembla ser una fruita menys popular al llarg de la història que les anteriors, però hi ha certs dubtes de si les "pomes d'or" de la mitologia grega eren albercocs o bé llimones.

No obstant això, també són importants en la nostra dieta.

Amb relació a les seves propietats, en els ossos d'albercocs hi ha una substància que ha suscitat controvèrsia en el seu ús contra el càncer: la amigdalina.

L'amigdalina és un diglucòsid amb un radical cianida que li proporciona facilitat en penetrar a través de les membranes cel·lulars.

Malgrat tot, aquest radical és un precursor del cianur, que tot i ser-hi present en quantitats molt petites, el cianur és un verí molt potent que bloqueja la cadena respiratòria de la cèl·lula. Per contra, hi ha estudis que demostren que gràcies a l'enzim rodanasa de les nostres cèl·lules eucariotes, el radical cianida no és alliberat, i per tant, la substància no esdevé tòxica per les nostres cèl·lules, però sí per les cancerígenes que semblen no tenir aquest enzim.

### **4.3 FARIGOLA (*Thymus vulgaris*)**



Imatge 24. Farigola. Font: <http://2.bp.blogspot.com/-4vk5OCie380/TgR9uaXekgl/AAAAAAAAAGc8/IVuVqvfUjQ/s1600/Tomillo.jpg>

Es troba habitualment a la zona mediterrània occidental i resisteix bé les glaçades i sequeres. És una herba utilitzada tradicionalment en la nostra cuina (cuina mediterrània): en estofats, guisats, llegums, etc. A vegades s'ha dit que se sol afegir aquests plats que són uns dels més susceptibles a contenir microorganismes patògens. També ajuda en la bona conservació d'aliments.



Al segle XIX i primera meitat del XX, prèviament al descobriment dels antibiòtics, la farigola ja s'utilitzava com a desinfectant.

La seva composició química pot variar molt d'una espècie a una altra. Tot i això, el timol sol constituir un 40-50% de la composició de totes les espècies, tal i com demostren estudis científics.

Sovint es creu que el timol i el carvacrol (components de l'herba), li confereixen un poder antibacterià, tal i com hem observat anteriorment amb l'orenga. Tot i això, també hi ha altres fenols monoterpènics\* que poden influir, també, en els bacteris.

Molt sovint en la medicina tradicional es fa servir com a expectorant, però es creu que també estimula els glòbuls blancs i trombòcits\*, té funció antiinflamatòria, antioxidant, antisèptica\*, etc.

#### 4.4 CANYELLA



Imatge 25. Canyella. Font: <http://www.integrativehealthreview.com/wp-content/uploads/2012/05/Cinnamon1-618x250.jpg>

La canyella és l'escorça aromàtica del canyeller (*Cinnamomum zeylandicum*), una espècie originària de la Índia i Indoxina. D'una forma similar als productes anteriors, també s'ha utilitzat amb fins gastronòmics i medicinals al llarg de la història, però també cosmètics.

Des de milers d'anys abans de Crist, a la Índia i Xina ja es feien tractaments amb l'espècie. El valor que tenia a Xina va ser major a l'or.

A més, els antics egipcis l'utilitzaven en els embalsaments\* i en diversos rituals. Grecs i romans també feien rituals amb l'espècie, a més d'aprofitar les seves propietats per la salut, gastronomia i cosmètics.

A la Península Ibèrica en vam tenir coneixement gràcies als musulmans, cosa que es va poder aprofitar en la gastronomia i medicina.

Hi ha moltes històries sobre la canyella. Una d'elles explica que el Fènix (una àu màgica que ha de morir cada 500 anys però que seguidament torna a néixer), ajuntava canyella, mirra i nards per encendre el foc màgic que el cremaria per renéixer.

Actualment fem ús de la canyella a les nostres cuines, habitualment en l'elaboració de postres. Tot i això, també la podem trobar en productes relacionats amb la higiene bucal, segurament per aprofitar les seves propietats antifúngiques i antibacterianes; i en la indústria d'alimentació per fer conserves.

Segons la FAO (Organització d'agricultura i aliments) al 2006 entre el 75 i 85% de la canyella està constituïda per eugenol, una substància que sembla tenir una alta activitat antibacteriana, que també és complementada amb el cinamaldehyd, que presenta un caràcter antibacterià i alhora aromàtic.

#### 4.5 LLIMONA (*Citrus limonun*)

La llimona és una fruita originària de la Índia i sud-est de l'Àsia. Gràcies a Alexandre el Magne o les Creuades, la llimona va ser difosa per molts països. Es creu que el rei de Macedònia va dur la llimona al Mediterrani al s. II, i més tard va arribar a Amèrica a través dels colonitzadors espanyols.

Aquest fet ens indica que és una fruita molt coneguda des de l'antiguitat, i com a conseqüència, trobem diversos



Imatge 26. Cidra. Font: <http://3.bp.blogspot.com/-r6iW9L740xA/TwpSpaVsyII/AAAAAAAAACnQ/bazzzMznITA/s400/Cidra1.JPG>

mites tant de l'Antiga Grècia com d'Egipte.

Estudis científics afirmen que l'origen dels cítrics es troba en la "cidra", una fruita semblant a la llimona, però més grossa i de pell més rugosa.

A l'Antic Egipte trobem una llegenda relacionada amb aquest fruit del qual deriva la llimona. Es deia que dos delinqüents condemnats a morir davant un "àspide" (un ésser molt verinós, amb grans ullals). Abans de fer la visita a l'àspide, se'ls va alimentar amb cidra i a l'hora de l'execució, els condemnats, tot hi haver estat mossegats per l'àspide, no van sentir cap mena de dolor. Tanmateix, el dia següent es va decidir fer un experiment, sotmetre els dos individus al mateix càstig, però un alimentat amb cidra i l'altre no. Com a resultat, el que havia menjat cidra prèviament, va sobreviure davant el terrorífic ésser, a diferència del seu company.

Així doncs, sembla que atorgaren poders a la fruita.

Per altra banda, a Grècia també era un fruit molt apreciat. En la mitologia grega, es deia que al Jardí de les Hespèrides, hi havia un arbre de les pomes d'or. Aquest, que produïa la fruita de la immortalitat, va ser custodiat per Ladó, un ésser mescla de serp i drac. Així doncs, el rei de Micenes (Euristeu), va manar a Hèrcules que fes 12 feines, entre les quals va haver de combatre l'ésser protector del fruit de la immortalitat. Actualment, es creu que aquestes pomes d'or podrien fer referència a la llimona o bé als albercocs.

En la cuina mediterrània, tradicionalment es posen unes gotes de llimona al marisc, cosa que sembla afavorir l'eliminació dels possibles contaminants biològics.

D'una forma semblant a la farigola, també es creu que la llimona estimula la formació dels glòbuls blancs de la sang. Tot i això, també sembla beneficiós pel tractament d'halitosi, gingivitis, càries, infeccions de coll, refredats,

infeccions, etc. En l'últim cas, és possible que components com l'àcid cítric i/o el màlic li confereixin aquesta propietat.



Imatge 27. Llimona. Font: <http://www.makvajx.com/wp-content/uploads/2014/05/limon1.jpg>

#### **4.6 CEBA (*Allium cepa*)**



Imatge 28. Ceba. Font: [http://losefectos.com/wp-content/uploads/2014/08/Nota-2015-cebolla para bajar de peso.jpg](http://losefectos.com/wp-content/uploads/2014/08/Nota-2015-cebolla_para_bajar_de_peso.jpg)

La ceba és un dels vegetals més utilitzats arreu del món i molt coneguda al llarg dels temps. Tot i que actualment es creu que pot tenir moltes propietats, al llarg de la història no ha destacat per tal característica.

Egipcis, sumeris (un poble que va aparèixer 5 segles a.C. que sembla ser originari de Persia), babilonis, hebreus, grecs i romans en menjaven a grans quantitats.

A l'Antiga Egipte, de la mateixa manera que s'ha descobert que consumien all, també s'ha pogut fer amb la ceba. Els esclaus eren uns bons consumidors, i els faraons en feien ofrenes als Déus.

A Persia es considerava una planta màgica i sagrada. En aquest sentit, els atletes grecs en consumien en grans quantitats, tant a través de beuratges com untant-se el cos amb unguents del vegetal.

Anys més tard, la ceba va esdevenir un aliment imprescindible a l'Edat Mitjana, consumit per tot tipus de classes socials. A més, era usual trobar pocions fetes per bruixes amb l'objectiu de combatre les malalties de la època, especialment la pesta o el còlera.

En observar la composició química de la ceba veiem una abundància de sals minerals, oxidases, vitamines, glúcids, nitrogen i grassa. D'altra banda, l'oli de ceba sembla contenir alicina, una

molècula que, tal i com hem vist anteriorment, sembla presentar activitat antibacteriana. És per aquest fet, que trobem una gran similitud entre les olors dels dos bulbs.

