

ENS AFECTA A TOTS

Bacteris resistents a les aigües de
l'Estany de Banyoles



Duna Coll Soler
2nA Batxillerat

Tutora: Àngels Felip Casabó
Data de lliurament: 08/10/2019

ÍNDEX

PRÒLEG	3
AGRAÏMENTS	4
INTRODUCCIÓ	5
MARC TEÒRIC	
1. Els bacteris:	
1.1. Què són?	7
1.2. Estructura bacteriana.	9
1.3. Morfologia bacteriana.	13
1.4. Metabolisme bacterià.	14
1.5. Reproducció.	15
1.6. Creixement bacterià	16
2. Els antibiòtics:	
2.1. Descripció.	17
2.2. Mecanismes d'acció.	18
2.3. Famílies d'antibiòtics.	20
2.4. Petita història dels antibiòtics.	23
3. Resistència bacteriana als antibiòtics:	
3.1. En què consisteix?	24
3.2. Resistència natural	25
3.3. Resistència adquirida	25
3.4. Mecanismes de resistència.	26
3.5. Factors acceleradors.	28
3.6. Prevenció.	30

PART PRÀCTICA	
4. Objectiu.	31
5. Material.	32
6. Primera part.	
6.1. Pregunta.	34
6.2. Hipòtesis.	34
6.3. Procediment.	35
6.4. Resultats.	49
7. Segona part.	
7.1. Pregunta.	60
7.2. Hipòtesis.	60
7.3. Procediment.	61
7.4. Resultats.	66
8. Conclusions.	68
CONCLUSIONS GENERALS	71
GLOSSARI	72
BIBLIOGRAFIA	77
ANNEX	82

PRÒLEG

Aquest treball és fruit d'una inquietud. La inquietud d'una estudiant que amb una gran curiositat, iniciativa i actitud es va preguntar sobre la resistència als antibiòtics...

Ja fa uns anys que la Organització Mundial de la Salut (OMS) va donar la veu d'alarma sobre la creixent disseminació de les resistències als antimicrobians entre els microorganismes patògens. La pròpia OMS va llançar una campanya sota el títol “Una Salut” (*One Health*) per fer adonar a tothom que el problema era global i que no es circumscribia a la medicina humana sinó que també afectava, i molt, als animals (ramaderia, aqüicultura, animals salvatges) i al medi ambient (sòl, boscos, rius, mars). En aquest drama, tots som víctimes i botxins.

Si bé la major part dels antibiòtics que coneixem i utilitzem són produïts pels microorganismes (bacteris i fongs, bàsicament), el seu abús i mal ús ha contribuït significativament a la disseminació de les resistències. A més, la poca cura que demostrem vers l'ambient al contaminar-lo sense cap vergonya amb residus diversos (antibiòtics i altres fàrmacs) no fa més que incitar l'evolució i estimular als microorganismes a que es tornin resistents. Ells no ens tenen en compte, ells s'adapten, ells sobreviuen.

No us puc avançar si serem capaços de solucionar el problema de la resistència als antimicrobians. La solució necessita de múltiples aproximacions i de l'esforç de molts, no només dels professionals sanitaris, dels investigadors, dels gestors, dels divulgadors, dels economistes, dels advocats, dels polítics, sinó també de la gent del carrer. De tots i cadascun de nosaltres. És una feina de tots i per a tots. Ens hi juguem molt, individualment i com a societat.

Carles Borrego

Institut Català de Recerca de l'Aigua

Universitat de Girona

AGRAÏMENTS

Vull començar donant les gràcies a totes aquelles persones que han fet possible que finalitzi el treball.

Primer de tot, agrair a l'Àngels Felip, la meva tutora del treball, que ha estat sempre al meu costat i m'ha ajudat en tot el que necessitava. Gràcies Àngels per haver-me obert les portes al món de la biologia des del primer curs a l'institut i per haver-me ensenyat tant al llarg de tots els anys. Però sobretot, gràcies per dedicar tant de temps en el treball, per llegir-lo i rellegir-lo, per guiar-me, per donar-me consells, per compartir-me informació i per preocupar-te perquè tot sortís bé.

També, donar les gràcies a Carles Borrego, un professor de la Universitat de Girona i membre de l'Institut Català de Recerca de l'Aigua. T'agraeixo molt tot el coneixement que has compartit amb mi, totes les hores que has estat ensenyant-me al laboratori i tota l'experiència que he aconseguit amb tu. Moltes gràcies Carles per la gran oportunitat, sense tu el treball no hauria estat possible.

Finalment agrair a la meva família, que ha estat escoltant-me in comptables hores parlar del treball, que s'ha llegit totes les pàgines per ajudar-me a fer-lo fàcil d'entendre i que m'ha donat sempre suport.

INTRODUCCIÓ

Us heu preguntat mai quins éssers vius viuen a l'Estany de Banyoles? Possiblement sí. Però us heu preguntat mai quins tipus d'organismes procariotes hi habiten? Jo ho vaig fer. I vaig anar més enllà. Em vaig preguntar si aquests bacteris, havien desenvolupat resistències a antibiòtics tal com s'exposa sovint a les notícies que altres bacteris fan.

Doncs bé, el treball tracta sobre les resistències bacterianes, un tema d'actualitat, molt important i que ens afecta a tots. És un problema de salut pública global en el qual els bacteris han desenvolupat mecanismes per fer front als antibiòtics. Si el problema no es resol, les conseqüències seran desastroses.

Sempre m'ha interessat el món de la biologia, i després de llegir un article anomenat "Dia de vigilar amb els antibiòtics" escrit per en Daniel Closa, vaig entendre el gran problema que suposen les resistències bacterianes per la humanitat. Per tant, en trobar-me amb l'oportunitat de fer un treball sobre un tema que m'interessés, no vaig dubtar en escollir estudiar les resistències bacterianes als antibiòtics. Així, la principal raó per la qual vaig escollir el tema va ser per conèixer més, tot i que també vaig pensar que seria una bona idea per tal de poder informar a tothom que llegeixi el treball que el futur dels antibiòtics es troba en les nostres mans.

El treball es divideix en dues parts. En la primera part s'aprofundeix en coneixements teòrics sobre els bacteris, sobre els antibiòtics i sobre la resistència bacteriana. Tot el contingut explicat en la primera, és fonamental per entendre i dur a terme la segona part del treball, la part pràctica. Els experiments que formen aquesta part, han seguit rigorosament el mètode experimental i s'han dut a terme als laboratoris de microbiologia de l'Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) a Girona. La part pràctica consisteix en un estudi sobre els bacteris que hi ha a les aigües de l'Estany de Banyoles.

Els objectius generals d'aquest treball són:

- Difondre la perillosa situació actual en la qual es troben els antibiòtics per tal d'aconseguir un bon ús d'aquests per part de tothom que llegeixi el treball.
- Analitzar la situació i el comportament enfront dels antibiòtics dels bacteris de les aigües de l'Estany de Banyoles
- Augmentar el meu coneixement sobre el tema, ja que, tot i que m'interessa molt, hi ha molts aspectes que desconec i que, amb aquest treball, pretenc conèixer.

MARC TEÒRIC

1. ELS BACTERIS

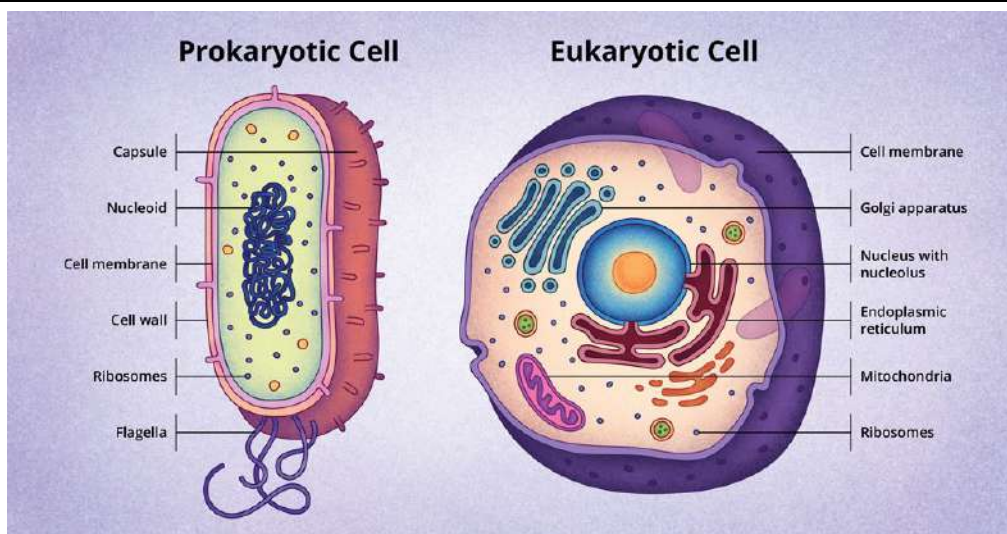
1.1. Què són?

Els bacteris són microorganismes unicel·lulars¹ procariotes² i són essencials per mantenir l'equilibri en els ecosistemes. Són la forma de vida més simple i antiga que es coneix, hi ha fòssils que daten d'uns 3.500 milions d'anys enrere. Poden causar malalties a altres éssers vius o no. De fet, en el cos humà hi ha més bacteris que cèl·lules eucariotes³, aproximadament 10 vegades més i la majoria no causen cap perjudici.

Els bacteris poden formar part del domini *Archaea* o del domini *Eubacteria* segons la classificació de Woese (1977) o dins el regne Monera segons la classificació de Whittaker (1957). Mentre que els bacteris del domini *Archaea* viuen en el fons marí i són molt primitius, els altres són més evolucionats i poden viure a l'aigua, al sòl o l'interior d'un organisme. A partir d'ara, en el treball només es farà referència als Eubacteris, ja que els arqueobacteris són difícils d'estudiar perquè viuen en ambients extremòfils, és a dir, en ambients amb condicions extremes de salinitat, de temperatura o d'oxigen.

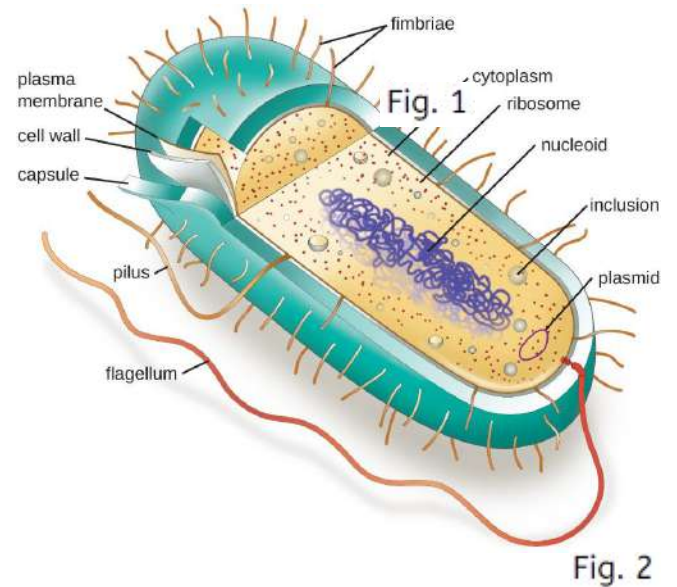
Tot seguit s'expliquen les característiques més importants dels bacteris a través d'una taula de diferències entre les cèl·lules procariotes i eucariotes:

	CÈL·LULA PROCARIOTA	CÈL·LULA EUCARIOTA
Mida	0,5-3 μm ($1\mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$).	2-100 μm .
Material genètic	ADN circular i tancat. No està associat a cap proteïna. Pot presentar plasmidis.	ADN en forma de cromatina o cromosomes i associat a histones (proteïnes).
Nucli	Absent. L'ADN està dispers en una zona del citoplasma anomenada nucleoid.	Nucli delimitat per una doble membrana amb porus. Conté l'ADN.
Orgànuls	Només presenta ribosomes.	Presenta una gran varietat d'orgànuls cel·lulars.
Paret cel·lular	És present a quasi totes les cèl·lules procariotes. Pot presentar una càpsula.	Només es troba en cèl·lules vegetals.
Flagel	Pot presentar-ne i té una estructura senzilla.	Pot presentar-ne i té una estructura complexa.
Reproducció	Divisió binària.	Mitosi i meiosi.



1.2. Estructura bacteriana.

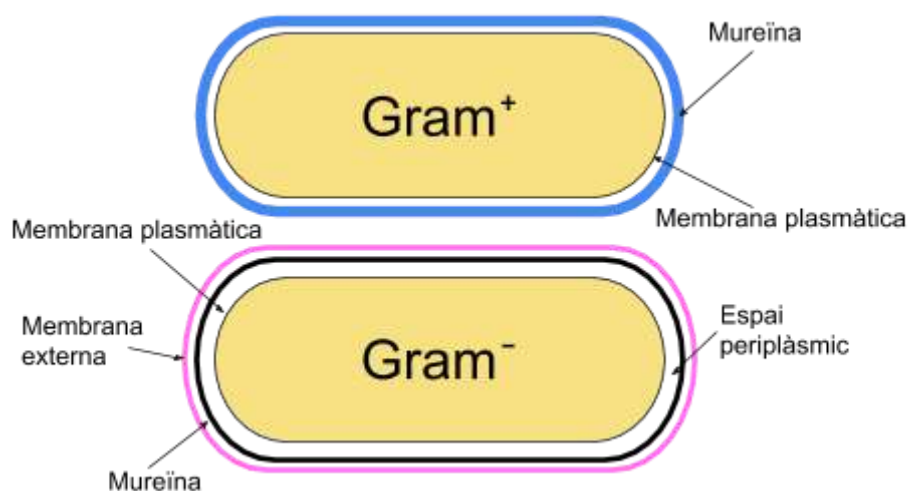
Podem dividir les diferents estructures que presenten els bacteris en dos grups: estructures permanents o vitals i estructures variables o no vitals.



Dins les estructures permanents o vitals trobem:

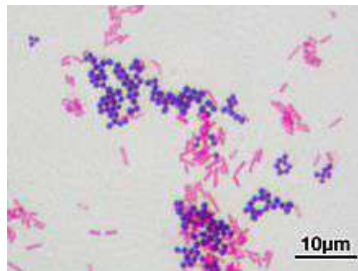
Paret bacteriana: Estructura vital que es troba per fora de la membrana plasmàtica i que està majoritàriament formada per mureïna, un tipus de peptidoglicà. La paret protegeix el bacteri de substàncies tòxiques i és el lloc d'acció d'alguns antibiòtics.

Segons la seva paret els bacteris poden ser bacteris Gram + o bacteris Gram -. Tal com s'observa a la figura, els dos tipus de bacteris es diferencien perquè els Gram + presenten només la capa de mureïna i els Gram - presenten la capa de mureïna i, a sobre, una membrana externa.



TINCIÓ DE GRAM:

- És una tinció diferencial utilitzada en bacteriologia per la visualització de bacteris. Diferencia els bacteris segons el tipus de paret: bacteris grampositius i bacteris gramnegatius.
- Procediment:
 - Tenyir la mostra amb cristall violeta (colorant) per tal de tenyir tots els bacteris de blau.
 - Afegir lugol⁴ que provocarà que els bacteris que tenen una capa de mureïna a l'exterior (Gram +) es tornin impermeables a l'alcohol.
 - Afegir alcohol a fi de destenyir els bacteris sense capa de mureïna a l'exterior (Gram -).
 - Tenyir amb safranina⁵ els bacteris Gram -, que no han absorbit els cristalls violeta.
- Resultat: els bacteris Gram + es tenyeixen de color blau i els Gram - de color rosa.



Citoplasma: Engloba el citosol (part líquida) i els orgànuls cel·lulars. Les cèl·lules procariotes només presenten ribosomes que es poden trobar aïllats o formant cadenes poliribosòmiques. Estan compostos per ARN i proteïnes i presenten dues subunitats ribosòmiques. La seva funció és la síntesi de proteïnes però també ajuden en la traducció de l'ARN missatger.

Material genètic: L'ADN dels bacteris està compost per dues cadenes helicoidals de nucleòtids unides entre si per enllaços per pont d'hidrogen. Aquest ADN es troba superenrotllat i unit a proteïnes en una regió del citoplasma anomenada "nucleoide".

La seva funció és dirigir el metabolisme bacterià, ja que conté tota la informació genètica del bacteri.

Membrana cel·lular: Bicapa lipídica que delimita el bacteri i controla el pas de substàncies a l'interior i a l'exterior.

Està formada per:

- Fosfolípids⁶ estabilitzats per ponts d'hidrogen.
- Proteïnes de transport que permeten al bacteri obtenir les substàncies que necessita per viure.
- Receptors químics de naturalesa proteica que ajuden al bacteri a detectar i a respondre a diverses substàncies químiques.
- Mesosomes, invaginacions de la membrana plasmàtica. La seva funció és ajudar al bacteri en la duplicació del material genètic, en la formació de la paret cel·lular i en la respiració cel·lular en bacteris aerobis.

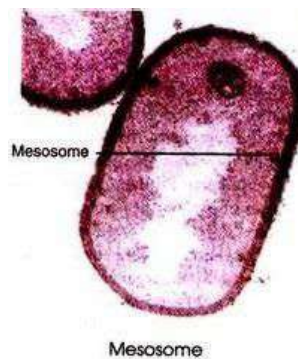


Fig. 3

Dins les estructures variables o no vitals trobem:

Inclusions: Petits sacs que pot fabricar el bacteri en època d'abundància on acumula substàncies que necessitarà per fer diferents funcions. N'hi ha de molts tipus diferents com les que contenen glicogen o les que contenen sulfur.

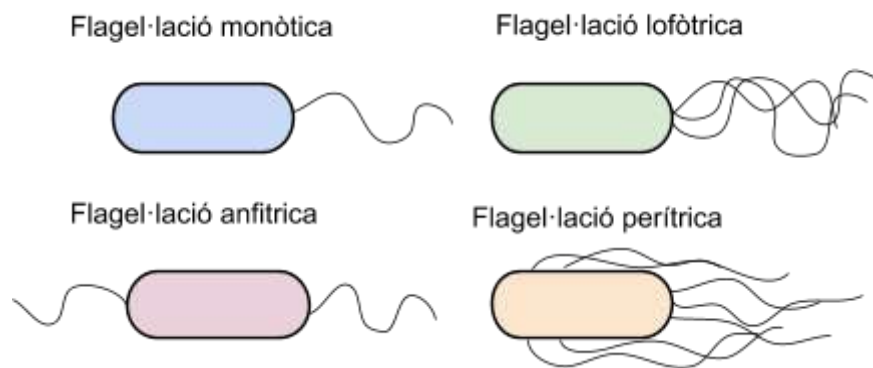
Plasmidi: Doble cadena de material genètic extracromosòmic en forma circular. Tot i no ser essencials per a la vida dels bacteris els plasmidis poden aportar-los avantatges pel que fa a l'adaptació en diversos ambients gràcies als gens que contenen.