Tanmateix, es creu que és efectiva contra la diarrea, protegeix els ossos, és laxant, presenta acció sobre el funcionament renal, és un calmant nerviós, presenta bones propietats pels diabètics, possiblement és un antibiòtic natural, flexibilitza les artèries, afavoreix la resistència contra el càncer, etc.

També sembla contenir l'oli altament volàtil de alicina, igual que l'all. Aquesta substància és la que causa irritació als ulls quan es talla.

# PRÀCTICA

---

*La part pràctica es divideix principalment en dos apartats: el disseny de la pràctica i la interpretació dels resultats. En aquest cas, totes les imatges de la part pràctica són de font pròpia, a no ser que s'indiqui el contrari.*

Tal i com s'ha dit anteriorment, l'experiment s'ha dut a terme amb l'objectiu d'estudiar el possible poder antibiòtic de diversos productes alimentaris.

## **5. DISSENY DE LA PRÀCTICA**

Per intentar aconseguir uns bons resultats, primer ha sigut necessari establir un control de variables.

### **5.1 CONTROL DE VARIABLES**

#### **Variable independent**

En aquesta pràctica hem vist necessari establir dos tipus de variables independents: els bacteris i les substàncies test. Les substàncies test les hem prèes com a variables independents, ja que es pretén estudiar les diverses reaccions en cada una d'elles. En aquest cas, l'ordre de les substàncies alhora de col·locar-les a les plaques de Petri ha sigut el següent:

1. Llavor d'albercoc
2. Canyella
3. Llimona
4. Farigola
5. All
6. Orenge
7. Ceba

Per altra banda, s'han considerat els bacteris com una variable independent. D'aquesta manera, ens permet fer un estudi de les diverses substàncies en dos espècies de bacteris bastant diferents. Tal i com s'ha vist en el marc teòric, l'estructura bacteriana influeix notablement en l'acció dels antibiòtics, per això, s'han escollit bacteris de diferent tipus: Gram positiu i Gram negatiu.

- Bacteris gram positiu: *Staphylococcus aureus*
- Bacteris gram negatiu: *Salmonella spp*

### Variable dependent

Per altra banda, com que l'estudi pretén observar l'efecte de diverses substàncies sobre uns bacteris, s'ha definit com a variable dependent la reacció dels diversos bacteris enfront cada una de les substàncies test.

### Controlades

En aquesta pràctica ha set necessari intentar controlar varies variables. En primer lloc, el medi de cultiu, és a dir, l'agar nutritiu. Si no s'hagués fet, podria ser que en canviar l'agar, aquest influís també, en el creixement dels bacteris i per tant, els resultats no serien fiables. Per altra banda, també s'ha controlat la temperatura i la pressió, al igual que el temps de les plaques dins l'estufa de cultiu. A més, s'ha intentat mantenir un medi bastant estèril per poder treballar bé amb els bacteris.

Seguidament, es va escollir el material necessari:

### 5.2 MATERIAL

- Agar nutritiu
- Aigua destil·lada
- Sal
- Bec de Bunsen
- Bastonets de cotó
- Estufa de cultiu
- Tubs tipus Eppendorf
  
- Alcohol
- Nansa de sembra (nansa de Kole)
- Plaques de Petri
- Autoclau



Imatge 29. Material



- Tubs d'assaig
- “Discos de paper de filtre”
- “Motrer i mà de morter”

A continuació, es va descriure el procediment a seguir.

### **5.3 PROCEDIMENT:**

*(Al ser un treball amb bacteris, les mostres es poden contaminar fàcilment, cosa que augmenta la probabilitat d'obtenir uns mals resultats. És important realitzar l'experiment amb estris i medis esterilitzats. Per això, si no es té una campana de flux laminar, és important netejar bé tot els estris amb sabó i alcohol, i les mostres (ceba, all, orenga, etc.) amb alcohol. Per altra banda, s'ha de procurar treballar sempre a prop d'una flama, per intentar aconseguir una zona de treball estèril.)*

#### 1. Preparació de les plaques de Petri amb el medi.

- Dissoldre l'agar nutritiu amb aigua destil.lada.
- Escalfar la solució per tal de dissoldre l' agar-agar. Retirar quan arribi a l'ebullició .
- Col.locar-hi un tap de cotó gras, cobrir amb paper d'alumini i esterilitzar a l'autoclau.



**imatge 30. Placa amb agar nutritiu**

- Abocar el medi a les plaques de Petri prop d'una flama.
- Deixar les plaques de Petri en un ambient fred fins que l'agar-agar es gelifiqui.
- Guardar a 4°C fins la seva utilització

#### 2. Per altra banda, es fa una preparació de les substàncies test.

- Agafar una mostra de cada substància.

## *Estudi de l'efecte antibiòtic en productes alimentaris*

- Esmicolar-la amb l'ajuda del morter i la mà de morter (totes per separat).
- Abocar-hi dues gotes d'aigua i alcohol, per assegurar la dilució de tot tipus de molècules i també per matar la flora microbiana que pugui haver a les mostres.
- Sucar dos discs de paper de filtre en cada substància.
- Amb l'ajuda d'unes pinces, extreure els discs i col·locar-los en tubs d'Eppendorf.



Imatge 32. Preparació mostres substàncies test.



Imatge 31. Mostres de les substàncies test.

- Guardar a 4°C fins la seva utilització
3. Preparació de la solució Ringer (solució necessària per poder fer el cultiu. Els bacteris es mesclen amb ella):

- ❖ Pesar 9g de NaCl i col·locar-los dins d'un Erlenmeyer.
- ❖ Afegir un litre d'aigua i ho posem a escalfar fins que bulli.
- ❖ Deixar bullir la solució durant 5min. i ho tapem amb un tap estèril.



Imatge 33. Dilució Ringer.

4. Preparació de les plaques per l'antibiograma:

- Dins de dos tubs Eppendorf, abocar-hi 1mL de solució de Ringer.

## Estudi de l'efecte antibiòtic en productes alimentaris

- Amb una nansa de sembra agafem una mostra de bacteris i la posem en un dels tubs anteriors. Llavors, fem el mateix amb l'altre tipus de bacteris.
- Fer un cultiu en gespa, mitjançant els bastonets de cotó, de les colònies candidates de bacteris (*Staphylococcus aureus* i *Salmonella spp*). En aquest cas, es preparen 4 plaques de petri, tres per cada mostra de bacteri.
- Dividir, cada placa en quatre parts i enumerar-les amb un permanent, amb números de 1-7, de la següent manera:



Imatge 34. Plaques de Petri amb els discs de les substàncies test numerats.

- Col·locar els discs d'antibiòtics amb l'ajuda d'unes pinces, un en cada zona, tot seguint el mateix ordre en les plaques en els diferents bacteris.
- Tapar les plaques de petri i deixar-les en una estufa de cultiu a 37<sup>o</sup> durant 48 h.
- Observació dels resultats.



Imatge 35. Estufa de cultiu amb els antibiogrames.

## 6. RESULTATS I INTERPRETACIÓ

### 6.1 *Salmonella* spp

En la primera imatge dels resultats, amb un simple cop d'ull podem captar la presència d'halos d'inhibició.

Primerament, ens fixem que es tracta d'una placa amb cultiu de *Salmonella* spp.

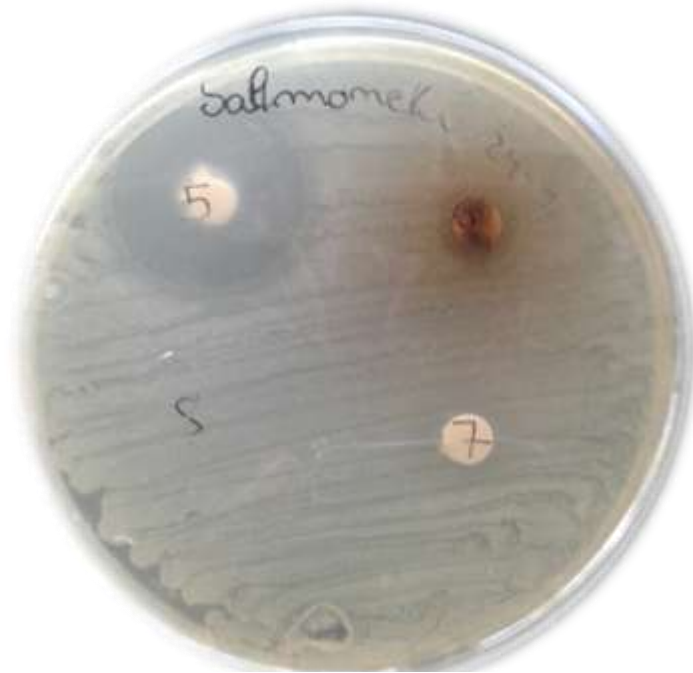


Substància 1 (llavor d'albercoc): A l'observar la [Imatge 36. Placa 1](#) primera substància test (el pinyol d'albercoc), podem veure que la zona que envolta el disc de la mostra sembla ser més clara que la resta.

Substància 2 (canyella) : En aquest altre cas, podem veure el disc tenyit del color característic de la canyella, però alhora, també el seu voltant. Sembla que la substància hagi sigut capaç de difondre a través de l'agar. Segurament, si la substància test es tractés d'una molècula amb un nivell d'activitat antibiòtica bastant elevat enfront el bacteri, es podria apreciar una coincidència entre l'halo d'inhibició i el de difusió. Tot i això, en aquesta imatge costa d'apreciar, però en els resultats es podia entreveure una petita àrea d'inhibició.

Substància 3 (llimona): La zona pròxima a la mostra de la substància tres, sembla que hi ha una mena de turbulències que recorden als jocs que sovint fa l'aigua. En aquest cas, potser que, al tractar-se d'una mostra de llimona, una fruita bastant sucosa, incidís una gota del suc a l'agar. No obstant això, podem veure zones més clares, que semblen marcar un límit entre la zona colonitzada per bacteris d'una més aviat estèril, però no d'una forma circular tal i com podem veure en altres substàncies.

Substància 4 (farigola): En aquest darrer cas, observem un efecte semblant al de la canyella: la substància sembla haver difós per l'agar (segurament igual que la resta), però al presentar pigments de colors, es veu un color degradat al voltant de la mostra. Tanmateix, la zona més propera al disc, es pot apreciar un clar halo d'inhibició, on sembla que els bacteris no han pogut sobreviure.



Imatge 37. Placa 2

A l'analitzar la segona placa de *Salmonella spp*, veiem que principalment la substància test número cinc destaca sobre les altres presentant un gran halo d'inhibició.

Substància 5 (all): Tal i com hem comentat anteriorment, en aquesta substància (l'all concretament), podem veure un gran halo d'inhibició, dins del qual sembla que no ha pogut sobreviure cap colònia de *Salmonella spp*. Tot i que sembla un halo molt ben delimitat, en la perifèria d'aquest, podem captar la presència de colònies del bacteri més properes al centre que d'altres. Així doncs, podríem pensar que les més properes al centre són les més resistents, ja que teòricament quant més a la perifèria del disc, menys concentració hauria de presentar la mostra d'all respecte l'agar nutritiu.

Substància 6 (orenga): en aquest cas, en l'orenga, també veiem que al presentar pigments d'un color marró, aquests els podem apreciar també, al difondre per l'agar. Però per altra banda, al centrar-nos en la zona pròxima al disc, podem apreciar un halo de radi menor a la mostra anterior, però representatiu.

Substància 7 (ceba): Finalment, en fixar-nos amb la última substància de la placa, la ceba, a simple vista sembla que la substància no ha influït en el creixement del bacteri. Però contràriament, al prestar-hi més atenció, podem apreciar la presència d'un halo poc definit al seu voltant. Sembla que en lloc d'impedir el creixement dels bacteris en aquesta zona, tant sols n'ha disminuït la concentració, ja que al seu voltant podem distingir diverses marques de la sembra.

## 6.2 *Staphylococcus aureus*

En aquest altre cas, ens trobem davant d'una imatge d'un antibiograma fet amb una mostra de *Staphylococcus aureus*.

Substància 1 (llavor d'albercoc): A diferència de la placa de *Salmonella spp a*, en aquest cas veiem que el primer disc no causa cap alteració en la uniformitat de la sembra pròxima a la seva zona.

Substància 2 (canyella): En aquest cas, també podem apreciar que la zona de l'agar pròxima al pigment presenta pigments marrons de [Imatge 38. Placa 3](#) la substància test. Però contràriament, a part de l'aspecte anterior, tampoc es pot distingir cap halo d'inhibició.

Substància 3 (llimona): En la tercera substància, a diferència de les dues mostres anteriors, podem captar un clar halo d'inhibició al seu voltant. Tot i això, no defineix una clara circumferència, sinó que sembla ser bastant irregular. En recordar la mateixa substància, la llimona, en l'antibiograma de *Salmonella spp*, també ens fixem en la irregularitat de l'halo, de la mateixa manera que podem captar les turbulències que sembla presentar el cultiu de *Salmonella spp* en la zona propera al disc però aliena a l'halo.

Substància 4 (farigola): En el darrer cas, observem que a la banda dreta del disc impregnat amb la mostra, hi ha una pertorbació que no podem identificar en altres casos d'aquests resultats. No obstant això, sembla que al voltant del disc hi ha dues petites porcions de l'herba que probablement quedaren unides al disc al sucra-los amb la substància esmicolada. Però per altra banda, al voltant d'un d'aquests trossos, es pot distingir una zona blanquinosa. En aquest cas, sembla tractar-se d'una porció contaminada per algun altre bacteri. Això ho podem suposar en observar que la zona blanca es troba molt concentrada al voltant de la mostra i que a més, no presenta filaments, cosa que segurament indicaria que es tracta d'un fong.

Per altra banda, també podem apreciar la difusió de la substància a través de l'agar, però alhora, veiem una zona molt pròxima al disc on es veu amb més claredat el color fosc del pigment de la mostra i que a més, sembla que el nivell de colònies allà és baix. D'aquesta manera, podem identificar-lo com un halo d'inhibició.





Imatge 39. Placa 4

La darrera placa també veiem que es tracta d'un cultiu de *Staphylococcus aureus*, com una continuació de l'anàlisi de les substàncies test respecte a la imatge anterior. En aquest cas, sembla que la sembra del bacteri presenta certes imperfeccions, ja que podem observar zones on no hi ha la presència de colònies i per tant, es veuen zones clares i llises i d'altres on podem identificar les passades que es van fer amb els bastons de cotó.

Substància 5 (all): En aquesta substància, veiem que al seu voltant sembla haver-hi un gran halo d'inhibició de dimensions semblants al que hem pogut veure en *Salmonella spp* amb la mateixa substància test. Contràriament, en l'altre cas l'halo sembla presentar-se amb més claredat. En aquest cas, el límit de l'halo és més difús.

Substància 6 (orenga): Al voltant de la sisena substància, tal i com hem vist en altres casos, també veiem una zona de l'agar més marronosa al seu voltant. Per altra banda, tot i que en aquesta imatge no es pot apreciar amb claredat, en l'antibiograma es podia observar un halo d'inhibició, però poc definit.

Substància 7 (ceba): Per acabar, podem veure amb claredat que la última substància no afecta en el creixement de bacteris.

Per una millora de l'anàlisi de les substàncies, amb un retolador permanent es van encerclar els diversos halos d'inhibició.