Per exemple, els bacteris poden transferir-se parts de plasmidi entre ells per adoptar resistències enfront als antibiòtics, noves capacitats metabòliques o patògenes. Aquest procés de transferència s'anomena conjugació.

Orgànuls especials: Hi ha diferents orgànuls que un bacteri pot presentar:

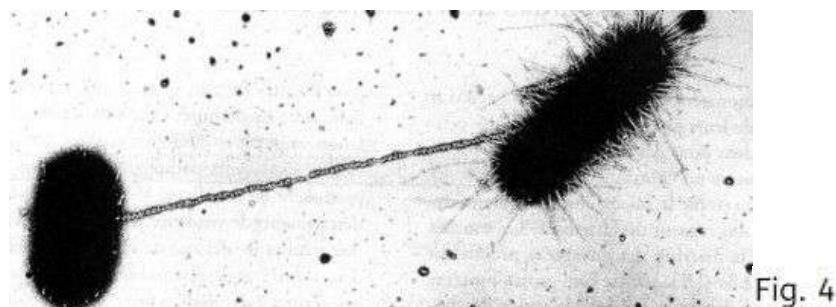
- Si és un bacteri autòtrof, té orgànuls anomenats carboxisomes i clorosomes.
- Si és un bacteri aquàtic, presenta vacúols de gas.
- Si és un bacteri magnetotàctic, presenta magnetosomes.

Flagel: Filament proteic que permet la mobilitat d'un bacteri. Els bacteris poden no tenir flagel, tenir-ne un o més. Hi ha quatre tipus de flagel·lacions segons el nombre i la posició de flagels que presenta un bacteri:



Càpsula: Estructura formada per glúcids polisacàrids situada per fora la paret cel·lular. És present en alguns bacteris i els protegeix de la fagocitosi⁷ i dels anticossos del sistema immunitari de l'hoste. La seva síntesi està regulada genèticament i els bacteris només la sintetitzen quan la necessiten.

Fímbries i pili: Filaments proteics (constituïts per pilina) que es diferencien dels flagels per ser més petits i no intervenir en la locomoció. Són de diferents llargades i n'hi ha de dos tipus: sexuals o pili que intervien en la conjugació i les d'unió o fímbries que serveixen per fixar el bacteri en diferents superfícies.



1.3. Morfologia bacteriana.

Troblem quatre tipus morfològics de bacteris:

Cocs: Es caracteritzen per tenir una estructura esfèrica. Alguns són patògens per als humans. Poden ser:

- Diplococs: Parelles de cocs.
- Estreptococs: Cadenes de cocs.
- Estafilococs: Agrupacions de cocs en forma de carràs de raïms.
- Sarcines: Agrupacions cúbiques tridimensionals.

Exemple: *Streptococcus pneumoniae*, causant de la pneumònia.

Bacils: Tenen forma de bastó allargat. Alguns són patògens i altres no.

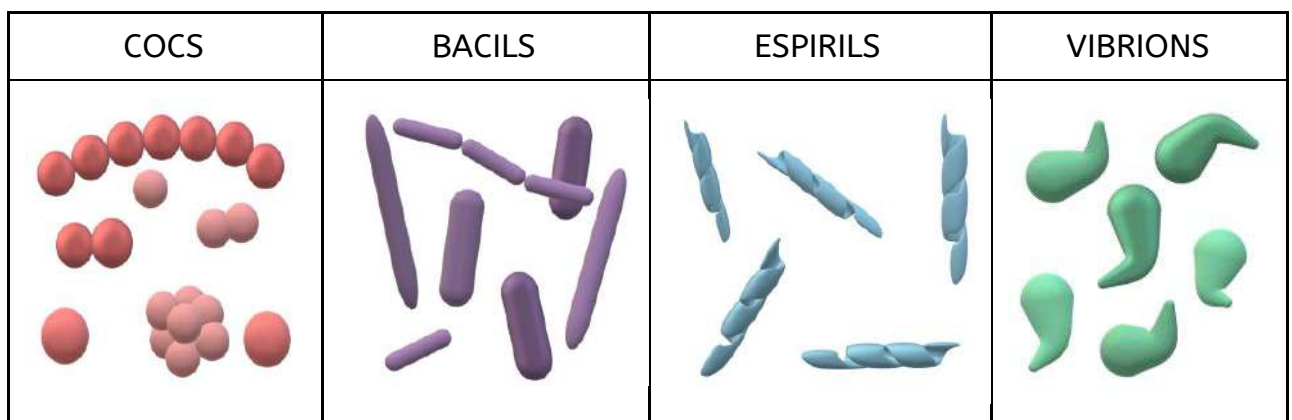
Exemple: *Escherichia coli*, que causa infeccions intestinals.

Espirils: Com el seu nom indica tenen forma d'espiral, és a dir, forma helicoidal. Els bacteris d'aquest tipus són patògens.

Exemple: *Treponema palladium*, causant de la sífilis (MTS).

Vibrions: Tenen forma de coma ortogràfica. Alguns són patògens.

Exemple: *Vibrio cholerae*, causant del còlera.



1.4. Metabolisme bacterià.

La paraula metabolisme es refereix al conjunt de reaccions químiques que es produeixen dins la cèl·lula, en aquest cas dins la cèl·lula bacteriana i que permeten a l'organisme obtenir l'energia i els nutrients necessaris per viure. Les reaccions químiques poden ser catabòliques quan es degraden compostos amb la finalitat d'obtenir energia, i anabòliques quan se sintetitzen compostos i es gasta energia.

Dins el món bacterià podem trobar tots els tipus metabòlics que existeixen i la majoria es poden classificar segons tres criteris diferents:

Segons les seves necessitats d'oxigen:

- Aerobi: necessiten l'oxigen per fer la respiració cel·lular.
- Anaerobi: no necessiten oxigen per viure.
- Facultatius: poden o no utilitzar l'oxigen.

Segons la font de carboni:

- Autòtrof: obté carboni a partir del diòxid de carboni (CO₂) de l'aire.
- Heteròtrof: obté carboni a partir de compostos orgànics.

Dins els bacteris heteròtrofs trobem els bacteris paràsits (causen malalties), els simbiòtics (s'associen a altres éssers vius causant-los beneficis) i els sapròfits (s'alimenten de restes d'altres éssers vius).

Segons la font d'energia:

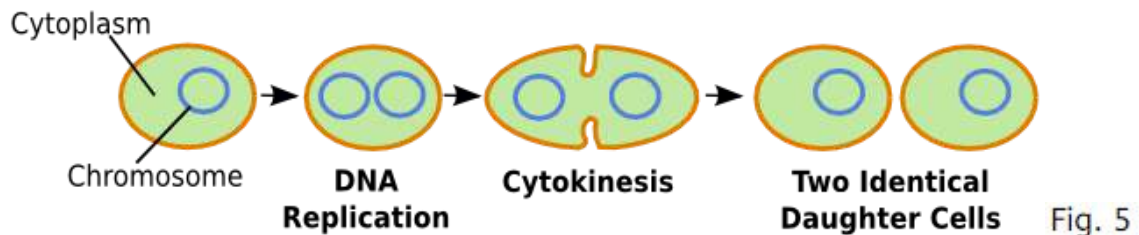
- Quimiòtrof: obté l'energia de la degradació de compostos.
 - Quimiolitòtrof: degradació de compostos inorgànics.
 - Quimioorganòtrof: degradació de compostos orgànics.
- Fotòtrof: obté l'energia de la llum solar.

Els bacteris més comuns són els aerobis quimioorganoheteròtrofs que necessiten oxigen, obtenen l'energia de degradar compostos orgànics i el carboni a partir de compostos orgànics. Entre ells hi trobem l'*Escherichia coli*, el *Bacillus spp.* i l'*Actinobacteria*.

1.5. Reproducció.

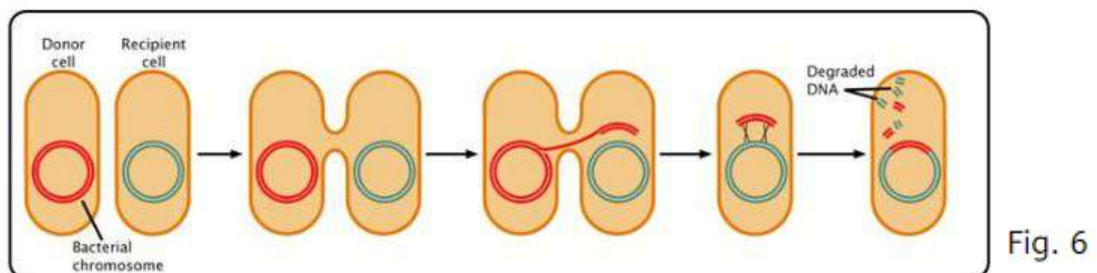
Els bacteris es reproduïxen asexualment i els descendents són clons dels progenitors. El procés de reproducció bacteriana s'anomena bipartició o divisió binària i consta de dues parts:

- El material genètic del bacteri es duplica.
- El bacteri se separa en dos per bipartició o fissió binària.



Tot i que aquest tipus de reproducció no dona variabilitat a la descendència els bacteris poden adquirir noves característiques gràcies a tres mecanismes diferents que s'anomenen mecanismes de parasexualitat bacteriana. Són aquests:

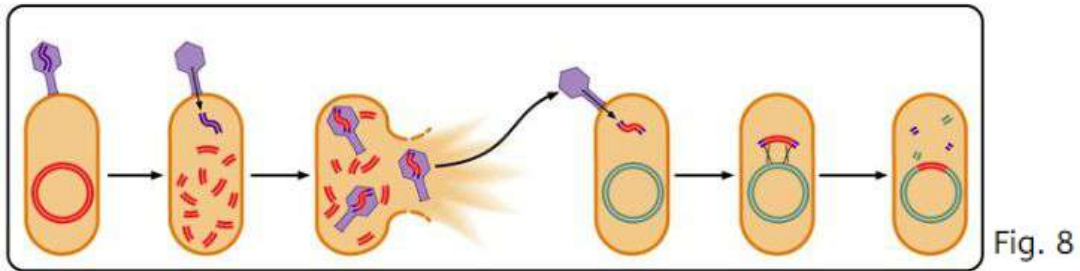
Conjugació: consisteix en la donació de gens per part del bacteri donador o mascle al bacteri receptor o femella a través de les pili. El mascle duplica els gens que vol donar i les seves pili estableixen contacte amb la femella per poder dur a terme la donació.



Transformació: consisteix en la captació de DNA dispers pel medi que prové d'un altre bacteri o d'una cèl·lula morta. El bacteri receptor introdueix els gens en forma de plasmidi.



Transducció: consisteix en l'intercanvi de gens entre dos bacteris utilitzant un virus bacteriòfag com a transportador.



1.6. Creixement bacterià.

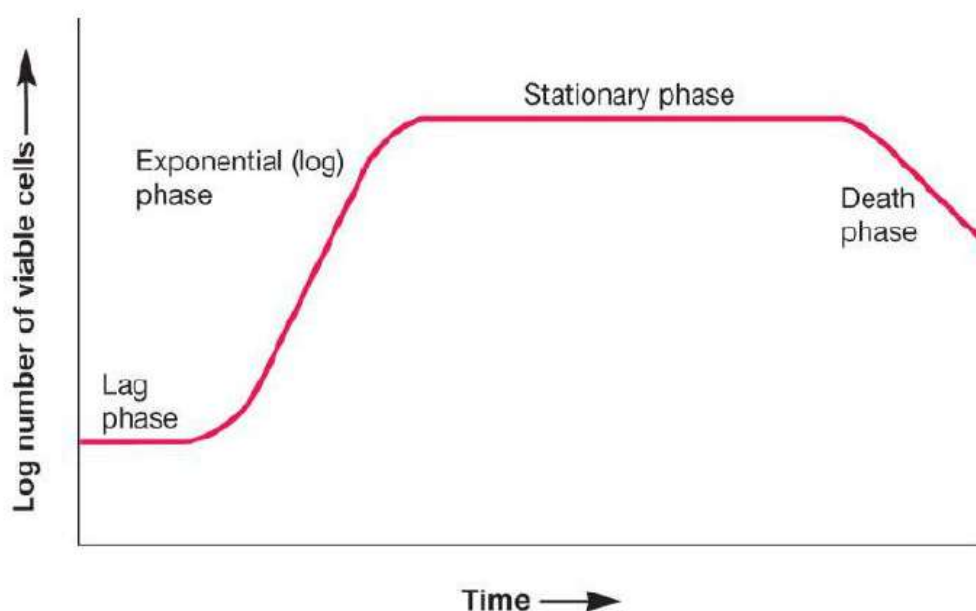
Les poblacions bacterianes tenen un creixement exponencial. El creixement bacterià consta de 4 fases:

Fase de latència: el nombre d'individus de la població no augmenta perquè estan adaptant-se al medi.

Fase exponencial: és la fase de creixement. Els bacteris es divideixen en un temps de generació constant i en cada divisió es duplica la població.

Fase estacionària: el nombre d'individus es manté constant ja que hi ha un equilibri entre els bacteris que es moren i els que neixen. Això és degut al fet que s'esgoten els nutrients disponibles en el medi de cultiu.

Fase de mort: la població disminueix a causa de la falta de recursos i a l'acumulació de productes tòxics produïts pel seu propi metabolisme.



2. ELS ANTIBIÒTICS

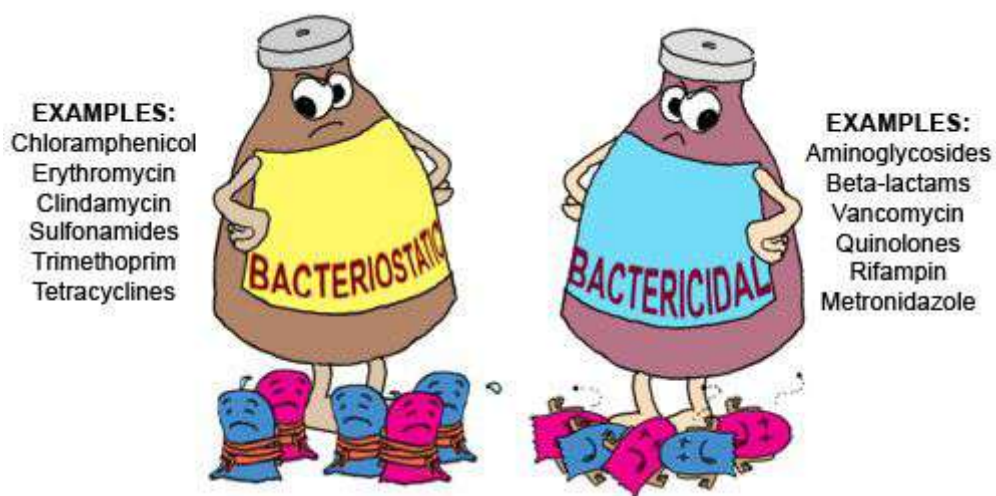
2.1. Descripció.

Els antibiòtics són molècules naturals o sintètiques que tenen la capacitat d'eliminar o inhibir el creixement de microorganismes. Els antibiòtics, per tant, són substàncies que tenen una funció antibacteriana. Tots aquests fàrmacs actuen en una determinada característica del bacteri i per això, no afecten les nostres cèl·lules quan els ingerim.

Es poden classificar de diverses maneres:

Segons la interacció bacteri-antibiòtic:

- Bactericides: tenen una acció letal i eliminen els bacteris.
- Bacteriostàtics: impedeixen el creixement i el desenvolupament de bacteris.



Segons l'espectre d'acció:

- Ampli espectre: afecten diverses espècies bacterianes.
- Espectre reduït: afecten poques espècies o a espècies molt concretes.

Segons el mecanisme d'acció.

2.2. Mecanismes d'acció.

Els antibiòtics tenen toxicitat selectiva, el que vol dir que només actuen sobre estructures pròpies dels bacteris i no afecten les cèl·lules eucariotes. Els mecanismes que utilitzen són molt complexos però es poden resumir en cinc:

Bloqueig de la síntesi de la paret cel·lular: els antibiòtics poden actuar inhibint la correcta formació de la paret bacteriana. Per exemple poden actuar prohibint que es sintetitzi N-acetilmurámico, una molècula que forma part de la paret cel·lular dels bacteris. També poden evitar que el peptidoglicà s'uneixi a les proteïnes que hi ha entre la paret i la membrana cel·lular en els bacteris Gram negatius. Sense paret bacteriana els bacteris no sobreviuen.

Exemple d'antibiòtic: antibiòtics beta lactàmics.

Inhibició de la síntesi de proteïnes: alguns antibiòtics inhibeixen diferents enzims que actuen en alguna de les fases de la síntesi de proteïnes. Sense proteïnes, els bacteris no poden dur a terme funcions, i si aquestes són vitals, els bacteris es moren.

Exemple d'antibiòtic: antibiòtics tetraciclins.

Alteració de la membrana citoplasmàtica: els antibiòtics que alteren la membrana citoplasmàtica ho fan alterant el potencial electroquímico, és a dir, incorporant dins el bacteri més ions potassi (K^+) dels que hi hauria d'haver.

Exemple d'antibiòtic: gramicidina.

Bloqueig de la síntesi dels àcids nucleics: per bloquejar la síntesi d'ADN o ARN els antibiòtics poden actuar en quatre maneres diferents:

- Inhibint la síntesi de bases nitrogenades per tal que no hi hagi nucleòtids⁸ per replicar l'ADN.
- Afectant la Topoisomerasa perquè no dugui a terme la seva funció, desenrotllar la doble hèlix d'ADN. D'aquesta manera la duplicació de l'ADN no es pot dur a terme.

- Inhibint la transcripció de l'ADN tot bloquejant la síntesi de RNA missatger i ribosòmic.
- Impedint la polimerització d'àcids nucleics perquè s'incorporen sobre l'ADN i aquest, no pot fer la funció d'ADN motlle.

Exemple d'antibiòtic: sulfamides.

Inhibidors d'enzims inactivadors d'antibiòtics: aquest mecanisme consisteix a inhibir la β -lactamasa, un enzim produït per alguns bacteris i responsable de la resistència d'aquests enfront l'acció d'alguns antibiòtics com la penicil·lina. El responsable és l'àcid clavulànic i ho fa tot trencant una estructura molecular anomenada anell betalactàmic que tenen en comú tots els antibiòtics del grup beta lactàmics.