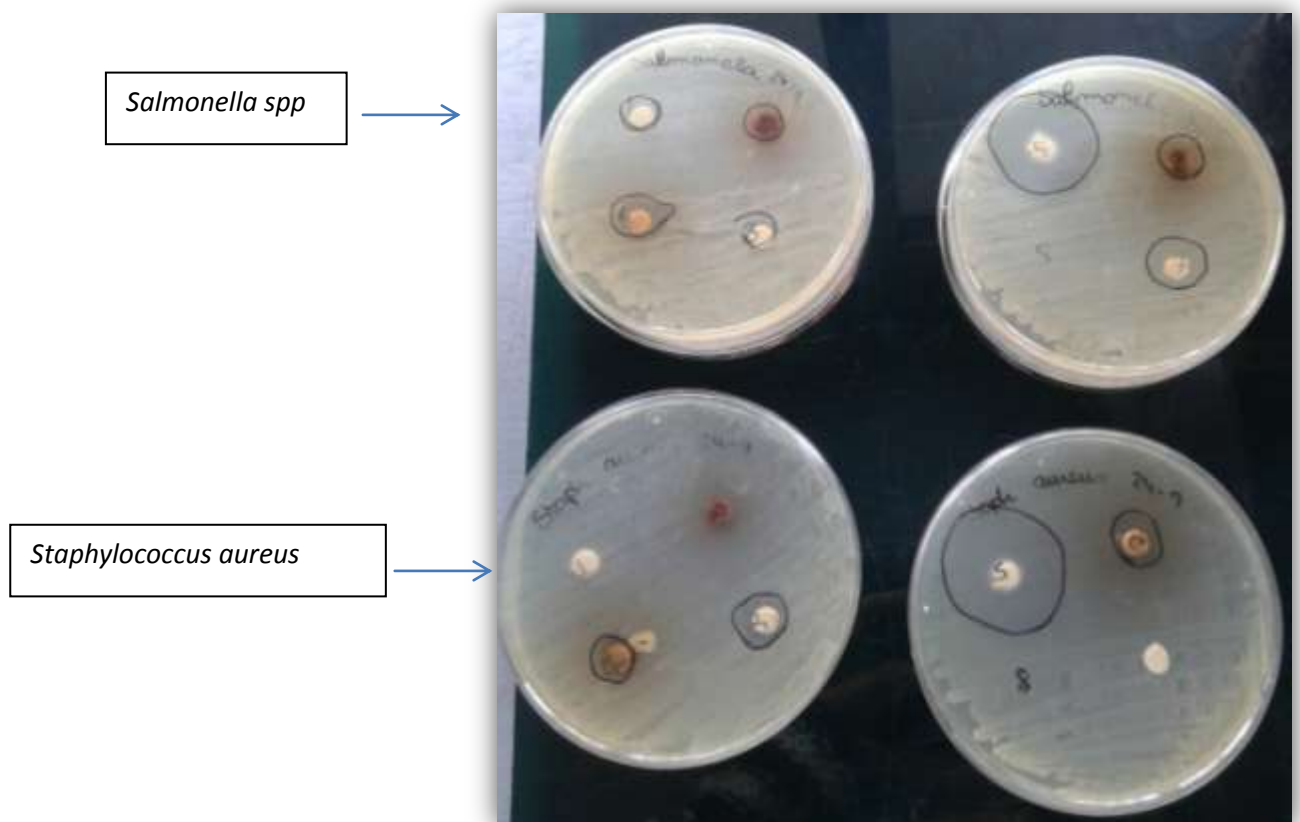


## Estudi de l'efecte antibiòtic en productes alimentaris

En aquesta imatge més general dels resultats, s'observen clares diferències entre els antibiogrames realitzats amb diferents mostres de bacteris.

En la primera, la de *Salmonella spp*, es veu que cada una de les substàncies afecta al creixement dels bacteris en diversos graus.

Per altra banda, en el cas de les mostres amb *Staphylococcus aureus*, només quatre de les set substàncies semblen interferir en el creixement dels bacteris.



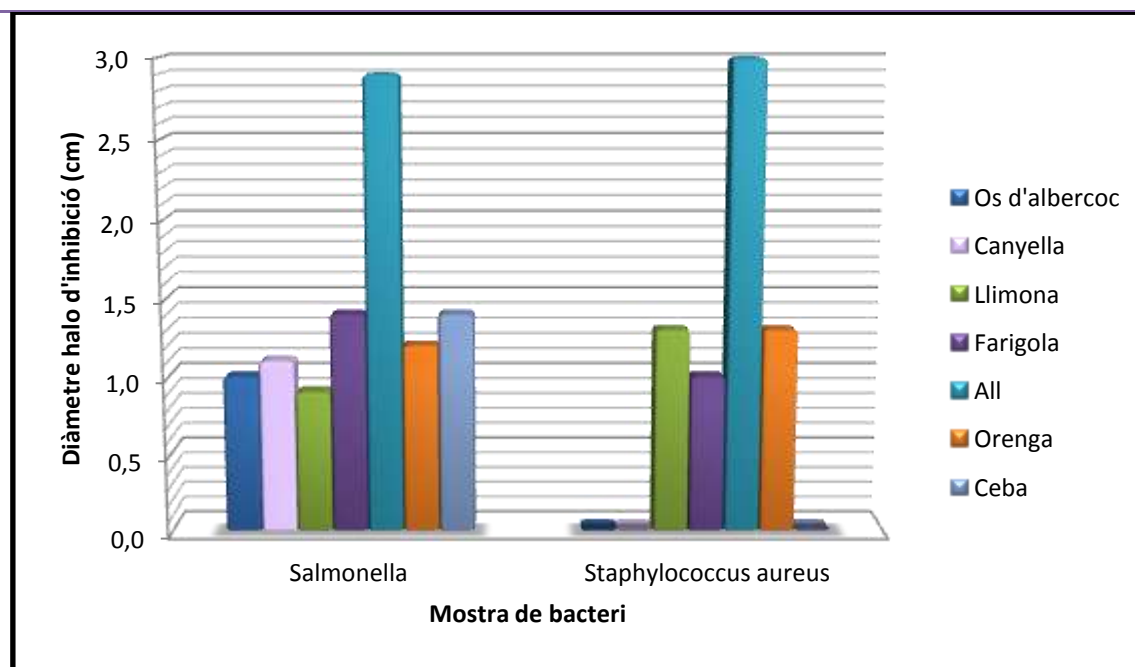
Imatge 40. Imatge general dels resultats

Per altra banda, la millora de la interpretació dels resultats també es va intentar afavorir creant una taula amb el diàmetre dels diversos halos d'inhibició i alhora un gràfic.



Taula 3 \*Cal matisar que el diàmetre del disc de paper de filtre era de 0,6cm; diàmetre inclòs a les dades presentades anteriorment que presenten halo d'inhibició.

| HALOS D'INHIBICIÓ (cm) |                   |                              |
|------------------------|-------------------|------------------------------|
| SUBSTÀNCIA TEST        | <i>Salmonella</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 1. Os d'albercoc       | 1,0               | 0,0                          |
| 2. Canyella            | 1,1               | 0,0                          |
| 3. Llimona             | 0,9               | 1,3                          |
| 4. Farigola            | 1,4               | 1,0                          |
| 5. All                 | 2,9               | 3,0                          |
| 6. Orenga              | 1,2               | 1,3                          |
| 7. Ceba                | 1,4               | 0,0                          |



Gràfic 2: Diàmetre de l'halo d'inhibició comparant les diverses substàncies i bacteris

Gràcies a aquest gràfic, es poden apreciar amb gran claredat els resultats, tal i com es pretenia.

En primer lloc, veiem que tant en un bacteri com en l'altre, destaca l'activitat antibacteriana d'una de les substàncies: l'all. El diàmetre de l'halo d'inhibició d'aquesta substància sembla superar la duplicació del diàmetre de la resta de productes.

En segon lloc, sembla que en ambdós casos també hi ha una igualtat entre dues substàncies. En el primer cas, veiem que la ceba i la farigola presenten un halo d'inhibició de 1,4 cm de

diàmetre; mentre que en el cas de *Staphylococcus aureus*, s'observa que l'orenga i la llimona són les substàncies amb més poder antibacterià després de l'all, amb un diàmetre de 1,3 cm.

Tot seguit, veiem que en el cas de la *Salmonella spp*, l'orenga prossegueix la llista d'aquest tipus de substàncies amb un diàmetre de 1,2 cm. Contràriament, en l'altra mostra la farigola és qui presenta un halo de 1,0 cm.

Per altra banda, també es pot apreciar una clara diferència entre l'efecte que té la llimona, ja que mentre actua enfront de *Staphylococcus*, sembla ser el menys actiu en *Salmonella spp*, tot i també presentar certa activitat.

Finalment, podem apreciar una gran diferència en l'actuació de la ceba com a substància antibiòtica en les dues mostres de bacteris. En la de *Salmonella spp*, es veu que és una de les que sembla presentar un halo d'inhibició més gran. Però en *Staphylococcus aureus*, no veiem que presenti activitat. Una cosa semblant també podem observar que succeeix amb el cas de la llavor d'albercoc i la canyella, que no presenten activitat antibiòtica en *Staphylococcus aureus* però sí en *Salmonella spp*.

## CONCLUSIONS

---

## **Conclusions de la part pràctica**

Davant la qüestió que ha guiat aquesta investigació: “poden, els aliments com per exemple la llavor d'albercoc, la llimona, l'all, la ceba, la farigola i l'orenga, presentar efectes antibiòtics davant de bacteris Gram positius i/o negatius com *Staphylococcus aureus* i *Salmonella spp?*” a partir de l'anàlisi dels antibiogrames presentats anteriorment, juntament amb una taula i un gràfic que han facilitat la comprensió dels resultats; s'ha pogut comprovar un cert efecte antibacterià de la majoria de les substàncies.

En les diverses plaques s'han pogut observar halos d'inhibició produïts per algunes de les substàncies, cosa que sembla afirmar que els productes alimentaris testats presenten activitat antibacteriana envers les mostres de bacteris de *Staphylococcus aureus* i *Salmonella spp*. Tot i això, també s'han vist alguns casos on les substàncies no han demostrat tenir l'efecte esperat. A més, s'han comprovat diferències en l'activitat de les diverses substàncies en canviar de bacteris.

En els antibiogrames fets amb cultius de *Salmonella spp*, es pot apreciar un halo d'inhibició provocat per totes les substàncies, a diferència de les plaques amb *Staphylococcus aureus*, on només es percep l'activitat de quatre d'elles. D'una forma general, sembla que *Staphylococcus aureus* presenta més resistència a les substàncies test, que no ho fa *Salmonella spp*, que sembla més sensible. D'aquesta forma, sembla que es pot intuir una comprovació d'un aspecte presentat en el marc teòric del treball: la resistivitat de *Staphylococcus aureus*.