L'àcid clavulànic no té un efecte antibiòtic sinó que es combina amb preparacions antibiòtiques. D'aquesta manera, el bacteri resistent ja no ho és i l'antibiòtic li fa efecte.

Exemple: àcid clavulànic + penicil·lina.

The Action of Antimicrobial Drugs

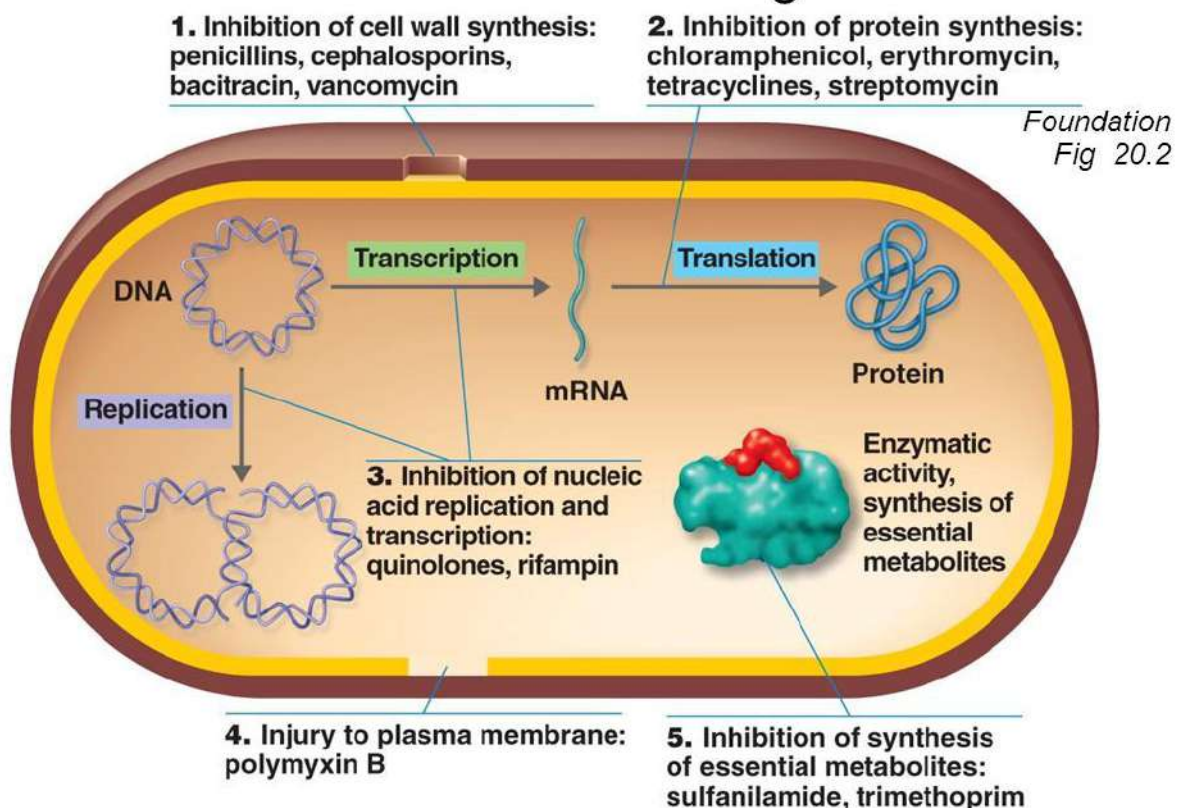
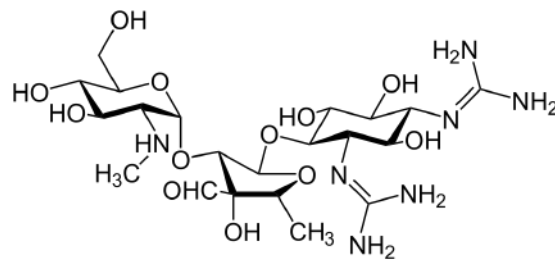


Fig. 11

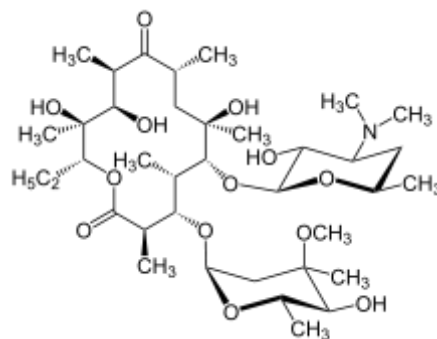
Aminoglicòsids: grup d'antibiòtics que tenen una acció bactericida i el seu mecanisme d'acció consisteix a bloquejar la síntesi de proteïnes. Generalment actuen sobre els estafilococs. Causen forces efectes secundaris com nefrotoxicitat, ototoxicitat i bloqueig neuromuscular entre d'altres. Els més comuns són la gentamicina, l'amikacina i l'estreptomicina.

ESTREPTOMICINA



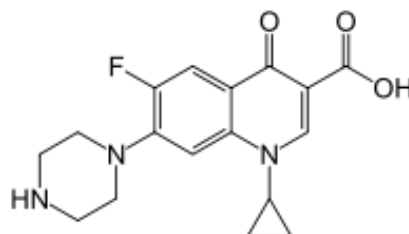
Macròlids: segon grup d'antibiòtics més utilitzat. Generalment tenen una acció bacteriostàtica i actuen inhibint la síntesi de proteïnes. Es classifiquen segons el nombre de carbonis: 14 carbonis (eritromicina i claritromicina), 15 carbonis (azitromicina) i 16 carbonis (espiramicina).

ERITROMICINA



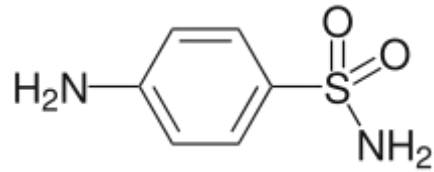
Quinolones: antibiòtics bactericides que actuen inhibint la síntesi d'ADN. Es classifiquen en 4 generacions. La resistència bacteriana sobre aquests antibiòtics evoluciona ràpidament.

CIPROFLOXACINA



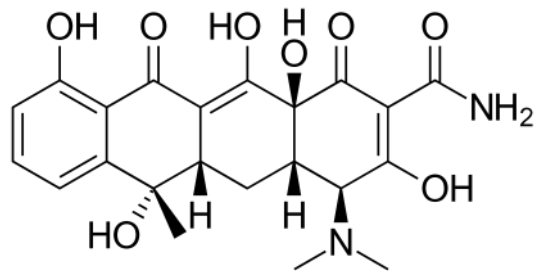
Sulfonamides: primers antibiòtics comercialitzats. No provoquen la mort dels bacteris, per tant, són bacteriostàtics. Poden causar reaccions al·lèrgiques en alguns pacients.

SULFANILAMIDE



Tetraciclins: grup d'antibiòtics amb acció bacteriostàtica que actuen inhibint la síntesi de proteïnes tot frenant el creixement del bacteri. El seu ús ha disminuït durant els darrers anys a causa de les resistències bacterianes.

TETRACICLINA



Altres famílies d'antibiòtics són els lipopèptids, les ansamicines, les estreptogramines, les oxazolidines i els cloramfenicols.

2.4. Petita història dels antibiòtics.

El descobriment dels antibiòtics va marcar un abans i un després en la història de la medicina. Gràcies a aquests medicaments s'han evitat moltes morts i s'han erradicat moltes malalties.

El primer antibiòtic va ser la penicil·lina, descoberta per Alexander Fleming. El científic estava fent uns estudis sobre el bacteri *Staphylococcus aureus* i els feia créixer en plaques de Petri. L'any 1928 va observar que el creixement de bacteris quedava inhibit per la presència d'una floridura anomenada *Penicillium notatum* que havia contaminat accidentalment la placa. A partir d'aquí Fleming va deduir que la floridura produïa alguna substància que eliminava els bacteris i la va anomenar penicil·lina.

Tot i que Fleming va abandonar la recerca perquè no li va semblar prometedora, Ernst Boris Chain i Howart Florey van continuar estudiant la penicil·lina. Van provar la seva eficàcia en diversos bacteris i es va convertir en el primer antibiòtic d'ús mèdic.

Durant la Segona Guerra Mundial la penicil·lina va salvar un munt de vides de soldats i l'any 1945 Fleming, Chain i Florey van rebre el Premi Nobel de Fisiologia i Medicina.

A partir d'aquí, s'han sintetitzat molts altres antibiòtics els quals han ajudat i ajuden a combatre malalties. Però potser no podran ajudar durant molt més temps. Actualment ens enfrontem a un gran problema: les resistències bacterianes als antibiòtics.



Sir Alexander Fleming
(1881-1955)

Ernst Boris Chain
(1906-1979)

Sir Howard Walter Florey
(1898-1968)

Fig. 12

Placa de cultiu on
Fleming va descobrir
la penicil·lina.



Fig. 13

3. RESISTÈNCIA BACTERIANA ALS ANTIBIÒTICS

3.1. En què consisteix?

La resistència bacteriana és la capacitat d'un bacteri a resistir l'acció d'un o més antibiòtics concrets i que per tant, deixen de ser efectius per aquell bacteri. És un fenomen en creixement provocat pels canvis evolutius dels bacteris i accelerat pel mal ús dels antibiòtics.

Des que es van descobrir els primers antibiòtics, ja es van observar resistències. Però poc després d'observar aquesta nova resistència es descobria un nou antibiòtic efectiu per al bacteri resistent. El problema és que les resistències bacterianes apareixen cada vegada més ràpid i per trobar un nou antibiòtic passen molts anys. A més, les infeccions causades per bacteris multiresistents causen cada vegada més morts. De fet, a Espanya la xifra de morts causades per malalties provocades per bacteris resistents és de quasi 2.000 per any. I a escala mundial, els experts calculen que en l'any 2050 hi haurà més morts causades per bacteris resistents (10 milions) que per càncer (8,5 milions) tal com diu l'article "La meitat dels antibiòtics es consumeixen incorrectament" publicat a <https://www.ara.cat/>.

Per tant, es tracta d'un greu problema de salut mundial i per això, moltes organitzacions com l'OMS, fan campanyes per conscienciar a la població sobre el problema.



Fig. 14

3.2. Resistència natural.

Un bacteri té resistència natural cap a un antibiòtic quan aquesta resistència es troba determinada genèticament, no es relaciona amb la dosi de l'antibiòtic i tota la seva espècie també la té. Hi ha espècies de bacteris que són resistents a algunes famílies d'antibiòtics. Aquest fet els dona avantatges davant d'altres espècies bacterianes. L'aparició de resistències naturals és anterior a l'ús dels antibiòtics.

L'explicació sobre aquest fet es deu que les espècies resistents no presenten la molècula diana⁹ sobre la qual ha d'actuar l'antibiòtic i per tant, no li farà cap efecte. Per exemple, el bacteri *Mycoplasma* presenta resistència natural a la penicil·lina perquè aquest no té paret bacteriana i l'antibiòtic actua sobre aquesta estructura.

3.3. Resistència adquirida.

La resistència adquirida consisteix en l'aparició de soques resistents a un o més antibiòtics que en el passat, eren eficaços per aquella espècie. Pot ser causada per:

Mutacions: s'ha produït un canvi en la informació de l'ADN bacterià d'un bacteri que ha permès que aquest sigui resistent. El bacteri es reproduirà i la mutació es transmetrà de generació en generació. Es formarà una soca resistent que anirà augmentant mentre que la població de bacteris no resistents disminuirà per acció de la selecció natural.

Adquisició: s'ha transmès material extracromosòmic d'un altre bacteri a través de mecanismes de parasexualitat (explicats a les p. 12-13). La transmissió d'aquest gen resistent no sols passa de generació en generació sinó que pot passar d'espècie en espècie.

3.4. Mecanismes de resistència.

Els bacteris han aconseguit desenvolupar diversos mecanismes de resistència per fer front als antibiòtics. Els principals són:

Inactivació de l'antibiòtic: aquest procés es realitza mitjançant enzims produïts pel bacteri que són capaços de fer perdre a l'antibiòtic la seva funcionalitat. Els enzims poden hidrolitzar¹⁰ l'antibiòtic o provocar-li canvis químics.

L'enzim més comú és la β -lactamasa, una proteïna que pot hidrolitzar l'anell β -lactàmic dels antibiòtics de la família Beta lactàmics. Cal destacar també els enzims modificadors dels aminoglicòsids, ja que poden modificar aquest tipus d'antibiòtics a través de reaccions d'acetilació, adenilació i fosforització.

Aquest tipus de mecanisme el presenten els bacteris Gram negatius i el gen que codifica aquests enzims es pot trobar al cromosoma bacterià o en un plasmidi de resistència.

Bombes d'efluxió: les bombes d'efluxió o d'expulsió són proteïnes de membrana encarregades d'agafar l'antibiòtic quan es troba en l'espai periplasmàtic (espai entre les dues capes de la membrana dels bacteris gram negatius) i expulsar-lo a l'exterior. D'aquesta manera l'antibiòtic no pot arribar al seu lloc d'acció. És un tipus de transport actiu i per tant, es necessita ATP.

Alteració del blanc de l'antibiòtic: aquest mecanisme el presenten els bacteris Gram positius. Consisteix a impedir que els antibiòtics puguin fer la seva funció tot modificant l'estructura que ataquen, fent que no sigui percebuda. Ho fan modificant l'estructura terciària de les proteïnes que formen la zona que ha de ser atacada. Els ribosomes d'alguns bacteris per exemple, poden canviar la seva estructura. Així l'antibiòtic no els pot atacar i el bacteri pot seguir sintetitzant proteïnes. Altres zones que poden adoptar una nova estructura són la paret bacteriana i la membrana plasmàtica.

Barreres de permeabilitat: els bacteris sovint poden modificar la permeabilitat de la membrana cel·lular. Això és degut al canvi de conformació de les porines. Les porines són proteïnes de membrana que tenen un canal ple d'aigua per deixar passar les substàncies hidròfiles. Quan aquestes proteïnes canvien no deixen passar l'antibiòtic i per tant, no pot entrar dins el bacteri. Aquest tipus de mecanisme és comú en bacteris gram negatius però també es pot trobar en bacteris gram positius.

MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE

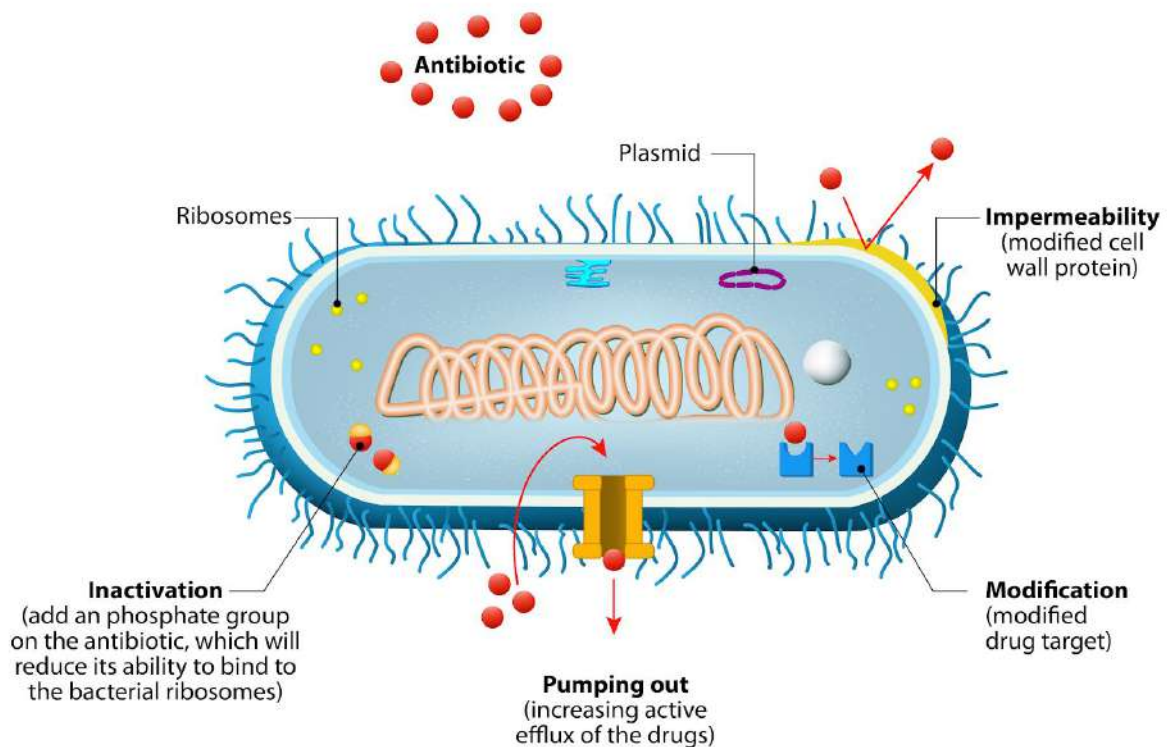


Fig. 15

3.5. Factors acceleradors.

La resistència als antibiòtics per part dels bacteris apareix quan els bacteris canvien (desenvolupen mecanismes de resistència) i ja no els afecta l'acció de l'antibiòtic. Aquest fet és causat per mutacions o per transmissió de gens però accelerat per diversos factors com:


Preinscripció excessiva d'antibiòtics: temps enrere es receptaven antibiòtics quan no eren realment necessaris afavorint la transmissió de gens per part dels patògens no afectats pel medicament cap a altres bacteris que, d'aquesta manera es tornaven resistents. Avui en dia, aquest tema està més controlat i existeixen proves per diferenciar una malaltia vírica d'una bacteriana com en el cas de les 



Fig. 16

Abandonament del tractament abans d'acabar-lo: sovint els malalts deixen de prendre antibiòtics quan ja no tenen símptomes de la malaltia. És un error molt greu perquè al no acabar el tractament, poden quedar bacteris patògens al nostre cos que poden desenvolupar la resistència perquè no s'han mort en el primer contacte amb l'antibiòtic.



Fig. 17

Falta d'higiene: la falta d'higiene no només és un tema important en els centres sanitaris sinó també per tota la població mundial. Els lavabos públics, per exemple, no solen estar nets i són un gran focus d'infeccions on s'hi poden acumular diversos tipus de bacteris i aquests poden desenvolupar resistències.



Fig. 18

Control inadequat de les infeccions en clíniques i hospitals: els centres sanitaris són un focus d'infeccions. Si el personal sanitari no té prou higiene, pot transmetre bacteris d'un malalt a un altre fàcilment. D'aquesta manera s'afavoreix considerablement la comunicació entre bacteris i poden transmetre's resistències fàcilment.



Fig. 19

Ús excessiu d'antibiòtics en ramaderia: en l'actualitat molts ramaders donen als seus animals massa antibiòtics per prevenir-los de futures malalties. Aquest fet causa molts problemes. Els bacteris poden desenvolupar resistència a causa de mutacions i els humans es poden exposar a ells a través de la cadena alimentària. Si els bacteris són patògens, es desenvolupen malalties per les quals no hi ha tractament.



Fig. 20

Falta de desenvolupament de nous antibiòtics: les resistències bacterianes apareixen molt ràpidament comparat amb el temps que tarden els científics a posar en el mercat un nou antibiòtic. Si les resistències aparegudes no es tracten ràpidament, els bacteris resistents poden propagar-se i com a conseqüència, poden aparèixer encara més resistències.



Fig. 21

3.6. Prevenció.

La resistència bacteriana és un gran problema. Si s'actua de manera correcta, es pot aconseguir que el problema no vagi a més.

La principal causa és el mal ús que se'n fa dels antibiòtics. Per tant, el primer que s'ha de fer per prevenir el desenvolupament de noves resistències és utilitzar els antibiòtics adequadament: prendre'n només quan ens ho ha receptat el metge, acabar els tractaments, no donar-ne en excés als animals...

Tot i això, pot ser que el metge ens els recepti i no sigui necessari. Fa falta doncs, fer més proves als pacients abans de treure'n conclusions per evitar errors en els tractaments i fer controls de prevenció d'infeccions per no haver de subministrar antibiòtics freqüentment.

I finalment, es necessita que la població estigui informada sobre aquest problema. Si la població sap que els antibiòtics s'han de prendre adequadament, no els prendran de manera incorrecta. Si la població sap que es necessiten nous antibiòtics, les empreses farmacèutiques sentiran pressió i es desenvoluparan nous antibiòtics. Aquest últim punt és un dels aspectes més importants que l'OMS creu que s'ha de tractar i l'inclou en el seu Pla d'acció mundial sobre els antimicrobians creat el 2015.

Si no es canvia la manera d'utilitzar els antibiòtics, entrarem en una època on no podrem fer front als bacteris. Així doncs, el futur de la medicina moderna està en les nostres mans.

PART PRÀCTICA

4. OBJECTIUS.

La part pràctica del meu treball es basa en l'estudi del comportament dels bacteris de l'aigua de l'Estany de Banyoles en dues zones molt diferenciades respecte a l'impacte humà.

Una de les zones és la Caseta de Fusta (zona impactada a causa del fet que a l'estiu hi ha molta afluència de gent que s'hi va a banyar) i l'altre és la Llacuna dels Amaradors (zona no impactada).



Fig. 22

La part pràctica es divideix en dues parts diferents.

L'objectiu principal de la primera part és:

- Mesurar l'impacte que té l'ésser humà en la concentració de bacteris resistents a les aigües de l'Estany de Banyoles.

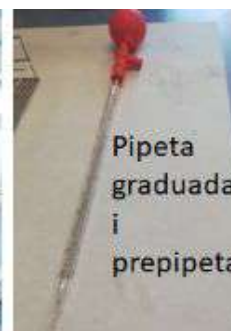
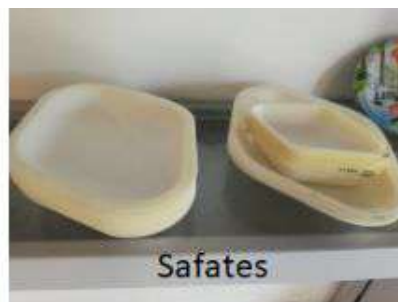
Per aconseguir l'objectiu principal però, s'han d'aconseguir prèviament altres objectius:

- Calcular la concentració de bacteris totals en les dues zones.
- Calcular la concentració de bacteris coliforms (indicadors de la contaminació de l'aigua) i *E. coli* (espècie de bacteri amb el que es treballarà) en les dues zones.
- Estudiar la concentració de bacteris (coliforms i *E. coli*) resistents a dos antibiòtics diferents, la ciprofloxacina i l'ampicil·lina, en les dues zones.

L'objectiu de la segona part és:

- Fer un patró de resistència dels bacteris de l'Estany de Banyoles a partir dels bacteris resistents trobats en el primer experiment.

5. MATERIAL.





Paper d'alumini



Aigua destil·lada



Filtres de xeringa



Hidroxid de sodi



Espàtula i pines



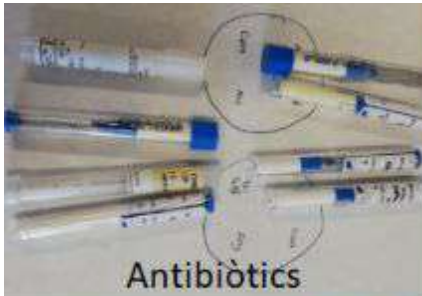
Plaques de Petri



Guants



Erlenmeyer



Antibiòtics



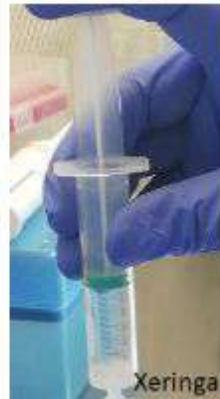
Agitador i agitador magnètic



Balança anal·ítica



Ringer



Xeringa

6. PRIMERA PART.

6.1. Pregunta.

- Influeix l'ésser humà en l'aparició de bacteris resistents a les aigües de l'Estany de Banyoles?

Per poder contestar la pregunta anterior, s'hauran d'agafar mostres d'aigua de l'Estany de Banyoles per poder analitzar els bacteris que hi hagi. Les mostres s'agafaran en dues zones diferents, una zona on hi sol haver activitat humana com és el cas de la Caseta de Fusta, on s'hi pot nedar i una zona on no hi ha activitat humana, en aquest cas s'ha escollit l'aigua del costat de la Llacuna dels Amaradors, un lloc protegit on no s'hi pot nedar. Tal com s'indicarà posteriorment, la zona de la Caseta de Fusta s'anomenarà zona impactada (I) i la zona de la Llacuna dels Amaradors, zona no impactada (NI). Quan l'aigua de les dues zones diferents sigui analitzada, es podrà fer una comparació entre la quantitat de bacteris resistents que s'hi trobaràn a cada zona i es respondrà la pregunta a la qual es vol donar resposta. Per analitzar l'aigua s'hauran de fer tot un seguit de procediments per tal d'obtenir diverses concentracions i poder-ne calcular resultats. Es buscaran les concentracions de bacteris totals en les dues zones i d'aquesta manera es sabrà on hi ha més bacteris. També la concentració de bacteris coliforms (indicadors de contaminació d'aigua) i d'*E. coli* (bacteri que es troba en el tracte intestinal dels animals homeotermes) en cada una de les zones. I finalment, la concentració d'*E. coli* resistent a dos antibiòtics diferents, l'ampicil·lina i la ciprofloxacina en cada zona. Amb aquestes últimes concentracions es podrà saber en quina zona hi ha més bacteris resistents.

6.2. Hipòtesis.

- Potser les aigües exposades a l'activitat humana contenen més bacteris resistents que les aigües on no hi ha activitat humana.
- Potser els humans afavorim l'aparició de bacteris resistents a les aigües de Banyoles.

6.3. Procediment.

Preparar medis de cultiu:

Per tal de poder estudiar els bacteris de les aigües de l'Estany de Banyoles, aquests han de ser visibles en forma de colònies dins les plaques de Petri. Per aconseguir-ho, les plaques de Petri han de proporcionar un ambient adequat i contenir nutrients per fer que els bacteris es reproduïxin.

Els nutrients es troben en els medis de cultiu¹. N'hi ha de molts tipus, durant els experiments s'ha n'han fet servir 5 de diferents amb les quantitats indicades a continuació:

200 ml de PCA	150 ml de PCA (x2)	300 ml de PCA
150 ml de MLGA (x2)	200 ml de MH	200 ml de LB+Agar

- PLATE COUNT AGAR (PCA):

- Mesurar 150 ml d'aigua destil·lada amb una proveta i abocar-la dins un erlenmeyer.
- Calcular quants grams de PCA es necessiten per aconseguir 150 ml de medi de cultiu.

23,5 g PCA/l aigua destil·lada.*

$$150 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{23,5 \text{ g PCA}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 3,525 \text{ g PCA}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta de l'envàs del medi de cultiu.

Instrucciones: Suspensa 23,5 g del polvo en 1 L de agua purificada. Mezcla bien. Caliente agitando.



- Pesar 3,525 g de PCA amb una balança i abocar-los dins l'erlenmeyer.
- Posar dins l'erlenmeyer un agitador magnètic.
- Barrejar la mescla amb l'agitador².
- Tapar el pot amb paper d'alumini i un tall de cinta d'autoclau.
- Posar l'erlenmeyer a l'autoclau³.
- Repetir els passos per tal d'obtenir 150 ml més de PCA en un erlenmeyer diferent.

- Repetir els passos però mesurant 200 ml d'aigua i 4,7 g de PCA.

23,5 g PCA/l aigua destil·lada.*

$$200 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{23,5 \text{ g PCA}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 4,7 \text{ g PCA}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta de l'envàs del medi de cultiu.

- Repetir els passos però mesurant 300 ml d'aigua i 7,05 g de PCA.

23,5 g PCA/l aigua destil·lada.*

$$300 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{23,5 \text{ g PCA}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 7,05 \text{ g PCA}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta de l'envàs del medi de cultiu.

- MEMBRANE LACTOSE GLUCURONIDE AGAR (MLGA):

- Mesurar 150 ml d'aigua destil·lada amb una proveta i abocar-la dins un erlenmeyer.
- Calcular quants grams de MLGA es necessiten per aconseguir 150 ml de medi de cultiu.

88 g MLGA/l aigua destil·lada.*

$$150 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{88 \text{ g PCA}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 13,2 \text{ g MLGA}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta de l'envàs del medi de cultiu.

Opslem 88 g i 1 liter destilleret vand
sænkpunktet for at opløses. Steriliseres



- Pesar 13,2 g de MLGA amb una balança i abocar-los dins l'erlenmeyer.
- Posar dins l'erlenmeyer un agitador magnètic.
- Barrejar la mescla amb l'agitador.
- Tapar el pot amb paper d'alumini i un tall de cinta d'autoclau.
- Posar l'erlenmeyer a l'autoclau.
- Repetir els passos per tal d'obtenir 300 ml en dos erlenmeyers diferents.

- LURIA BERTANI (LB) + Agar:*

- Mesurar 200 ml d'aigua destil·lada amb una proveta i abocar-la dins un erlenmeyer.
- Calcular quants grams de LB+Agar es necessiten per aconseguir 200 ml de medi de cultiu.

15 g LB/l aigua destil·lada.*
15 g Agar/l aigua destil·lada.*

$$200 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{15 \text{ g LB}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 3 \text{ g LB}$$

$$200 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{15 \text{ g LB}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 3 \text{ g LB}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta dels envasos del caldo (LB) i dels nutrients (Agar).



- Pesar 3 g de LB i 3 g d'agar amb una balança i abocar-los dins l'erlenmeyer.
- Posar dins l'erlenmeyer un agitador magnètic.
- Barrejar la mescla amb l'agitador.
- Tapar el pot amb paper d'alumini i un tall de cinta d'autoclau.
- Posar l'erlenmeyer a l'autoclau.

* Com que LB és un caldo de cultiu, es necessita afegir Agar en preparar-ho per a aconseguir un medi de cultiu sòlid.

- MUELLER HINTON AGAR (MH):

- Mesurar 200 ml d'aigua destil·lada amb una proveta i abocar-la dins un erlenmeyer.
- Calcular quants grams de MH es necessiten per aconseguir 200 ml de medi de cultiu.

38 g MH/l aigua destil·lada.*

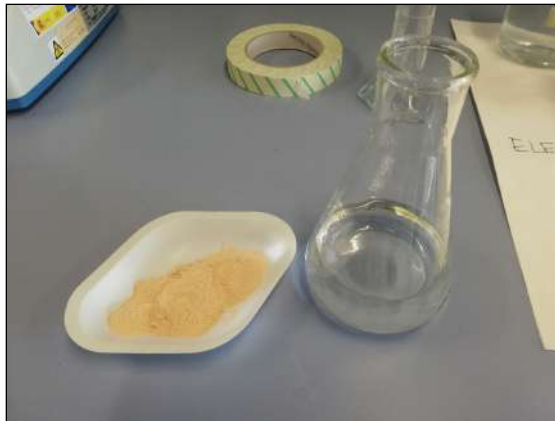
$$200 \text{ ml aigua destil·lada} \cdot \frac{38 \text{ g MH}}{1000 \text{ ml aigua destil·lada}} = 7,6 \text{ g MH}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar el medi de cultiu per cèl·lules procariotes. Informació extreta de l'envàs del medi de cultiu.

38 g in 1 L aqua dest.
aufkündigen Lösen erhitze



- Pesar 7,6 g de MH amb una balança i abocar-los dins l'erenmeyer.
- Posar dins l'erenmeyer un agitador magnètic.
- Barrejar la mescla amb l'agitador.
- Tapar el pot amb paper d'alumini i un tall de cinta d'autoclau.
- Posar l'erenmeyer a l'autoclau.



Preparar solucions amb antibiòtic:

Una vegada obtinguts els diferents medis de cultiu líquids necessaris per poder treballar, caldrà afegir-hi solucions antibiòtiques en alguns per poder investigar si hi ha bacteris resistents en les aigües de l'Estany de Banyoles. Els antibiòtics utilitzats seran l'ampicil·lina i la ciprofloxacina. Caldrà preparar-ne les solucions per tal d'afegir-les posteriorment al medi de cultiu.

Les solucions es preparen de la següent manera:

- Pesar en una safata petita 33,3 mg* de ciprofloxacina i en una altra 100 mg* d'ampicil·lina amb una balança analítica⁴.
- Formar una barreja homogènia de cada antibiòtic tot afegint-hi 2,5 ml* i 5 ml* d'aigua respectivament amb la pipeta electrònica⁵ i barrejar-ho.
 - A la mescla de ciprofloxacina, cal afegir-hi 0,3 ml d'hidròxid de sodi per tal que sigui homogènia.
- Afegir les mescles dins de dues xeringues connectades a un filtre.
- Abocar les dissolucions d'antibiòtics filtrades dins dos tubs d'assaig diferents.

* Els mg i els ml que s'han utilitzat per fer les dissolucions han estat establerts per tal de fer les dissolucions a una certa concentració per evitar gastar massa antibiòtic o haver de posar-ne massa poc i poder produir errors en la mesura.



Emplenar plaques de Petri:

Un cop els medis de cultiu estan autoclavats i s'han preparat les solucions antibiòtiques, aquestes s'han de barrejar amb els medis de cultiu corresponents. Seguidament s'han d'emplenar ràpidament les plaques de Petri abans que els medis se solidifiquin. Acabat aquest procediment ja tindrem les plaques (amb medi de cultiu i amb o sense antibiòtic) llestes per sembrar.

- Emplenar plaques de Petri amb diversos medis de cultiu (PCA, MLGA, LB+Agar, MH) sense antibiòtic:
 - Treure els erlenmeyers amb els medis de cultiu líquids de l'autoclau amb un guant protector.
 - Treure els papers d'alumini que tapen els erlenmeyers.
 - Emplenar les plaques de Petri amb els medis de cultiu encara líquids fins a la meitat, el que equival a uns 10-15 ml de medi de cultiu per placa.
 - Deixar que se solidifiquin els medis de cultiu.
 - Posar les plaques de Petri en diverses bosses tot classificant-les segons el medi de cultiu que contenen.
 - Deixar les bosses a la nevera.



- Emplenar plaques de Petri amb diversos medis de cultiu (PCA i MLGA) i ampil·lina:

- Calcular el volum d'ampil·lina que s'ha d'afegir als medis de cultiu per tal que, si creixen bacteris a les plaques després de sembrades, es pugui afirmar que aquests són resistents a l'antibiòtic:

32 mg ampil·lina/l d'H₂O*

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f \text{ (Concentració inicial} \cdot \text{Volum inicial} = \text{Concentració final} \cdot \text{Volum final)}$$
$$V_i = \frac{C_f \cdot V_f}{C_i}$$

$$V_i = \frac{32 \text{ mg} / 1000 \text{ ml} \cdot 150 \text{ ml}}{100 \text{ mg} / 5 \text{ ml}} = \frac{4,8 \text{ mg}}{20 \text{ mg/ml}} = 0,24 \text{ ml} = \mathbf{240 \mu\text{l}}$$

* Concentració mínima que ha de superar un bacteri per tal de ser resistent a l'antibiòtic ampil·lina. Extret de: Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; 2014; p.228.

- Treure els erlenmeyers amb els medis de cultiu líquids de l'autoclau amb un guant protector.
- Treure els papers d'alumini que tapen els erlenmeyers.
- Afegir a cada erlenmeyer 1 ml que conté 240 μl de la dissolució d'ampil·lina i la resta aigua.*
- Barrejar.
- Emplenar les plaques de Petri amb els medis de cultiu + ampil·lina.
- Deixar que se solidifiquin.
- Posar les plaques de Petri en diverses bosses tot classificant-les segons el medi de cultiu que contenen.
- Deixar les bosses a la nevera.

* D'aquesta manera l'antibiòtic es pot homogeneïtzar millor.

- Emplenar plaques de Petri amb diversos medis de cultiu (PCA i MLGA) i ciprofloxacina:

- Calcular el volum de ciprofloxacina que s'ha d'afegir al medi de cultiu per tal que, si creixen bacteris a les plaques després de sembrades, es pugui afirmar que aquests són resistents a l'antibiòtic:

4 mg ciprofloxacina/l d'H₂O*

$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f$ (Concentració inicial · Volum inicial = Concentració final · Volum final)

$$V_i = \frac{C_f \cdot V_f}{C_i}$$

$$V = \frac{4 \text{ mg} / 1000 \text{ ml} \cdot 150 \text{ ml}}{33,3 \text{ mg} / 2,5 \text{ ml}} = \frac{0,6 \text{ mg}}{13,32 \text{ mg/ml}} = 0,045 \text{ ml} = 45 \mu\text{l}$$

* Concentració mínima que ha de superar un bacteri per tal de ser resistent a l'antibiòtic ciprofloxacina. Extret de: Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; 2014; p.228.