Però, en ambdós casos, cal destacar l'activitat antimicrobiana que presenta l'all davant els dos bacteris, tant en el Gram positiu com en el negatiu. El diàmetre de l'halo d'inhibició en els dos casos és d'uns tres centímetres aproximadament, valor superior al doble del diàmetre de la resta de productes alimentaris testats.

Una altra qüestió interessant ha sigut poder fer una comparació de l'activitat d'una sola substància en dos bacteris diferents. Un cas clar el podem veure en la ceba, la qual no presenta cap mena d'activitat en *Staphylococcus aureus*, però és una de les més actives en *Salmonella*. Per altra banda, també trobem casos inversos, com el de la llimona. Davant del bacteri Gram positiu, observem que el seu poder antibacterià és bastant destacable comparant-lo amb la resta de substàncies, però en *Salmonella spp*, és la que sembla presentar menys activitat.

Per tant, d'una forma general hem pogut comprovar que els diversos mites i tractaments tradicionals amb els productes naturals estudiats, sembla ser fiable; almenys, ho hem pogut comprovar en el cas plantejat.

D'aquesta forma, podríem pensar que alguns d'aquests productes naturals podrien ser la base de molts antibiòtics, fins i tot podríem creure en un augment de l'efectivitat del poder antibiòtic en combinar diverses substàncies testades, tal i com sovint es feia en la medicina tradicional. Malauradament, a causa de diversos imprevistos, no s'ha pogut fer un estudi de les possibles sinèrgies en combinar les substàncies; és a dir, intentar estudiar un possible augment de l'activitat antimicrobiana en unir diverses de les substàncies. Però, a tot això caldria afegir-hi el fet de què no s'ha estudiat si les substàncies en grans quantitats podrien tenir efectes perjudicials per la nostra salut; és a dir, ser tòxiques per les nostres cèl·lules, o bé causar altres tipus de danys al nostre cos. Tot i això, un estudi més aprofundit sobre aquest tipus de productes naturals crec que podria ser molt interessant en la medicina actual. Al ser productes que consumim habitualment, trobem que hi ha un contacte freqüent amb diverses espècies bacterianes (tant patògenes com no), i per tant, les probabilitats de resistència de bacteris davant dels productes podria ser alta. Però, aquest fet cal afegir-hi que la resistència a productes alimentaris podria ser menys preocupant que no la resistència a altres molècules amb poder antibiòtic més actives, ja que tot i no estar en tractament, exposem les substàncies als diversos bacteris. D'altra banda, sembla que evitant l'abús dels antibiòtics més actius, evitaríem la selecció dels bacteris més resistents.

En aquest cas, tot i que s'han obtingut resultats mitjanament bons, no s'ha pogut fer l'estudi del mètode d'acció exacte de les molècules amb possible poder antibiòtic ni s'han pogut identificar a causa de la manca de l'instrumental necessari per aquest estudi. Tot i això, per a una pròxima pràctica, seria interessant poder, tant sols, identificar quin tipus de substància es tracta, és a dir, si les molècules amb efectes antimicrobians són: glúcids, lípids, proteïnes, etc. Aquesta pràctica es podria dur a un laboratori escolar amb facilitat, a través d'una cromatografia i realitzant diverses proves com per exemple: la del Sudan, de Fehling, biuret, etc.

Un altre punt interessant a analitzar és la qualitat dels resultats de la pràctica. Per una bona obtenció de resultats, es va haver de repetir l'experiment tres vegades. En el primer cas, els antibiogrames van quedar contaminats i per altra banda, semblava que la concentració de les diverses substàncies test era insuficient, ja que la distinció dels halos d'inhibició era molt difícil.

En una segona pràctica, es va intentar augmentar la concentració de les diverses substàncies, tot fent pouets dins l'agar i intentant col·locar-hi les mostres a l'interior. Tot i això, les pipetes utilitzades no eren prou precises i per tant, algunes de les substàncies van escampar-se per sobre l'agar. Tot i que els resultats no van quedar contaminats, els resultats no es van considerar suficientment vàlids, a causa de la difusió superficial de les substàncies.

Finalment, es va poder realitzar la prova correctament, amb un grau de contaminació molt baix (tot i no ser nul) i a més, gràcies a uns discos de paper de filtre més gruixuts, sembla que les substàncies van penetrar més en ells i per tant, la concentració semblava més elevada que en els altres casos. Així mateix, s'ha pogut fer un estudi bastant correcte dels resultats. Per altra banda, també cal comentar que aquest tipus de treball, al tractar directament amb productes naturals i no amb molècules aïllades, la concentració en els diversos discos era molt difícil, semblant impossible al treballar en el laboratori de l'institut. No obstant això, es va intentar seguir una relació semblant entre el pes del producte natural amb la dissolució d'alcohol i aigua.

Aquestes experiències al laboratori, tot i que al moment no semblaven ser satisfactòries, m'han ajudat rumiar varietats del mètode inicial per corregir els errors que es van poder cometre. D'aquesta forma, sembla que l'experiència ha sigut molt beneficiosa perquè m'ha proporcionat una millora en les habilitats i destreses al laboratori i sobretot, en microbiologia. A part de les dificultats presentades anteriorment, també cal afegir la deterioració de les plaques que vam obtenir amb les mostres de bacteris. Davant d'aquest fet, va ser necessari fer una ressembrança dels bacteris de forma estriada. Però les diverses dificultats que s'han presentat, m'han ajudat a adonar-me de les dificultats que es troben en treballar amb bacteris, ja que no ho havia fet prèviament.

## **Conclusions del marc teòric**

En quant al treball en general, ha ajudat a adquirir una sèrie de coneixements importants en la biomedicina i microbiologia, que han permès la realització de la part pràctica i a comprendre el tema tractat en la pràctica: el poder antibiòtic.

D'aquesta forma, també s'ha parlat d'una forma general dels bacteris: la seva ultraestructura, per tal de conèixer els éssers que es volen combatre i els punts pels quals se'ls intenta afeblir: síntesi de l'àcid fòlic, de la paret cel·lular, la síntesi d'ADN i ARN, la síntesi de proteïnes i la membrana cel·lular; els quals són imprescindibles per la supervivència de les cèl·lules

bacterianes. També s'ha cercat i exposat informació sobre els bacteris patògens, i d'una forma més concreta sobre *Staphylococcus aureus* i *Salmonella spp*, per tal de conèixer millor els bacteris a tractar en la part pràctica, però alhora per aprofundir més en el coneixement d'aquests microorganismes.

Seguint aquesta intenció, també s'han tractat els enzims d'una forma relacionada amb els antibiòtics, per facilitar la comprensió de l'activitat d'aquests medicaments. Per exemple, s'ha observat que l'alcohol (un antisèptic que actua sobre la membrana cel.lular) actua com un inhibidor inespecífic, i les sulfonamides, com a inhibidors competitiu.

Per altra banda, també s'ha fet un estudi sobre les substàncies test utilitzades en aquest treball. Aquest fet ens ha permès conèixer la història de les diverses substàncies i com han sigut tractades al llarg de la història, és a dir, les propietats que se'ls hi ha atribuït. Finalment, s'ha cercat informació sobre aquestes en l'actualitat, i s'han observat diverses molècules que podrien ser les que confereixen l'efecte antibiòtic d'aquests productes alimentaris, tal i com s'ha comprovat en la part pràctica. Tot i això, ja s'ha dit que no ha sigut possible la comprovació de l'existència d'aquestes molècules en les mostres. Però per altra banda, prestant atenció al marc teòric, s'hi troben tres substàncies que suposadament tenen poder antibiòtic, amb grups alcoholics en les molècules: el timol, carvacrol i l'eugenol. Aquest fet ens pot fer pensar que l'actuació d'aquestes molècules és semblant a la de l'alcohol, i que per tant, actuen en la membrana cel.lular com a inhibidors inespecífics. Conseqüentment, la seva inespecificitat, el fet de què actuen sobre la membrana cel.lular (una estructura de composició molt semblant en cèl.lules bacterianes i eucariotes) podria suposar un nivell bastant alt de toxicitat per les cèl.lules animals, les eucariotes. No obstant això, no hem pogut comprovar aquesta suposició en la pràctica.

Deixant de banda aquestes tres substàncies, també hem trobat altres molècules amb estructures variades en les substàncies test, tals com: l'alicina o els àcids de la llimona. En aquests casos, sembla que intuir la seva actuació és més arriscat i difícil.

Tal i com també s'ha presentat en la part pràctica, hi ha hagut diversos elements que han intervingut en la realització del marc teòric de l'estudi. En aquest cas, el canvi d'institut ha influenciat en un grau molt elevat. En l'institut on es va començar el treball, aquest presentava 4.000 paraules com a màxima extensió del treball i a més, era aconsellable escriure'l en castellà o anglès, pel fet de què s'estava cursant un Batxillerat Internacional. Conseqüentment, es va decidir reservar un màxim de 2.000 paraules pel marc teòric. Al canviar de centre, aquesta xifra s'ha vist completament alterada, ja que el treball presentat era molt concentrat.