- Treure els erlenmeyers amb els medis de cultiu líquids de l'autoclau amb un guant protector.
- Treure els papers d'alumini que tapen els erlenmeyers.
- Afegir a cada erlenmeyer 1 ml que conté 45 μl de la dissolució de ciprofloxacina i la resta aigua.*
- Barrejar.
- Emplenar les plaques de Petri amb els medis de cultiu + ciprofloxacina.
- Deixar que se solidifiquin.
- Posar les plaques de Petri en diverses bosses tot classificant-les segons el medi de cultiu que contenen.
- Deixar les bosses a la nevera.

* D'aquesta manera l'antibiòtic es pot homogeneïtzar millor.



Agafar mostres d'aigua de l'Estany de Banyoles:

Una vegada s'han preparat totes les plaques de Petri que es necessitaran, s'han d'agafar les mostres d'aigua de les dues zones comentades anteriorment.

- Emplenar 3 recipients* d'un litre d'aigua de la Caseta de Fusta.
- Emplenar 3 recipients* d'un litre d'aigua del costat de la Llacuna dels Amaradors.

* S'emplenen 3 recipients de cada zona amb uns dos metres de distància entre ells per tal de fer rèpliques.



Fig. 24

Preparar la dissolució de Ringer:

La dissolució de Ringer⁶ s'ha de preparar per poder ser utilitzada en fer les dilucions i en filtrar les mostres. En les dilucions servirà com a medi en el qual s'afegirà el mil·lilitre procedent de la mostra o de la dilució anterior. En la filtració de mostres servirà per afegir-lo al filtrador abans de filtrar. D'aquesta manera hi haurà prou quantitat de líquid perquè els bacteris quedin ben distribuïts en el filtre. La dissolució de Ringer es prepara de la següent manera:

- Mesurar 500 ml d'aigua amb una proveta i abocar-la dins un recipient.
- Calcular quants grams de Ringer es necessiten per tal d'obtenir 500 ml de dissolució de Ringer:

2,5 g Ringer/l H₂O.*

$$500 \text{ ml d'H}_2\text{O} \cdot \frac{2,5 \text{ g Ringer}}{1000 \text{ ml d'H}_2\text{O}} = 1,25 \text{ g Ringer}$$

* Concentració a la qual s'ha de preparar la dissolució salina. Informació extreta de l'envàs del producte.

dissolve 2,5 g of powder in 1L



- Mesurar 1,25 g de Ringer amb una balança i abocar-los dins el recipient.
- Tapar el recipient amb el seu tap però no del tot i enganxar-hi un tall de cinta d'autoclau.
- Posar el recipient a l'autoclau.

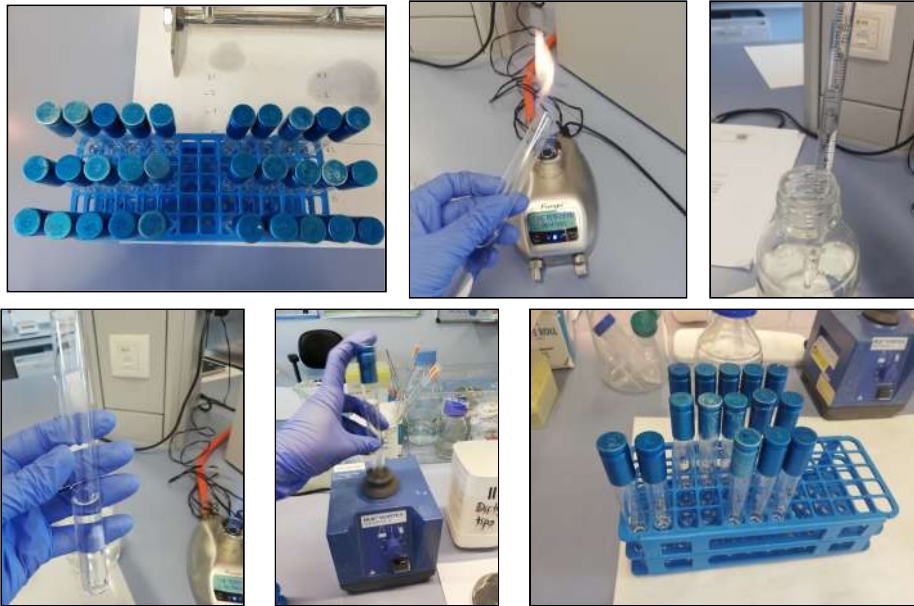
Fer dilucions de les mostres d'aigua:

Abans de poder filtrar les mostres s'han de fer dilucions d'aquestes, ja que en l'aigua hi sol haver 10^6 ufc/l (unitats formadores de colònies/ litre). Així que, perquè es formin entre 15-150 colònies de bacteris (interval de colònies establert per no produir molts errors en el recompte) en les plaques de Petri, es necessiten fer dilucions. Es faran dilucions fins a 10^{-5} .

- Posar 30 tubs d'assaig amb els seus taps corresponents en una gradeta.
- Autoclavar els tubs.
- Afegir a cada tub 9 ml de Ringer amb una pipeta i una prepipeta.
- Classificar els tubs en 6 files de 5 tubs cada una.
- Marcar tres files com a dilucions de mostres de la zona no impactada i tres més com a dilucions de mostres de la zona impactada.
- Afegir al primer tub de cada fila un mil·lilitre de la mostra corresponent utilitzant una pipeta electrònica.
- Barrejar el contingut del tub amb el vòrtex⁷.
- Llençar la punta de pipeta i agafar-ne una de nova.
- Agafar un mil·lilitre del tub anterior i afegir-lo al següent tub.
- Repetir els quatre últims passos fins a arribar al cinquè tub de cada fila.

Com a resultat obtindrem tubs amb dilucions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} de cada fila tant de la zona impactada com de la no impactada.

Cada vegada que s'obre o es tanca un tub s'ha de passar la boca del tub per la flama del Bec Bunsen per assegurar-se que no es contamina.



Filtrar les mostres d'aigua i les seves dilucions i sembrar les plaques:

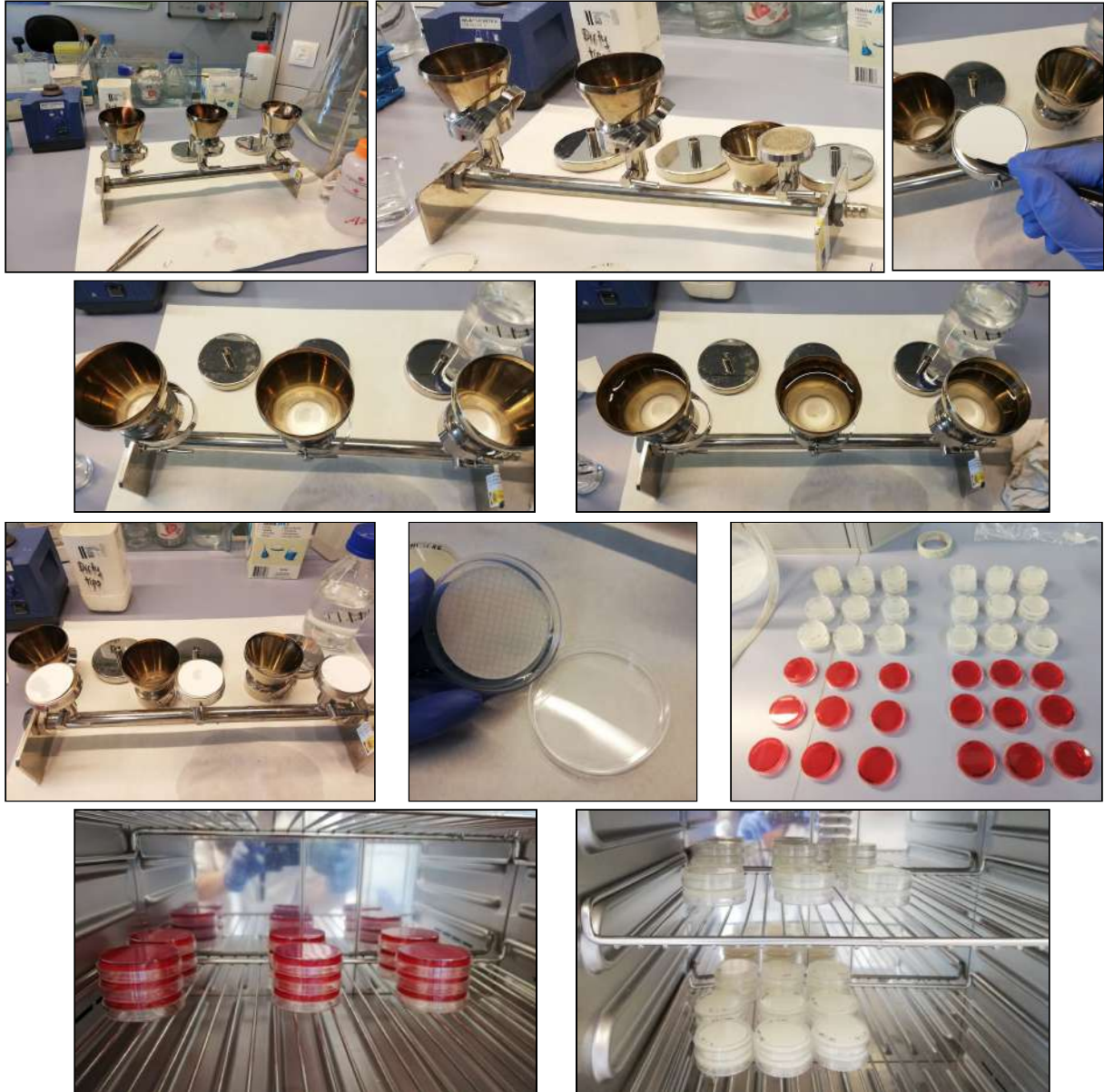
Un cop s'ha preparat tot el necessari (les plaques estan llestes per sembrar, s'han agafat les mostres, s'han fet les dilucions i s'ha preparat la dissolució de Ringer) es poden filtrar les mostres i les dilucions i posteriorment, es poden sembrar les plaques. En filtrar les mostres i les dilucions s'aconseguirà que els bacteris que hi ha a l'aigua es dipositin en els filtres i, en afegir el filtre dins les plaques de Petri, s'aconseguirà sembrar-les i els bacteris podran començar a créixer. Se sembren 78 plaques de Petri tal com indica la taula:

x3

		PLACA AMB MEDI					
		PCA			MLGA		
		sense Ab.	+ AMP	+ CIPRO	sense Ab.	+ AMP	+ CIPRO
M O S T R A D , A I G U A	I	1 ml 10 ⁰	1 ml 10 ⁻¹	1 ml 10 ⁻¹	50 ml 10 ⁰	100 ml 10 ⁰	100 ml 10 ⁰
		1 ml 10 ⁻¹					
		1 ml 10 ⁻²					
		1 ml 10 ⁻³	1 ml 10 ⁰	1 ml 10 ⁰			
		1 ml 10 ⁻⁴					
		1 ml 10 ⁻⁵					
	NI	1 ml 10 ⁰	1 ml 10 ⁻²	1 ml 10 ⁻²	100 ml 10 ⁰	100 ml 10 ⁰	100 ml 10 ⁰
		1 ml 10 ⁻¹					
		1 ml 10 ⁻²					
		1 ml 10 ⁻³	1 ml 10 ⁻¹	1 ml 10 ⁻¹			
		1 ml 10 ⁻⁴					
		1 ml 10 ⁻⁵					

- Netejar el filtrador⁸ amb alcohol, foc i aigua destil·lada.
- Treure les campanes del filtrador.
- Posar un filtre a cada filtrador amb unes pinces.
- Posar les campanes del filtrador.
- Afegir el volum que es vol filtrar seguint la taula anterior.
 - 1 ml de la dilució corresponent i uns 10 ml de dissolució de Ringer.
 - 100 ml o 50 ml de la mostra directa recollida a l'estany.
- Obrir les palanques i deixar filtrar l'aigua.
- Treure les campanes i els filtres.
- Sembrar les plaques de Petri tot col·locant-hi els filtres corresponents.

- Repetir els passos fins a sembrar totes les plaques de Petri.
- Posar les plaques de Petri dins les estufes bacteriològiques⁹.
 - Les plaques amb PCA a l'estufa de 30°C durant 48 h i després a la de 37°C durant 24 h.
 - Les plaques amb MLGA a la de 37°C durant 24 h.



Recompte de colònies en les plaques sembrades:

Un cop els bacteris han crescut es poden obtenir els resultats. Per tal de poder calcular la concentració de bacteris a l'Estany, s'han de comptar les colònies de bacteris que han crescut en les diverses plaques de Petri sembrades.

- Treure les plaques de Petri de les estufes bacteriològiques.
- Contar les colònies de cada placa i escriure els resultats.
- Fer els càlculs per representar els resultats en forma de concentració i percentatge.
- Fer gràfics per representar els resultats de manera més entenedora.



6.4. Resultats.

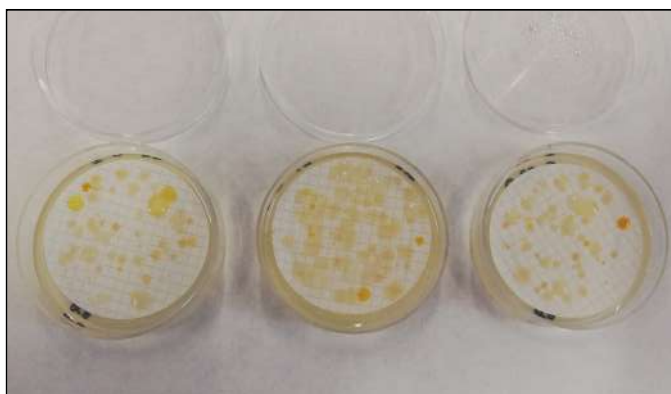
Les concentracions dels resultats han estat calculades amb la següent fórmula: $[] = N^{\circ} \text{ colònies} / (\text{Dilució} \cdot V)$

MEDI PCA

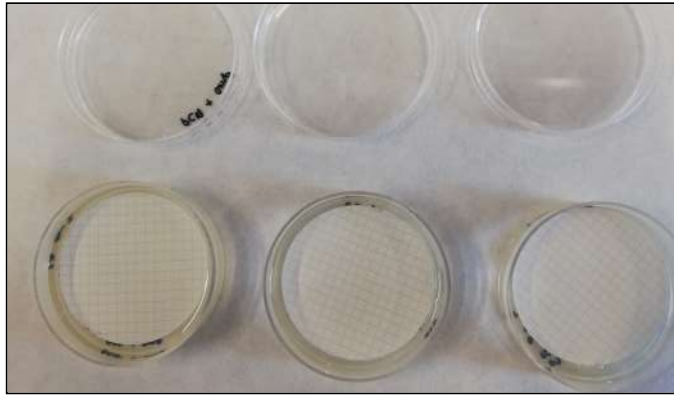
En les següents taules es calculen les concentracions i els percentatges de bacteris aerobis totals, és a dir, tots els bacteris que hi havia a les mostres.

Les columnes en gris no s'han tingut en compte a l'hora de calcular les concentracions perquè per fer la concentració només necessitem els resultats d'una dilució. S'ha agafat la dilució que ha format entre 15-150 colònies a les plaques o que s'hi ha acostat més. Les fotografies mostren les plaques de la dilució que s'ha agafat per calcular.

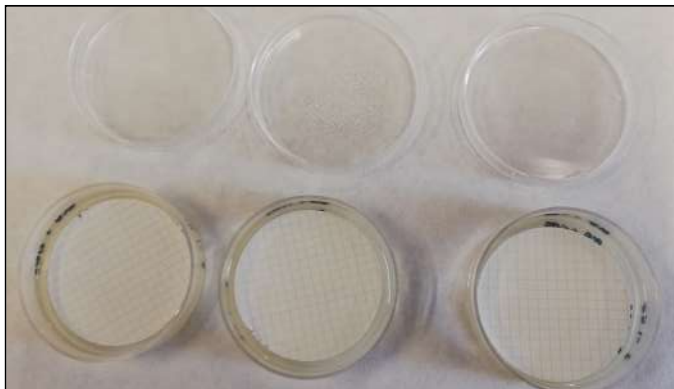
MEDI PCA, ZONA IMPACTADA



SENSE ANTIBIÒTIC								
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)
R1	108	2	2	0	3	0	1	108,00
R2	65	0	0	1	0	2	1	65,00
R3	70	0	1	2	1	0	1	70,00
							Mitjana:	81,00

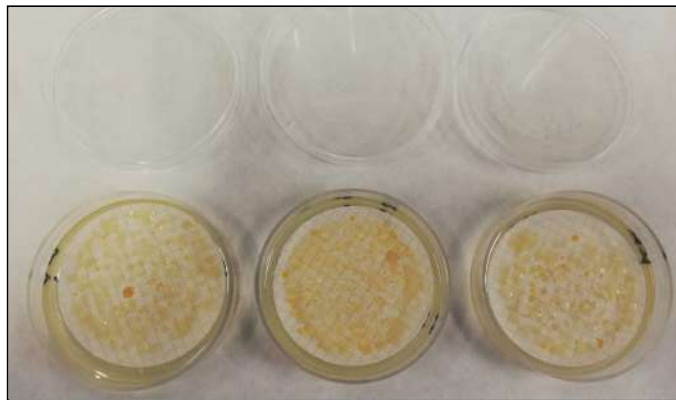


AMPICIL·LINA					
	10 ⁻¹	10 ⁻²	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)	% BACTERIS RESISTENTS
R1	0	1	1	0,00	4,12
R2	1	0	1	10,00	
R3	0	1	1	0,00	
Mitjana:				3,33	

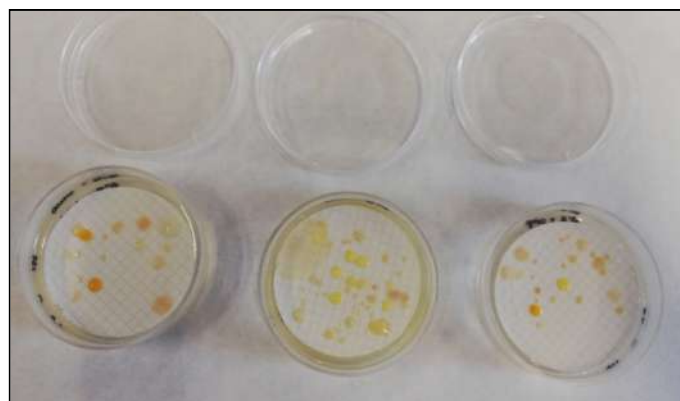


CIPROFLOXACINA					
	10 ⁻¹	10 ⁻²	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)	% BACTERIS RESISTENTS
R1	0	0	1	0,00	0
R2	0	0	1	0,00	
R3	0	1	1	0,00	
Mitjana:				0,00	