D'aquesta forma, s'ha disposat d'un temps relativament curt per la cerca d'informació més aprofundida i la redacció del treball.

Aquest fet, juntament amb els imprevistos observats en la part pràctica, tot i que s'han complert els objectius plantejats en la introducció, no s'ha complert amb la idea que es tenia de treball final i el resultat no ha sigut del tot satisfactori. No obstant això, s'han dedicat moltes hores per realitzar tot el treball, tant cercant informació, comprenent-la i redactant-la, com pensant la idea del treball, els temes a tractar en ell, el plantejament de la pràctica i la realització d'aquesta, entre d'altres coses.

Deixant de banda aquest punt, el treball de recerca en general, m'ha donat l'oportunitat d'endinsar-me dins de l'ampli món dels bacteris i la medicina. He pogut conèixer amb profunditat el mètode d'acció de bastants antibiòtics, els mecanismes i factors de virulència dels bacteris, tècniques del laboratori de microbiologia, l'activitat antibacteriana de diversos productes naturals, etc. Però alhora, m'ha proporcionat coneixement sobre com fer una memòria bastant completa d'una investigació científica i satisfacció pels resultats obtinguts en la última pràctica realitzada.



# GLOSSARI

---

**Àcids teicoics:** Són polímers de glicerina que formen part de la paret cel·lular dels bacteris.

**Agar-agar nutritiu (agar nutritiu):** Medi de cultiu utilitzat habitualment per una gran varietat de bacteris. En ell, generalment tots els bacteris hi creixen sense problemes.

**Bacteris fotosintètics:** Bacteris que realitzen un procés en el qual substàncies inorgàniques es transformen en nutrients aprofitant l'energia solar.

**Bicapa lipídica:** Membrana formada per dues capes de lípids.

**Bicatanari:** Presenta dues cadenes.

**Biocapa:** Situació en què un gran nombre de microorganismes s'adhereixen a un teixit, tot formant part de la matriu extracel·lular (materials que formen part del teixit), i que comporta un canvi en el metabolisme dels microorganismes, en aquest cas, microbià.

**Bipartició:** forma de reproducció asexual. Consisteix en fer una duplicació i divisió de l'ADN seguida d'una partició citoplasmàtica.

**Cèl·lula eucariota:** És un tipus de cèl·lula més complexa que les procariotes. El seu ADN es troba dins d'una membrana nuclear, presenta una divisió cel·lular més complexa i normalment també més orgànuls que les procariotes.

**Centre actiu enzimàtic:** Zona en la qual s'uneix l'enzim amb la molècula o molècules substrat perquè es dugui a terme una reacció.

**Codó- anticodó:** Tant el codó com l'anticodó són un conjunt de tres bases nitrogenades (part dels nucleòtids que formen l'ADN). Un codó es complementa amb un determinat anticodó gràcies a una relació de bases nitrogenades: citosina- guanina; adenina- timina o uracil. A través d'aquest mecanisme, és possible la síntesi de proteïnes.

**Congestió:** Acumulació de sang en excés en una determinada part del cos.

**Cristall Violeta:** és un grup de compostos químics utilitzats habitualment com a colorants i indicadors de pH. En el cas de la prova Gram, també s'anomena violeta genciana.

**Diürètic:** Substància que provoca la eliminació d'aigua i substàncies amb ions lliures, a través de l'orina o diarrea.

**Embalsament:** Tècnica utilitzada per preservar els cadàvers d'una forma íntegra, molt comú en l'Antic Egipte.

**Encefalitis:** Malalties que provoquen una inflamació de l'encèfal.

**Enllaç covalent:** Enllaç que s'estableix entre molècules o àtoms no metàl·lics, a través del qual comparteixen electrons.

**Epiteli:** Teixit que recobreix les superfícies internes i externes del cos d'un individu.

**Estèril:** Element lliure de microorganismes vius.

**Fagocitosi:** Procés pel qual organismes unicel·lulars capturen i digereixen partícules del medi.

**Fong:** Organismes de cèl·lules eucariotes amb parets cel·lulars de quitina.

**Helicasa:** Enzim que actua en la duplicació de l'ADN separant les dues cadenes.

**Insuficiència renal:** Problema causat pel mal funcionament dels ronyons, els quals no són capaços de filtrar adequadament les toxines i altres substàncies de la sang.

**Jeroglífics:** Sistema d'escriptura de l'Antic Egipte.

**Laxant:** Substàncies que provoquen la defecació.

**Lipopolisacàrids:** Són les endotoxines. La seva estructura és de polímer i bastant complexa.

**Lisi:** És un procés de ruptura de la membrana cel·lular i paret cel·lular, causada per desequilibris cel·lulars, i que per tant, provoca la mort de la cèl·lula.

**Locomoció:** Acte de moure's.

**Meningitis:** Malaltia que causa la inflamació de les membranes que recobreixen el cervell i la medulla espinal.

**Molècula substrat:** Molècula sobre la qual o quals actua un determinat enzim.

**Monoterpens:** Components volàtils que formen part dels olis essencials de herbes i espècies.

**N-acetilglucosamina:** És un derivat d'un derivat de la glucosa, que forma part de la composició de les parets bacterianes.

**N-acetilmuràmic:** Monosacàrid composta per N-acetilglucosamina unida per un enllaç èter amb àcid làctic.

**Paràsit:** Ésser que necessita d'un altre organisme de diferent espècie per alimentar-se.

**Patogen:** Dit d'un organisme o element que causa una malaltia, generalment a l'ésser humà.

**Polímer:** Macromolècula composta per molècules més petites.

**Sistema limfàtic:** Sistema constituït per vasos limfàtics, els quals són cecs i s'encarreguen de recollir el líquid intersticial i reconduir-lo al sistema sanguini.

**Sistema venós:** Sistema constituït per vasos sanguinis, els quals transporten la sang pel cos.

**Safarina:** colorant utilitzat en la Tinció Gram per destacar el color violeta dels bacteris Gram positius i tenyir d'un color rosa-vermellós els Gram negatius.

**Toxina:** Substància tòxica, és a dir, venenosa.

**Trombòcits:** Plaquetes.

**Vancomicina:** Antibiòtic usat habitualment contra *Streptococcus aureus*. És un glicopèptid sintetitzat per *Nocardia orientalis*, que actua sobre la paret bacteriana.

**Virus bacteriòfags:** Virus que infecten, només, a cèl.lules bacterianes.

# BIBLIOGRAFIA

---

## LLIBRES

ALLOTT Andrew. *Biologia pel diploma del BI*. Oxford University Press. Glasgow, 2012.

BELL Chris et al. *Salmonella: Una aproximació pràctica a l'organisme i al seu control en menjar*. Blackwell Science. 2002

HAMMOND Stephen M. LAMBERT Peter A. *Antibiòtics i acció antimicrobiana*. Edicions Omega. Barcelona, 1980.

MANN John et al. *Bacteris i agents antimicrobians*. Spektrum. Oxford, 1997.

MUJICA Xavier. *All, ceba, mel i llimona*. Edicions Lea. Espanya, 2008.

PAHISSA Albert. *Infeccions produïdes per Staphylococcus aureus*. Marge Medica Books. Barcelona, 2009.

VOLLHARDT K. Peter C. *Química orgànica*. Edicions Omega. Barcelona, 1992.

WASSENAAR Trudy M. *Bacteris: el principi, el malvat, i la preciositat*. Wiley-Blackwell. New Jersey, 2012.

## PÀGINES WEB<sup>1</sup>

ANDERSEN, Paul. *Enzims* [video en línia]. 26 de novembre de 2011.

<<https://www.youtube.com/watch?v=ok9esggzN18>> [Consulta: 21 d'agost de 2014]

AXE, Josh. *Beneficis superiors de l'Oli d'Orenga per la Prescripció d'Antibiòtics* [en línia].

<<http://draxe.com/oregano-oil-benefits-superior-prescription-antibiotics/>> [Consulta: 11 de setembre de 2014].

---

<sup>1</sup> En tots els casos s'ha intentat omplir la màxima quantitat d'informació. No obstant això, no sempre ha set possible.

BRANCA, Charlotte. *Orenga* [en línia]. Dr. Christopher's. <[http://www.herballegacy.com/Branca\\_History.htm](http://www.herballegacy.com/Branca_History.htm)> [Consulta: 20 de setembre de 2014].

BUYNAK, John D. (Sense títol) [pdf]. SMU. 11 d'abril de 2004. <[http://faculty.smu.edu/jbuynak/medicinal\\_outline\\_11\\_4\\_04.pdf](http://faculty.smu.edu/jbuynak/medicinal_outline_11_4_04.pdf)> [Consulta: 10 de setembre de 2014].