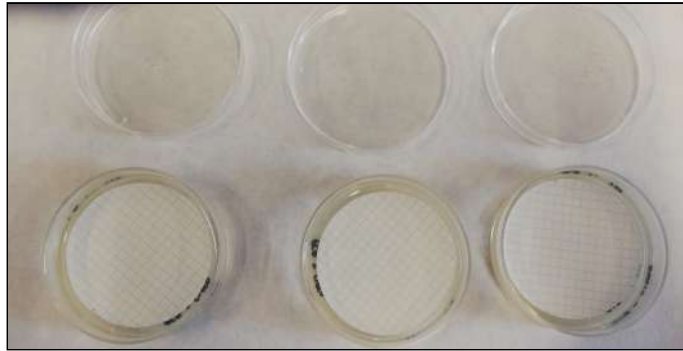
MEDI PCA, ZONA NO IMPACTADA



SENSE ANTIBIÒTIC								
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)
R1	162	1	1	2	2	0	1	162,00
R2	156	2	1	0	0	1	1	156,00
R3	150	0	0	0	0	1	1	150,00
							Mitjana:	156,00



AMPICIL·LINA					
	10 ⁰	10 ⁻¹	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)	%BACTERIS RESISTENTS
R1	17	4	1	17,00	21,15
R2	56	4	1	56,00	
R3	26	2	1	26,00	
				Mitjana:	33,00

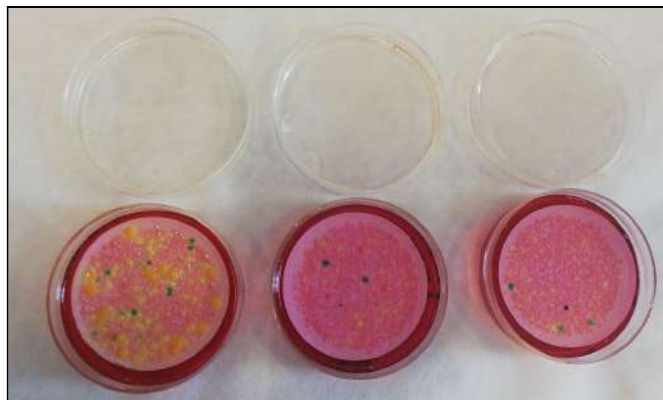


CIPROFLOXACINA					
	10 ⁻⁰	10 ⁻¹	VOLUM SEMBRA (ml)	CONC. (ufc/ml)	% BACTERIS RESISTENTS
R1	0	0	1	0,00	0
R2	0	0	1	0,00	
R3	0	0	1	0,00	
Mitjana:				0,00	

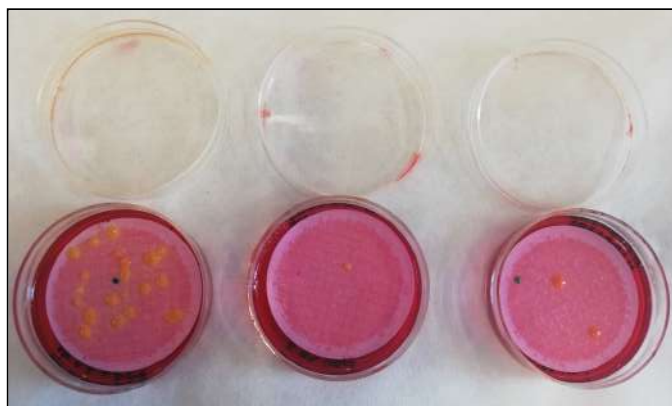
MEDI MLGA

En les següents taules es calculen les concentracions i els percentatges de bacteris coliforms i *E. coli*.

MEDI MLGA, ZONA IMPACTADA

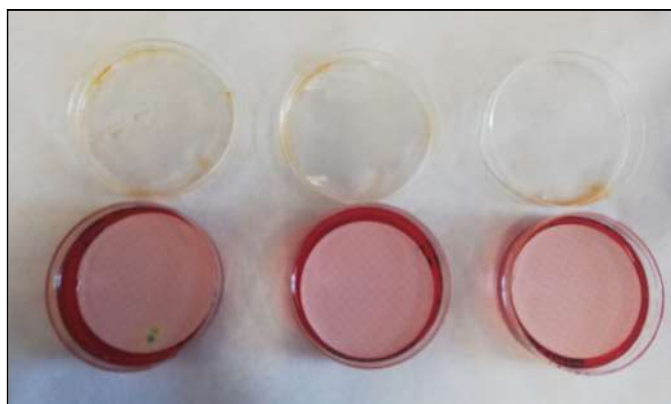


SENSE ANTIBIÒTIC					
	COLIFORMS (gros)	<i>E. coli</i> (verds)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc)/100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/100 ml
R1	92	15	50	214	30
R2	28	3	50	62	6
R3	55	4	50	118	8
Mitjanes:				131,33	14,67



AMPICIL·LINA

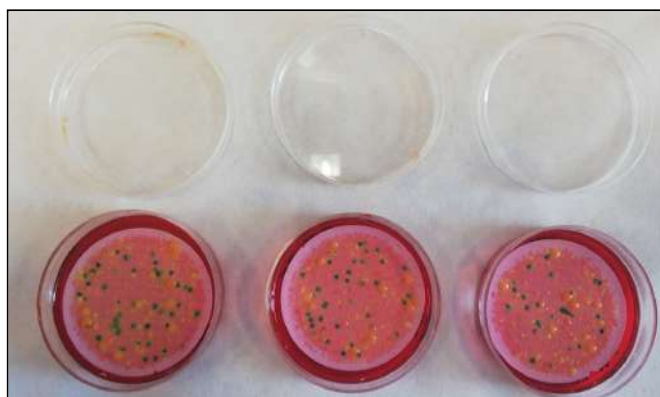
	COLIFORMS (grocs)	<i>E. coli</i> (verds)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc)/100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/100 ml	% COLIFORMS TOTALS RESISTENTS	% <i>E. coli</i> RESISTENT
R1	22	1	100	23	1	6,85	4,55
R2	1	0	100	1	0		
R3	2	1	100	3	1		
Mitjanes:				9,00	0,67		



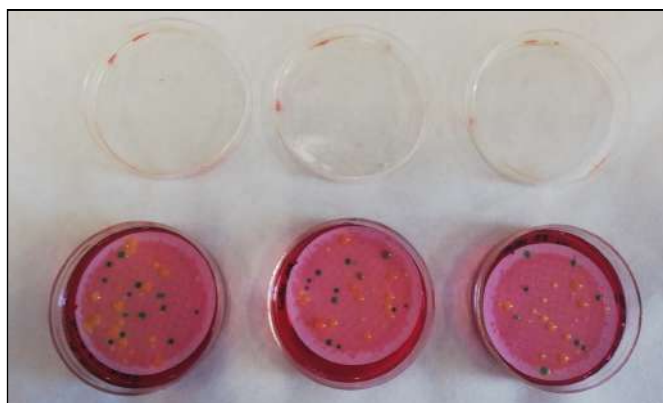
CIPROFLOXACINA

	COLIFORMS (grocs)	<i>E. coli</i> (verds)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc)/100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/100 ml	% COLIFORMS TOTALS RESISTENTS	% <i>E. coli</i> RESISTENT
R1	0	2	100	2	2	0,51	4,55
R2	0	0	100	0	0		
R3	0	0	100	0	0		
Mitjanes:				0,67	0,67		

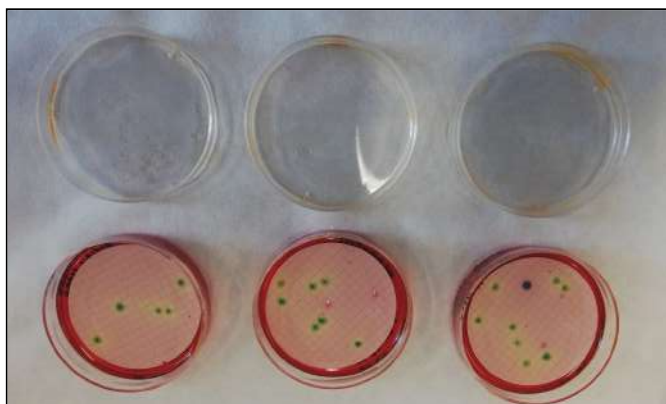
MEDI MLGA, ZONA NO IMPACTADA



SENSE ANTIBIÒTIC					
	COLIFORMS (GROCS)	<i>E. coli</i> (VERDS)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc)/100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/100 ml
R1	85	52	100	137	52
R2	69	36	100	105	36
R3	76	26	100	102	26
Mitjanes:				114,67	38,00

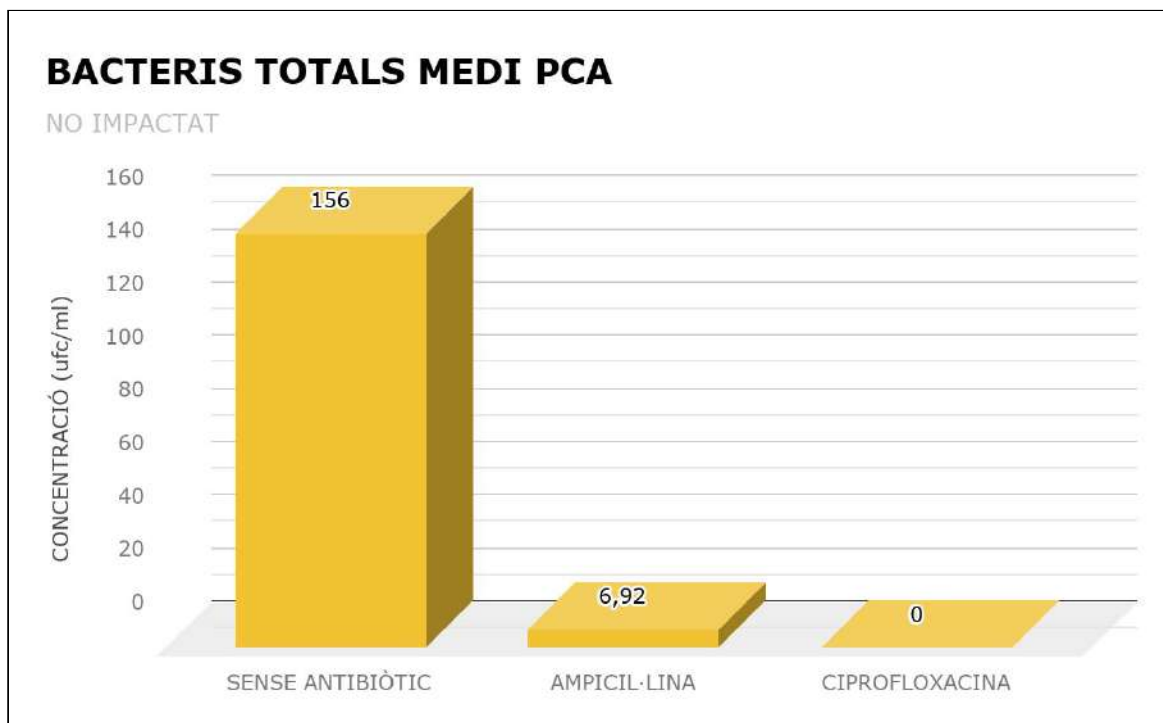
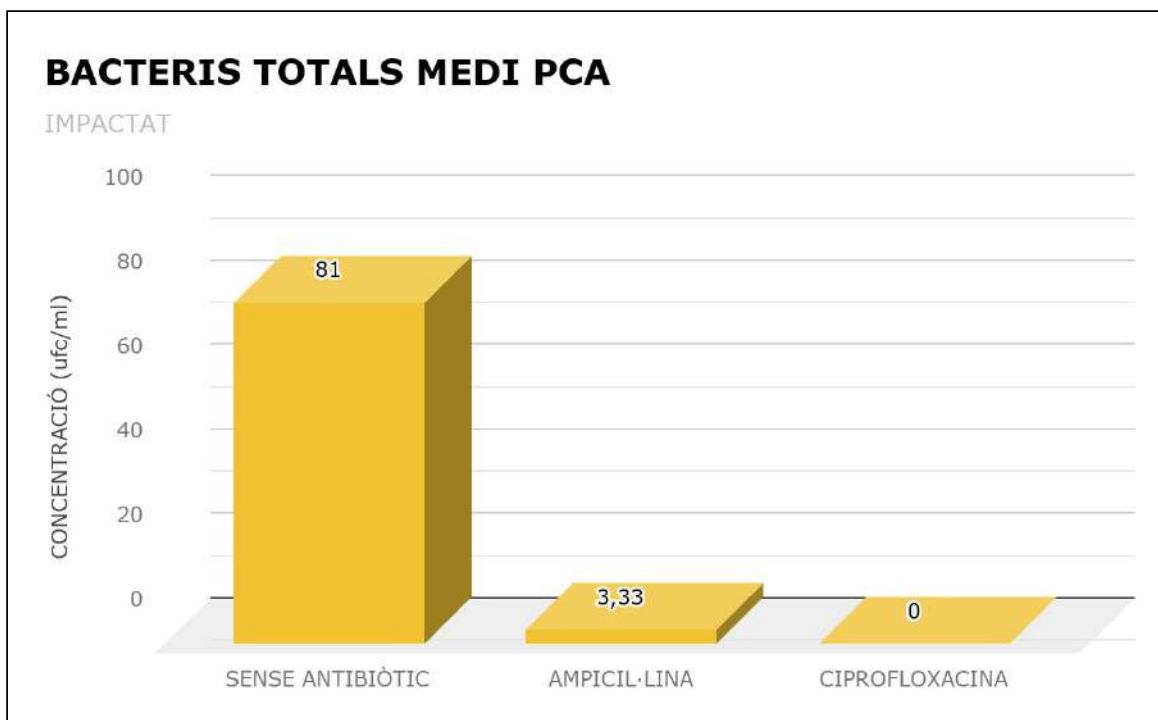


AMPICIL·LINA							
	COLIFORMS (grocs)	<i>E. coli</i> (verds)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc)/100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/100 ml	% COLIFORMS TOTALS RESISTENTS	% <i>E. coli</i> RESISTENT
R1	36	15	100	51	15	31,98	31,58
R2	20	13	100	33	13		
R3	18	8	100	26	8		
Mitjanes:				36,67	12,00		

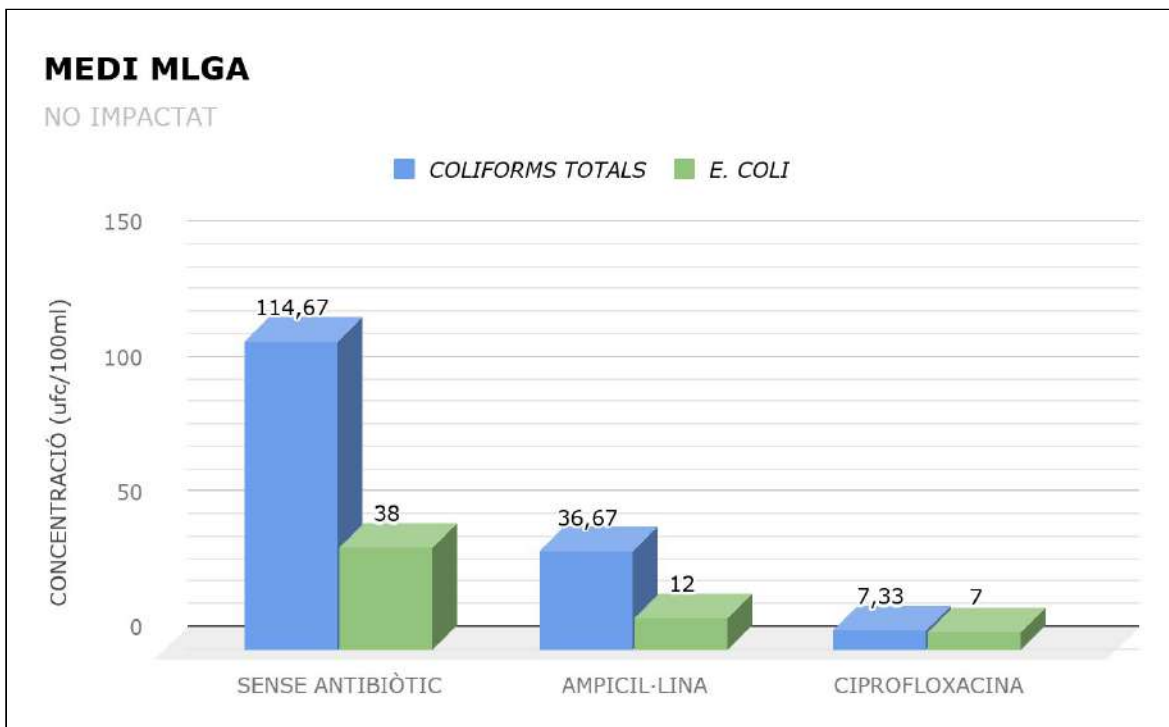
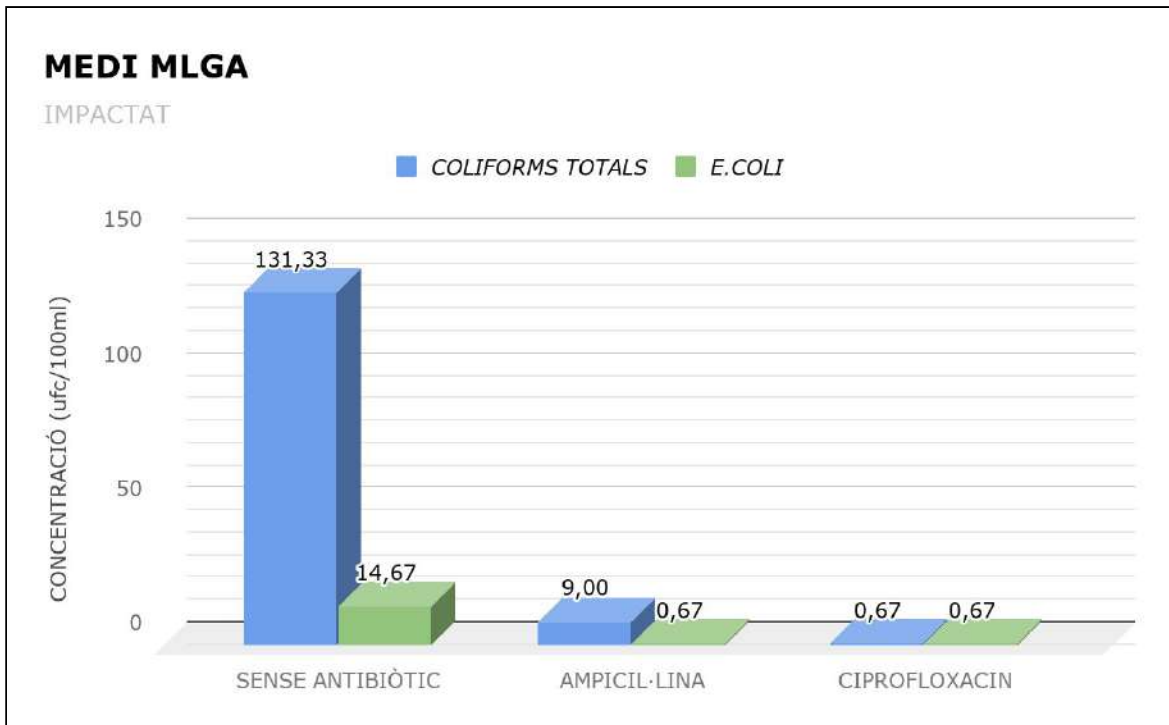


CIPROFLOXACINA							
	COLIFORMS (gros)	<i>E. coli</i> (verds)	VOLUM (ml)	COLIFORMS TOTALS (ufc) /100 ml	<i>E. coli</i> (ufc)/ 100 ml	% COLIFORMS TOTALS RESISTENTS	% <i>E. coli</i> RESISTENT
R1	0	9	100	9	9	6,40	18,42
R2	0	7	100	7	7		
R3	1	5	100	6	5		
Mitjanes:				7,33	7,00		

GRÀFICS



Hi ha més concentració de bacteris aerobis a les aigües de la zona no impactada. Hi ha més concentració de bacteris aerobis resistents a l'ampicil·lina a les aigües de la zona no impactada. No hi ha bacteris aerobis resistents a la ciprofloxacina en cap de les zones.

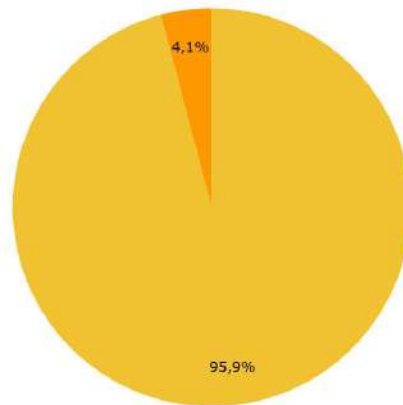


Tots els valors calculats menys els coliforms totals són majors en la zona no impactada. El valor de ufc. de coliforms totals és menor que el dels bacteris aerobis dels gràfics anteriors ja que els coliforms formen part d'aquest grup entre altres espècies. El valor de les ufc. d'*E. coli* sempre és menor que el dels coliforms totals perquè *E. coli* forma part d'aquest grup entre altres espècies.

BACTERIS TOTALS MEDI PCA

IMPACTAT

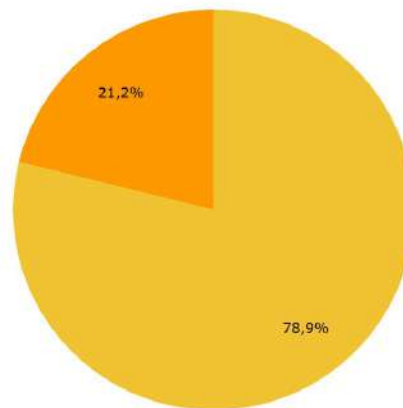
- BACTERIS TOTALS NO RESISTENTS
- BACTERIS TOTALS RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA



BACTERIS TOTALS MEDI PCA

NO IMPACTAT

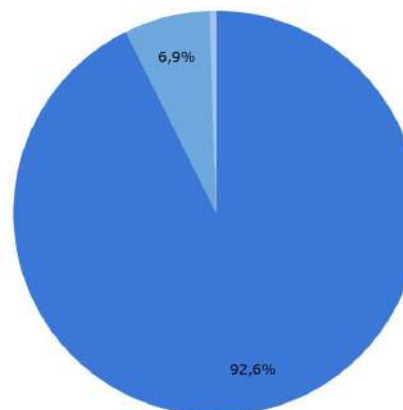
- BACTERIS TOTALS NO RESISTENTS
- BACTERIS TOTALS RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA



COLIFORMS MEDI MLGA

IMPACTAT

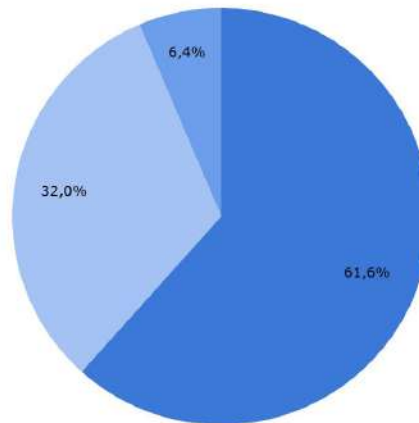
- COLIFORMS NO RESISTENTS
- COLIFORMS RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA
- COLIFORMS RESISTENTS A LA CIPROFLOXACINA



COLIFORMS MEDI MLGA

NO IMPACTAT

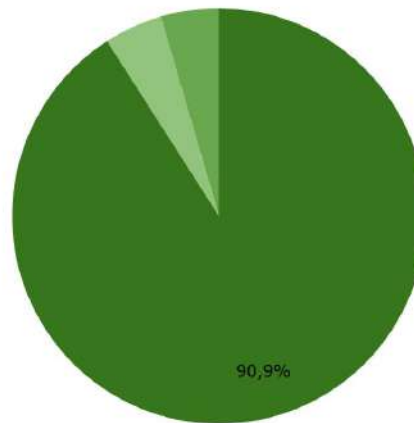
- COLIFORMS NO RESISTENTS
- COLIFORMS RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA
- COLIFORMS RESISTENTS A LA CIPROFLOXACINA



E.COLI MEDI MLGA

IMPACTAT

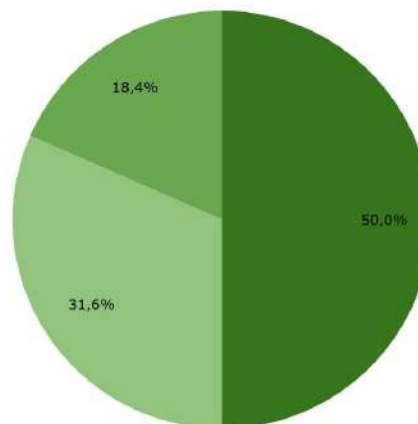
- E.COLI NO RESISTENTS
- E.COLI RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA
- E.COLI RESISTENTS A LA CIPROFLOXACINA



E.COLI MEDI MLGA

NO IMPACTAT

- E.COLI NO RESISTENTS
- E.COLI RESISTENTS A L'AMPICIL-LINA
- E.COLI RESISTENTS A LA CIPROFLOXACINA



El % de bacteris resistents sempre és major en la zona no impactada.

7. SEGONA PART.

7.1. Pregunta.

- Quin és el patró de resistència de les *E. coli* resistents que s'han trobat a les aigües de l'Estany de Banyoles?

Per tal de respondre la pregunta s'ha hagut de dur a terme el primer experiment perquè per contestar-la s'ha de treballar amb els bacteris cultivats a la primera part.

S'han escollit 4 plaques del primer experiment. Les plaques contenen bacteris *E. coli* cultivats amb medi MLGA més antibiòtic, de manera que els bacteris que hi ha en aquestes són resistents a l'antibiòtic que hi ha a la placa.

Les plaques escollides són:

PLACA	LLOC	PLACA DE PETRI
1	NI	Medi MLGA + Ampicil·lina
2	NI	Medi MLGA + Ciprofloxacina
3	I	Medi MLGA + Ampicil·lina
4	I	Medi MLGA + Ciprofloxacina

Un patró de resistència, en aquest cas, ens informarà sobre la sensibilitat o la resistència dels bacteris *E. coli* enfront alguns antibiòtics. Es treballarà amb 8 antibiòtics diferents (vegeu Annex 1), que han estat escollits de manera que n'hi hagi almenys un de cada família important d'antibiòtics. Per saber si un antibiòtic és eficaç o no, s'han de fer antibiogrames¹².

7.2. Hipòtesis.

- Potser les soques de bacteris que provenen de les plaques 1 i 3 són resistents a l'ampicil·lina.
- Potser les soques de bacteris que provenen de les plaques 2 i 4 són resistents a la ciprofloxacina.
- Potser totes les soques de bacteris són resistents a l'antibiòtic vancomicina.

7.3. Procediment.

Fer els aïllaments:

Per tal de poder fer antibiogrames correctament es necessiten plaques de Petri sembrades amb colònies pures. Els aïllaments serveixen per assegurar que es puguin fer els antibiogrames amb colònies pures, és a dir, colònies de bacteris procedents d'un mateix bacteri. Es fan quatre aïllaments de les plaques escollides. Posteriorment es tornen a fer quatre aïllaments dels aïllaments.

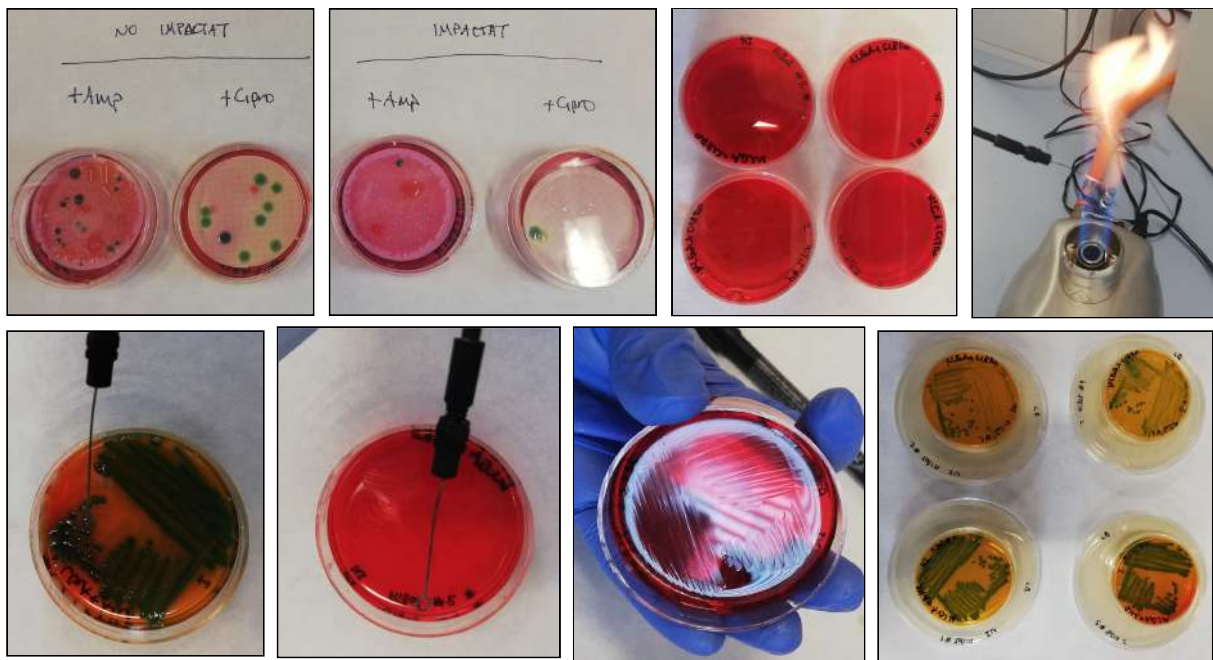
AÏLLAMENT	EXTRET DE		
	PLACA	LLOC	PLACA DE PETRI
Aïllament #1	1	NI	Medi MLGA + Ampicil·lina
Aïllament #2	2	NI	Medi MLGA + Ciprofloxacina
Aïllament #3	3	I	Medi MLGA + Ampicil·lina
Aïllament #4	4	I	Medi MLGA + Ciprofloxacina

- Agafar 2 plaques de Petri del medi MLGA amb ampicil·lina i 2 més amb medi MLGA amb ciprofloxacina sense sembrar.
- Agafar les plaques inicials, és a dir, les quatre plaques amb *E. coli* resistent que s'indiquen a la taula.
- Sembrar cada placa amb una colònia de cada una de les plaques escollides. Procediment de sembra:
 - Cremar la nansa de Kölle¹⁰.
 - Picar amb la nansa de Kölle una colònia aïllada.
 - Arrossegar horitzontalment la nansa per sobre el medi de cultiu de la placa.
 - Cremar la nansa de Kölle.
 - Arrossegar verticalment la nansa per sobre el medi de cultiu de la placa.
 - Cremar la nansa de Kölle.

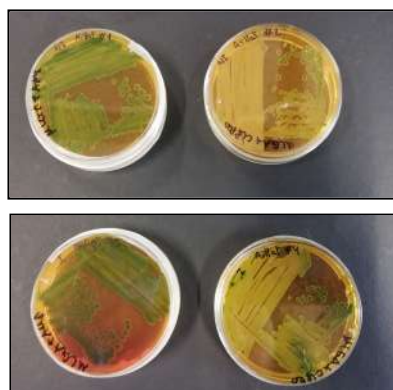
- Arrossegar horitzontalment la nansa per sobre el medi de cultiu de la placa.
- Deixar les plaques sembrades a l'estufa bacteriològica de 37°C durant 24 h.
- Posar les plaques d'on s'han extret les colònies a la nevera tancades amb paper parafilm¹¹.

Els aïllaments #2 i #4 s'han tornat a sembrar perquè el segon no contenia cap colònia i el quart en tenia masses i no en va sortir cap d'aïllada.

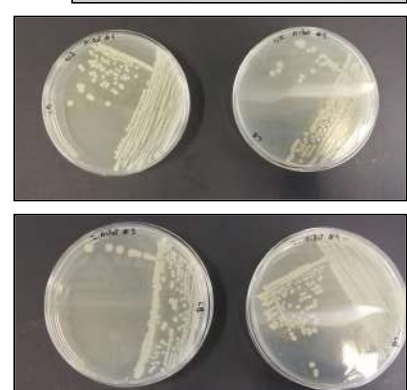
- Agafar les plaques on hi ha els primers aïllaments i 4 plaques de Petri amb medi LB, que serviran per poder passar les colònies en líquid.
- Sembrar cada placa amb una colònia aïllada de l'aïllament corresponent tot seguint els passos prèviament explicats.
- Posar els nous aïllaments a l'estufa bacteriològica de 37°C durant 24 h.
- Posar els primers aïllaments a la nevera tancats amb paper parafilm.



Primers aïllaments:



Segons aïllaments:



Sembrar la colònia pura en el medi de cultiu LB líquid:

Un cop tenim els segons aïllaments fets, es pot procedir a sembrar una de les colònies de cada aïllament en un medi de cultiu LB líquid. Aquest pas serveix per poder aconseguir una sembra homogènia en superfície, és a dir, aconseguir la mateixa concentració de bacteris en tota la superfície de la placa. Sense passar els bacteris en un cultiu líquid no es podria aconseguir i els antibiogrames no serien correctes.

- Agafar medi de cultiu LB líquid, els segons aïllaments i 5 tubs d'assaig.
- Afegir a cada tub d'assaig 5 ml de LB líquid amb una pipeta graduada.
- Sembrar 4 dels tubs d'assaig. El restant serà el control.
 - Picar amb la nansa de Kõlle una colònia de l'aïllament #1.
 - Introduir la nansa dins un tub d'assaig fins a tocar el medi líquid.
 - Rascar amb la nansa les parets del tub per assegurar que els bacteris no s'han quedat a la nansa.
 - Barrejar el contingut del tub amb el vòrtex durant 5 segons.
- Repetir l'últim pas fins a sembrar els 4 tubs, cada un amb una colònia de l'aïllament corresponent.
- Posar els tubs a l'estufa bacteriològica de 37°C durant 24 h.
- Guardar els aïllaments utilitzats a la nevera amb paper parafilm.

Cada vegada que s'obre o es tanca un tub s'ha de passar la boca del tub per la flama del Bec Bunsen per assegurar-se que no es contamina.



Acabats de sembrar:



Després de 24 h:

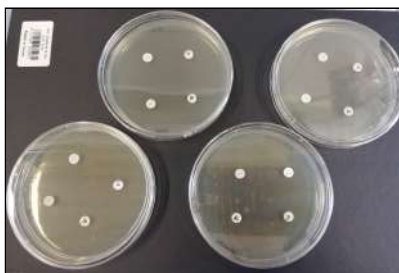
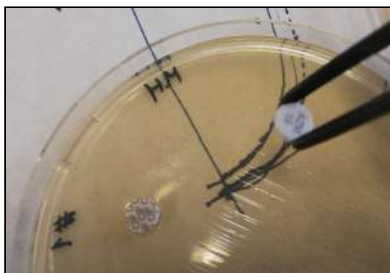


Fer els antibiogrames:

Abans de fer els antibiogrames s'han de diluir els cultius de LB líquids sembrats, ja que sinó, hi hauria massa bacteris en les plaques de Petri. Un cop fet, es poden sembrar les plaques de Petri amb medi de cultiu MH (medi de cultiu indicat per fer antibiogrames) i es poden afegir els discs d'antibiòtics. Els passos per fer els antibiogrames són els següents:

- Fer dilucions dels 4 cultius LB líquids sembrats el dia anterior.
 - Afegir a 4 tubs d'assaig 4,5 ml de Ringer amb una pipeta graduada.
 - Afegir a cada tub 0,5 ml del cultiu LB líquid corresponent amb una pipeta electrònica.
- Mullar una turunda dins una dilució.
- Fregar per la placa de Petri amb medi MH corresponent per tal de sembrar-la.
- Repetir els dos últims passos dos cops per cada dilució diferent.
- Afegir els discos d'antibiòtics¹³ a les plaques de Petri sembrades. *
 - Agafar un disc amb les pinces.
 - Dipositar-lo amb cura sobre el medi de cultiu.
- Posar les plaques dins l'estufa bacteriològica de 37°C durant 24 h.

* Afegir 4 discos d'antibiòtics a cada placa, separats els uns dels altres. Com que hi ha dues plaques de cada dilució, s'utilitzen 8 antibiòtics diferents.