FALKOWSKI, Juan C. *Quimioteràpics inhibidors del cicle de l'àcid fòlic* [pdf]. Càtedra de Química Medicinal, Facultat de Ciències Externes. Qcas. i Nat-UnaM. <<http://www.aulavirtual-exactas.dyndns.org/claroline/backends/download.php?url=L1VuaWRhZF82X2xuaGliaWRvcMvzX2VuemltYXRpY29zXzEucGRm&cidReset=true&cidReq=QUIMMED>> [Consulta: 10 de setembre de 2014].

GÒMEZ, Mónica. *Llavors d'Albercoc* [en línia]. Teràpia Clark. <<http://www.dietametabolica.es/semillasalbaricoque.htm>> [Consulta: 30 d'agost de 20014].

HALUPA LOLI, Lucía. *Lucia Canelita: Historia* [en línia]. 18 de juny de 2011. <<http://luciacanelita.blogspot.com.es/2011/06/historia.html>> [Consulta: 21 de juliol de 2014].

LÓPEZ LUENGO, M. Tránsito. *La farigola: Propietats farmacològiques i indicacions terapèutiques* [pdf]. Ofarm. 1 de Gener de 2006. <[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?f=10&pident\\_articulo=13083626&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v25n01a13083626pdf001.pdf&ty=74&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?f=10&pident_articulo=13083626&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v25n01a13083626pdf001.pdf&ty=74&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es)> [Consulta: 25 d'agost de 2014].

POMARES, Pascual. *L'Origen de l'"All-i-Oli"* [en línia]. 11 de Juny de 2012. <<http://www.gastronomistico.com/2012/06/origen-del-all-i-oli.html>> [Consulta: 11 d'agost de 2014].

Canyella. Fundació Espanyola de Nutrició [pdf]<<http://www.fen.org.es/mercadofen/pdfs/canela.pdf>> [Consulta: 5 de setembre de 2014].

*Cèl.lula bacteriana* [en línia]. Ministeri d'Educació, Govern d'Espanya.

<<http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/micro/contenidos4.htm>>

[Consulta: 20 de juny de 2014].

*Classificació antibiotic i mètodes d'acció* [en línia]. BioMérieux. Publicació: Març 2008.

<<http://www.biomerieux-usa.com/upload/VITEK-Bus-Module-1-Antibiotic-Classification-and-Modes-of-Action-1.pdf>> [Consulta: 8 de setembre de 2014].

*Inhibidors Enzimàtics* [en línia]. Sam Adam-Day. <<http://alevelnotes.com/Enzyme-Inhibitors/148>> [Consulta: 5 de setembre de 2014].

*Vitamina B9 (Àcid Fòlic)*. Comissió Acreditadora Americana de la Salut (URAC). 21 de juny de 2013. <<http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/vitamin-b9-folic-acid>> [Consulta: 24 de juny de 2014].

# ANNEXOS

---

## GALERIA D'IMATGES

<sup>1</sup>En aquest apartat, s'hi mostren imatges de diverses etapes del procediment de la part pràctica. Per altra banda, també s'hi inclouen imatges de les dues practiques fallides i la ressembrança en estria que es va haver de fer a causa d'uns desperfectes en les últimes mostres de bacteris.



Imatge 1. Mostres de les diverses substàncies test: llavor d'albercoc, all, ceba, llimona, farigola, orenga i canyella.



Imatge 3. Es pesa 1,5g de totes les substàncies, excepte l'orenga i la farigola, que al ser seques necessiten més volum d'aigua i alcohol per massa. En aquest cas s'agafa 0,5 g de les substàncies per 1,5 ml de cada dissolvent.



Imatge 2. Incorporació dels dissolvents a la mostra.

Imatge 4. Amb l'ajuda de la mà de morter s'intenta esmicolar les substàncies per tal d'aconseguir un líquid amb substàncies de la mostra dissoltes.



<sup>1</sup> Les imatges d'aquest apartat són totes de font pròpia, a no ser que es digui el contrari..



**Imatge 6.** Un cop ja s'ha posat una mostra de cada bacteri en 1 ml de dilució de Ringer, amb un bastonet de cotó s'escampa la mostra per tota la placa, intentant que quedi homogeni.



**Imatge 5.** S'agafen els discos sucats prèviament amb les substàncies test preparades.



**Imatge 7.** Amb l'ajuda d'unes pinces s'agafen els discs dels tubs d'Eppendorf i es col.loquen sobre els números dibuixats prèviament en les plaques de Petri amb agar nutritiu, tot seguint un ordre.

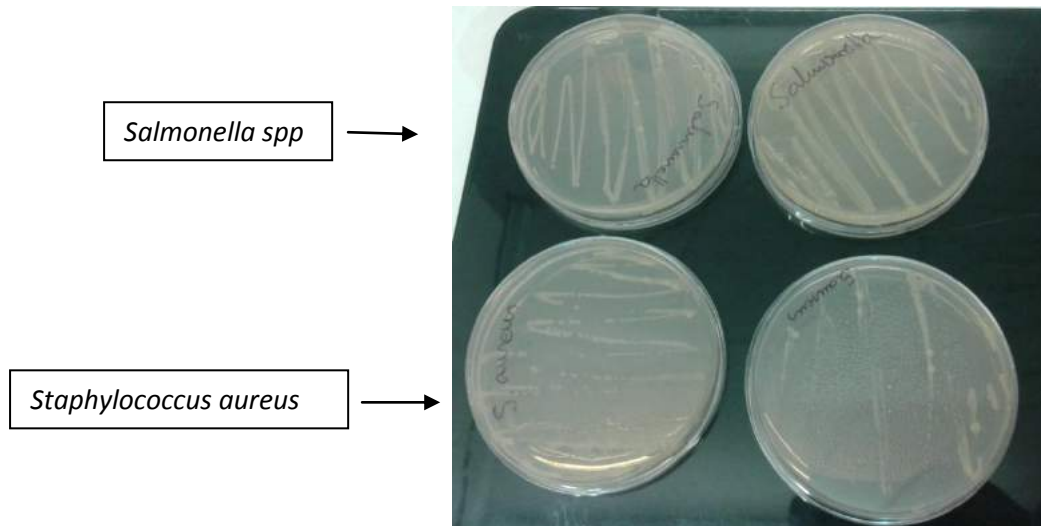


**Imatge 8.** Els antibiogrames ja preparats, a punt de posar a una estufa de cultiu.



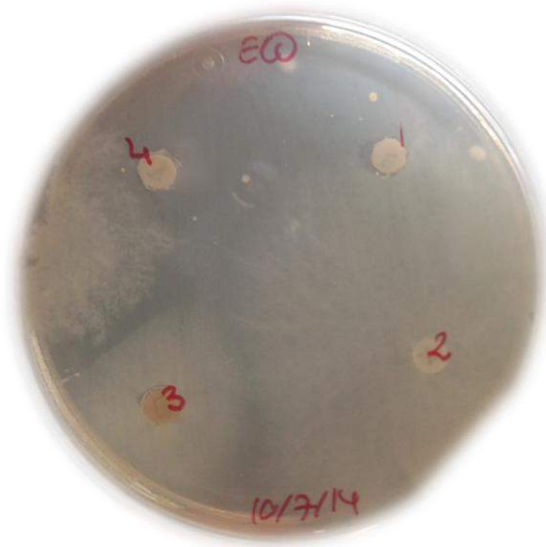
En aquest altre cas, es mostra una imatge dels cultius en estria obtinguts en una ressebra a causa de desperfectes en les plaques de Petri.

Per fer aquests cultius, es va agafar una nansa de sembra i es sucà a les plaques de Petri on teòricament hi havia bacteris. Llavors es va fer un cultiu movent la nansa de sembra d'un costat a l'altra de la placa, dibuixant estries.

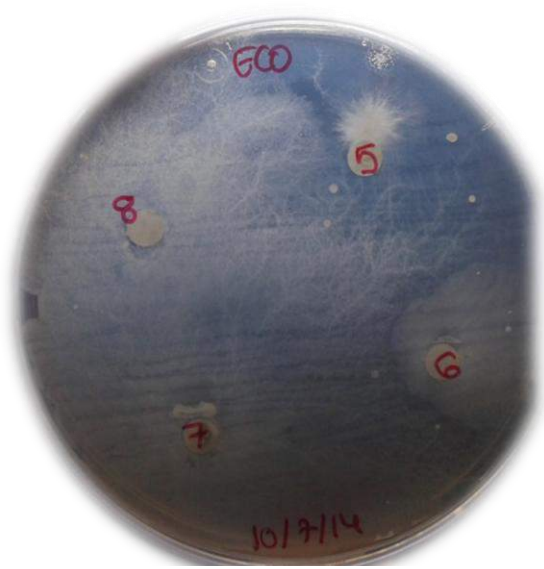


Imatge 9. Plaques de Petri amb la ressebra en forma d'estria de *Salmonella spp* i *Staphylococcus aureus*, on s'observen clarament les diverses colònies.

Finalment, es mostren els resultats de les diverses pràctiques. En la primera, les mostres bacterianes utilitzades varen ser *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*.



Imatge 10. Antibiograma d'*Escherichia coli*, placa 1.

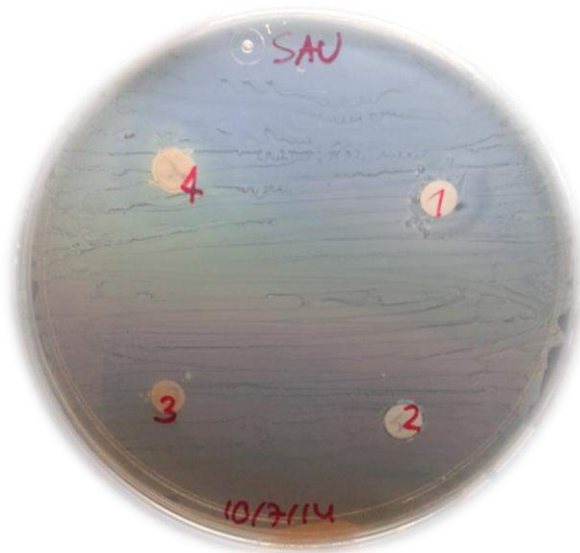


Imatge 11. Antibiograma d'*Escherichia coli*, placa 2.

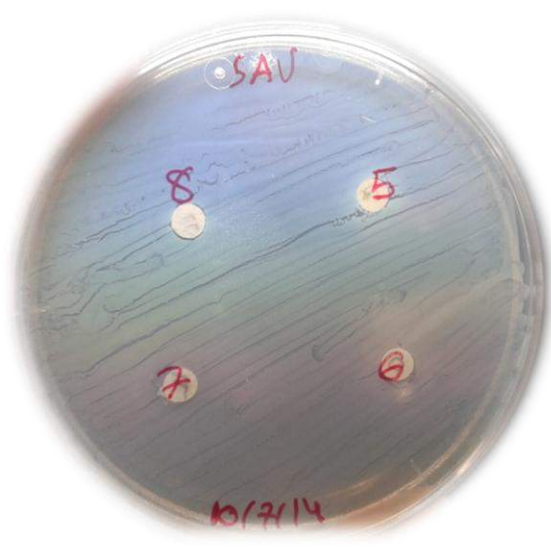
En ambdues plaques podem observar diversos elements que no s'han vist en els resultats presentats en el cos del treball. Aquí, es veu una clara irregularitat en ambdues plaques. Sembla que hi ha diverses colònies de bacteris i fongs. Això es pot comprovar en observar un fons bastant llis i d'un color semi transparent, comparat amb altres regions, normalment en formes bastant circulars, més blanquinoses. En la segona placa, fins i tot sembla que el microorganisme proper al disc 8 presenti una mena de filaments que difonen i envaeixen gran part de la placa de Petri.

Aquests elements ens indiquen que hi ha varietat de microorganismes, i que per tant, hi va haver una contaminació. A més, generalment aquestes colònies de microorganismes semblen ser properes als discos preparats. Aquest fet sembla mostrar que els discos es van contaminar, i pot ser degut a què van ser preparats a casa i per tant, el procediment utilitzat no va ser delicat. Conseqüentment, en la repetició de la pràctica, es va intentar prestar molta atenció a aquest fet.

Per altra banda, també és difícil poder observar halos d'inhibició, possiblement a causa de la contaminació de les mostres.



Imatge 13. Antibiograma de *Staphylococcus aureus*.  
Placa 1.



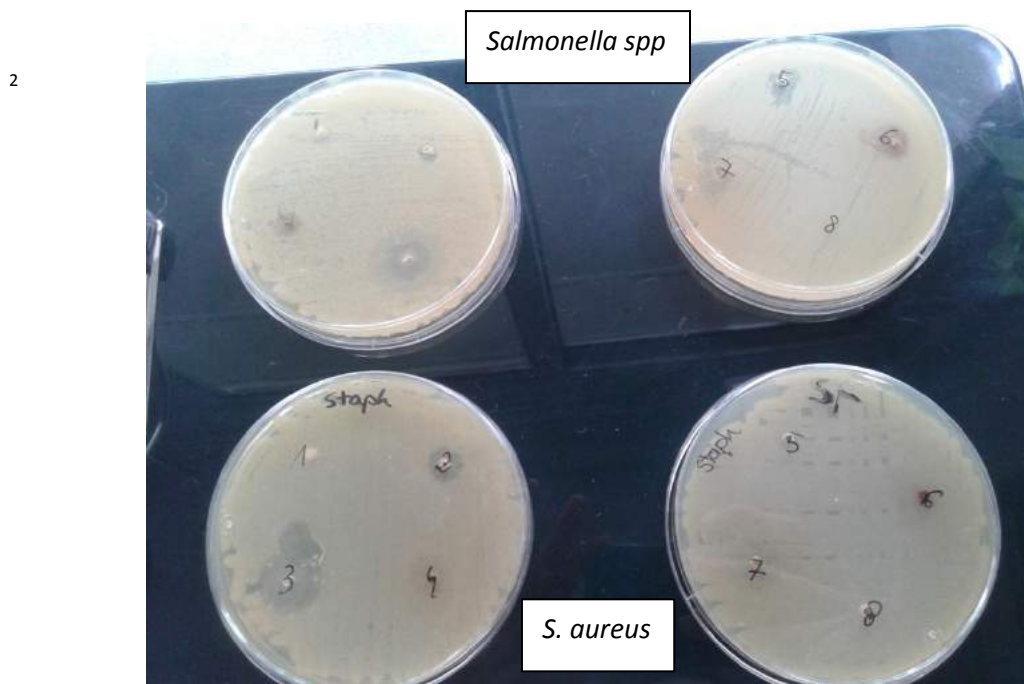
Imatge 12. Antibiograma de *Staphylococcus aureus*.  
Placa 2.

Per altra banda, observant les plaques de *S. aureus*, no sembla haver-hi contaminació, a diferència del cas anterior. Però, a simple vista sembla que tampoc hi ha presència d'halos d'inhibició. Tot i això, al prestar més atenció, al voltant dels discos 1 i 4 sembla dibuixar-se un lleuger halo d'inhibició.

A partir d'aquest fet, es va pensar que al utilitzar paper de filtre simple, la concentració de les possibles substàncies amb poder antibiòtic era molt baixa, ja que no es podia controlar la seva concentració en les pròpies plantes i per tant, tampoc en el disc, el qual era prim.

A més, es va poder observar una gran diferència entre l'efecte dels dos bacteris. En el primer cas, es veu que *E. coli* és bastant sensible als altres bacteris, ja que aquests poden créixer damunt seu. Però contràriament, les plaques de Petri amb *S. aureus*, no mostren cap signe de contaminació, cosa que sembla indicar-nos que el bacteri és més resistent que l'anterior.

A continuació, s'observen els resultats obtinguts de la segona repetició de la pràctica.



Imatge 14. Resultat de la segona repetició de la pràctica.

En aquest cas, d'una forma general ja es poden observar diversos halos d'inhibició i no sembla que hi hagi contaminació d'altres microorganismes en els resultats.

Així doncs, sembla que el bacteri presenta una sembra bastant regular, exceptuant zones pròximes a alguns dels nombres, on hi ha cercles d'un color més transparent. Gràcies a això, es va poder comprovar que seguint un procediment més rigorós amb estris del laboratori, es podia evitar la contaminació de la pràctica anterior.

Per altra banda, també es va intentar evitar la falta de concentració de les diverses substàncies. Per això, es van fer una sèrie de pouets en l'agar, amb l'ajuda de pipetes Pasteur i es van col·locar els preparats de les diverses substàncies dins. No obstant això, tal i com podem comprovar en la mostra número 7 de *Salmonella* spp, la substància podia sortir fàcilment del pouet i escampar-se directament per l'agar, causant irregularitats i dificultant l'anàlisi dels resultats. A més, es va pensar en l'efecte que podia tenir l'alcohol sobre els bacteris, ja que al no realitzar-se amb discos, la seva evaporació era més difícil i podria influir en els resultats. Per això, en la següent pràctica, es va intentar seguir una bona metodologia de l'experiment, i a més, es van aconseguir uns discs de paper de filtre més gruixuts, cosa que va permetre una major concentració de les diverses substàncies, assegurant l'evaporació de l'alcohol.

---

<sup>2</sup> No es fa un anàlisi detallat dels resultats, perquè l'important és el dels resultats de la última repetició, que semblen ser els més fiables. Per això, tampoc es comenta el número que té cada una de les substàncies en la placa.