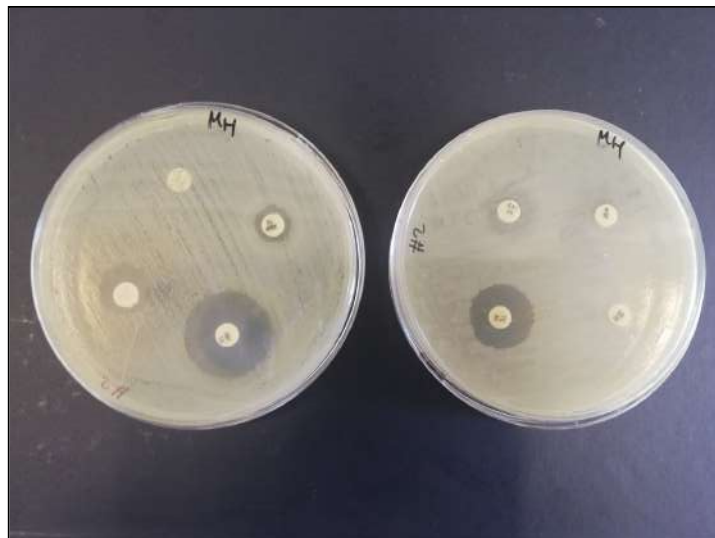


Observar els resultats dels antibiogrames:

Al deixar els antibiogrames a l'estufa bacteriològica els bacteris han pogut créixer sempre que no siguin sensibles a un dels antibiòtics. Per poder extreure resultats dels antibiogrames s'han de calcular els diàmetres dels halus.

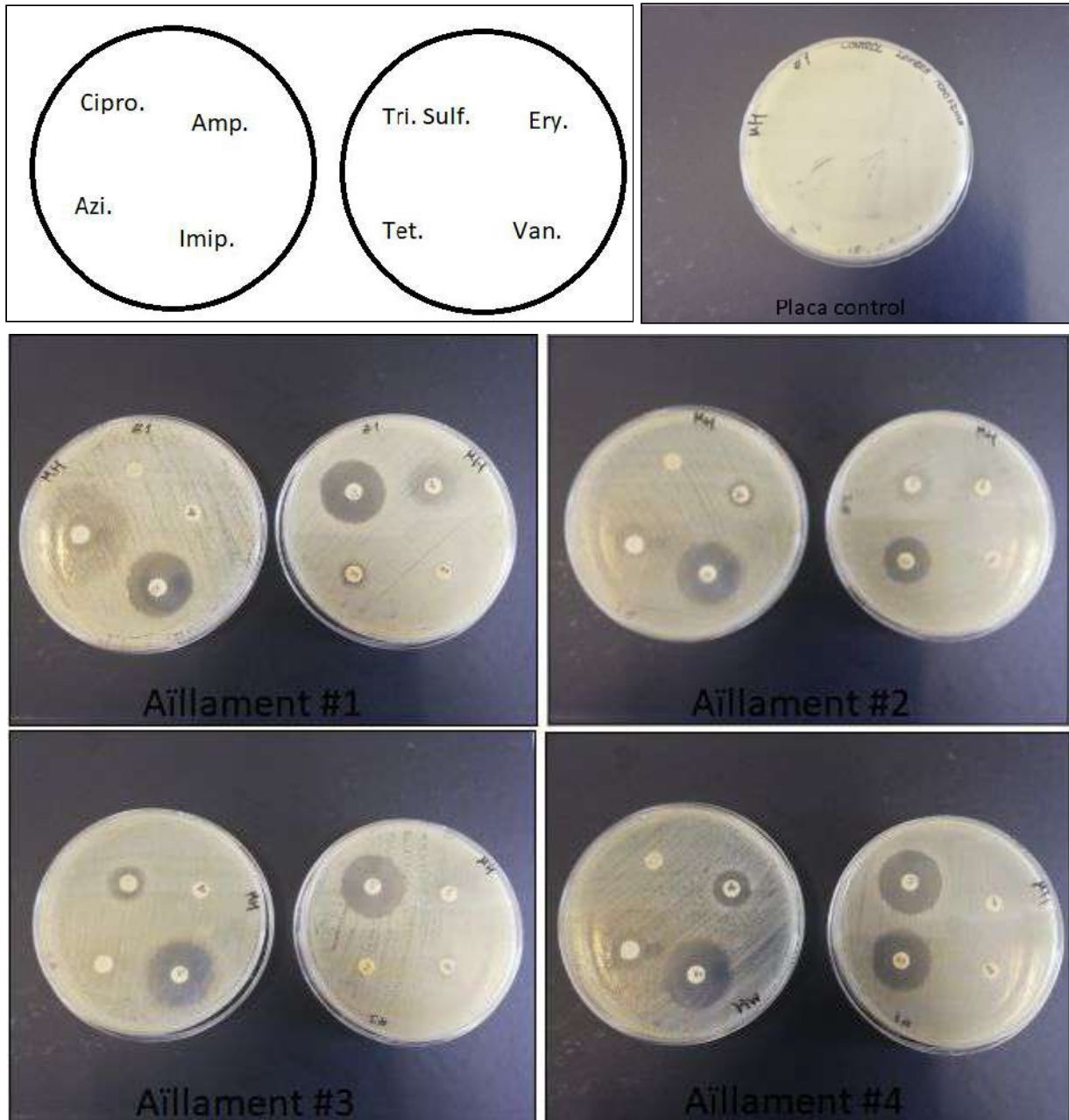
- Treure les plaques de Petri amb els antibiogrames de l'estufa bacteriològica.
- Calcular els diàmetres dels halus d'inhibició i anotar-los.
- Fer els càlculs per saber a quins antibiòtics té resistència l'*E. coli*.*
- Fer taules per representar els resultats de manera més entenedora.

* Els càlculs s'han fet a partir de la informació que hi ha a "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>."



7.4. Resultats.

En les següents fotografies es mostren els antibiogrames, la placa control i la posició dels antibiòtics en els diversos antibiogrames.



Com era d'esperar en la placa control el creixement de bacteris ha estat uniforme en tota la superfície perquè no s'hi ha afegit cap disc d'antibiòtic. En els aïllaments podem trobar halos d'inhibició al voltant d'alguns discs, el diàmetre dels quals ens indicaran si els bacteris són resistents o no per a cada antibiòtic diferent. Les següents taules donen aquestes informacions:

		DIÀMETRE DE L'HALUS			
		Aïllament #1	Aïllament #2	Aïllament #3	Aïllament #4
ANTIBIÒTICS	Amp. 10 µg	0 mm	10 mm	0 mm	14 mm
	Imip. 10 µg	24 mm	24 mm	26 mm	25 mm
	Cipro. 15 µg	0 mm	0 mm	9 mm	0 mm
	Azi. 15 µg	34 mm	13 mm	0 mm	14 mm
	Tet. 30 µg	8 mm	18 mm	0 mm	23 mm
	Van. 30 µg	7 mm	0 mm	7 mm	0 mm
	Tri. Sulf. 25 µg	25 mm	15 mm	26 mm	25 mm
	Ery. 15 µg	17 mm	0 mm	11 mm	0 mm

		Aïllament #1	Aïllament #2	Aïllament #3	Aïllament #4
ANTIBIÒTICS	Amp. 10 µg	Resistent	Resistent	Resistent	Sensible
	Imip. 10 µg	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
	Cipro. 15 µg	Resistent	Resistent	Resistent	Resistent
	Azi. 15 µg	Sensible	Resistent	Resistent	Resistent
	Tet. 30 µg	Resistent	Resistent	Resistent	Sensible
	Van. 30 µg	R. natural	R. natural	R. natural	R. natural
	Tri. Sulf. 25 µg	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
	Ery. 15 µg	Sensible	Resistent	Resistent	Resistent

La ciprofloxacina i la vancomicina (a la qual *E. coli* té resistència natural*) no són efectius per *E. coli*.

Només un dels quatre aïllaments no té resistència als antibiòtics eritromicina, azitromicina, ampicil·lina i tetraciclina.

Els antibiòtics imipenem i trimetoprim-sulfametoxazol són efectius pels quatre aïllaments de *E. coli*.

* La vancomicina actua sobre una estructura no present en *E. coli*.

8. Conclusions.

Després de realitzar els experiments i analitzar els resultats podem refusar les dues primeres hipòtesis i acceptar les dues últimes.

Les dues primeres eren:

- Potser les aigües exposades a l'activitat humana contenen més bacteris resistents que les aigües on no hi ha activitat humana.
- Potser els humans afavorim l'aparició de bacteris resistents a les aigües de Banyoles.

Estan relacionades amb la primera part i preveien que hi hauria més concentració de bacteris resistents a la zona impactada per l'acció humana. Aquestes hipòtesis es basaven en el fet que els humans podrien aportar a les aigües de l'Estany de Banyoles més bacteris resistents que els animals que hi habiten, ja que aquests no estan en contacte amb llocs on proliferen els bacteris (lavabos públics, hospitals...), ni amb animals de granja que poden ser vectors de bacteris resistents i tampoc amb antibiòtics. A més, la zona impactada és una zona on l'aigua no està molt neta i s'hi poden trobar multitud d'objectes humans, fet que va incentivar la formulació de la hipòtesi inicial. De la mateixa manera que s'hi poden trobar objectes, també és possible que s'hi trobin restes de femta on hi hauria els bacteris coliforms resistents. Però, com que els resultats no han resultat favorables per aquestes hipòtesis perquè els gràfics indiquen que la zona no impactada per l'acció humana conté moltes més colònies de bacteris resistents, s'ha hagut de buscar una explicació lògica que els expliqui.

Hi ha diversos punts que poden servir com a explicació:

- Els animals que habiten a l'Estany de Banyoles deixen anar les seves femtes a l'aigua i aquestes contenen bacteris coliforms. La diferència de bacteris coliforms entre les dues zones pot ser explicada per la multitud de femtes que es deixen diàriament a l'aigua de la zona no impactada.

- La zona no impactada d'on s'ha extret la mostra d'aigua es troba al costat de la Llacuna dels Amaradors, un lloc on proliferen les aus i els animals terrestres a part dels aquàtics. Això indica més quantitat de femta.
- Molts articles afirmen que algunes aus són portadores de bacteris resistents. Si aquestes aus habiten a l'Estany de Banyoles, segurament aporten bacteris resistents a les aigües.
- Tot i que la zona impactada per l'acció humana està força bruta, potser no hi ha restes de femta humana.

Cal destacar que la recollida de mostres es va fer a principis de juliol i l'aigua no havia estat gens exposada a l'acció humana fins a finals de juny, ja que, a l'hivern a la Caseta de Fusta no s'hi banya ningú. Per tant, si la recollida de mostres s'hagués dut a terme al setembre, després de tot un estiu on molta gent ha anat a banyar-hi, potser els resultats haurien sortit una mica diferents. Aquest experiment es podria dur a terme com a futura recerca.

Les tres hipòtesis correctes estan relacionades amb la segona part. Les hipòtesis deien:

- Potser les soques de bacteris que provenen de les plaques 1 i 3 són resistents a l'ampicil·lina.
- Potser les soques de bacteris que provenen de les plaques 2 i 4 són resistents a la ciprofloxacina.
- Potser totes les soques de bacteris són resistents a l'antibiòtic vancomicina.

Les dues primeres estaven basades en el fet que els bacteris que provenien de les plaques 1 i 3 eren resistents a l'ampicil·lina i els bacteris provinents de les plaques 2 i 4, ho eren a la ciprofloxacina. L'última es basava en el coneixement que l'*E.coli* té resistència natural a la vancomicina. Si els antibiogrames no haguessin mostrat el que diuen les hipòtesis hi hauria hagut un error en algun procediment.

En referència als altres cinc antibiòtics no s'han fet hipòtesis perquè haurien estat fetes a l'atzar.

Els resultats d'aquesta segona part són realment preocupants. Com podem comprovar, més de la meitat dels discs d'antibiòtics utilitzats no han afectat als bacteris. Només els antibiòtics imipenem i trimetoprim-sulfametoxazol han funcionat en els quatre aïllaments. S'ha de tenir en compte que l'imipenem és un carbapenem, un antibiòtic d'últim recurs. El fet que aquest funcioni completament és un bon senyal perquè si aquest no fos efectiu, no hi hauria manera de combatre el bacteri. Així i tot, no s'hauria d'arribar a utilitzar un carbapenem per combatre el bacteri sinó que un beta-lactàmic hauria de funcionar també.

Si comparem els aïllaments fets amb bacteris extrets de la zona no impactada amb els de la zona impactada, podem observar que la proporció de discs que no han estat efectius és el mateix en cada zona. A diferència de la gran variació que hi ha entre les dues zones pel que fa a nombre de bacteris, si parlem dels patrons de resistència no n'hi ha.

Finalment podem afirmar que els antibiòtics ampil·lina, ciprofloxacina, tetraciclina i vancomicina no són efectius per l'*E. coli* de la zona no impactada. I que els antibiòtics ciprofloxacina, vancomicina, azitromicina i eritromicina no són efectius per l'*E. coli* de la zona impactada.

I si els resultats no fossin prou alarmants, s'ha de pensar que els bacteris han estat extrets de les aigües de l'Estany de Banyoles, tant de la zona no impactada com de la impactada. Per tant, estem en ple contacte amb bacteris resistents als quals podem fer front amb pocs antibiòtics. Aquest és un exemple més del greu problema al qual s'enfronta la salut global.

CONCLUSIONS GENERALS

Per concloure el treball acabaré amb un fragment d'un article escrit per en Daniel Closa anomenat "Ens calen nous antibiòtics":

En realitat, la lluita contra els bacteris és una guerra perduda. N'hi ha massa, massa diferents i amb massa capacitat d'adaptació. Per cada fàrmac que desenvolupem apareixeran en poc temps bacteris resistents. Simple mecanisme evolutiu en acció. Però això no vol dir que ens quedem de braços creuats mentre veiem com tornen malalties que teníem gairebé oblidades i altres de noves que ens esperen a la cantonada. (Closa, 2017, p.1)

El fragment no ens aporta esperança perquè afirma que els bacteris ja han guanyat, però a la vegada ens incentiva a perdre amb dignitat, és a dir, fent un bon ús dels fàrmacs que encara funcionen i no deixant-los guanyar fàcilment. Perquè, en efecte, les resistències bacterianes són un tema important i d'actualitat. Com ja s'ha afirmat en aquest treball, no les podem aturar però podem alentir-les. Així que, és molt important intentar-ho i poder donar més temps als científics per desenvolupar nous antibiòtics. Perquè sinó, tal com diuen moltíssims articles, en el futur, estarem perduts.

En definitiva els objectius del treball s'han assolit amb èxit. L'objectiu principal era informar a les persones que llegissin el treball que el gran problema de les resistències bacterianes ens afecta a tots (tal com diu el títol del treball), i per això, vaig escollir l'Estany de Banyoles com a lloc per la recollida de mostres, ja que és un lloc proper i conegut per a tots nosaltres. Un altre propòsit era estudiar la situació dels bacteris de l'estany i aquest, ha estat completament assolit. Per acabar, també s'ha complert l'últim objectiu, he adquirit molts coneixements que fins al moment no tenia.

Finalment, després d'haver llegit el treball, us demanaria, si us plau, que a partir d'ara, intentessim allargar la lluita amb els bacteris tot el possible.

GLOSSARI

Part teòrica:

1. Organisme unicel·lular

Organisme format per una sola cèl·lula.

2. Cèl·lula procariota

Es caracteritza per tenir una estructura senzilla i no presentar un nucli ben delimitat. El material genètic es troba dispers pel citoplasma. La presenten els organismes que pertanyen al regne Moneres.

3. Cèl·lula eucariota

Es caracteritza per tenir una estructura complexa i presentar un nucli, on es troba el material genètic, delimitat per una membrana, l'embolcall o membrana nuclear. La presenten els organismes que pertanyen al regne Protists, Fongs, Plantes i Animals.

4. Lugol

Dissolució de iode molecular i iodur de potassi que s'utilitza en la tinció de Gram i també serveix per identificar el midó.

5. Safranina

Colorant biològic que s'utilitza en la tinció de Gram.

6. Fosfolípids

Lípids saponificables que formen les membranes plasmàtiques de les cèl·lules. Estan formats per un cap polar i una cua apolar, per tant, són amfipàtics i aporten permeabilitat selectiva a les membranes.

7. Fagocitosi

Procés en el qual una cèl·lula engloba i digereix elements més petits.

8. Nucleòtid

Compost orgànic format per una pentosa, una base nitrogenada i un grup fosfat. Són les unitats que quan es polimeritzen formen els àcids nucleics.

9. Molècula diana

Molècula que té un receptor concret per una hormona concreta.

10. Hidròlisi

Reacció de descomposició.

Part pràctica:

1. Medi de cultiu

Un medi de cultiu és un substrat nutritiu (líquid, semisòlid o sòlid) esterilitzat que conté totes les característiques necessàries per al desenvolupament de microorganismes. Permeten estudiar els microorganismes. N'hi ha de tres tipus:

- Medis de desenvolupament: hi poden créixer tota classe de microorganismes. Exemple: LB.
- Medis selectius: tenen característiques que permeten que creixi algun tipus determinat de bacteri i inhibeixen que en creixin d'altres. D'aquesta manera es pot identificar fàcilment l'espècie que es vol estudiar. Exemple: Agar Brucella.
- Medis diferencials: permet identificar una espècie en concret de bacteri tot canviant el color de les seves colònies. Exemple: MLGA.

PLATE COUNT AGAR (PCA): Medi de desenvolupament. Servirà per saber la concentració de bacteris totals a les zones estudiades.

MEMBRANE LACTOSE GLUCURONIDE AGAR (MLGA): Medi selectiu i diferencial. Deixa créixer els coliforms i tenyeix les colònies de *E. coli* de color verd. Per tant, servirà per saber la concentració de coliforms totals i la de *E. coli*.

LURIA BERTANI (LB): Caldo nutritiu. Pot ser sòlid si s'hi afegeix Agar. L'utilitzaré en sòlid per fer els aïllaments i en líquid per poder fer els antibiogrames.

MUELLER HINTON II AGAR (MH): Medi de desenvolupament. L'utilitzaré per dur a terme els antibiogrames, ja que aquest és el que es fa servir comunament.

2. Agitador

Aparell que serveix per barrejar mescles. Les barreja amb l'ajuda d'un agitador magnètic que s'ha d'introduir dins el recipient i va girant gràcies a la imantació que té cap a l'agitador.

3. Autoclau

L'autoclau és dispositiu que serveix per esterilitzar el material del laboratori. El farà servir per esterilitzar els medis de cultiu, els tubs d'assaig i la dissolució de Ringer. Perquè el material s'esterilitzi ha d'estar 15 minuts a l'autoclau, a una temperatura de 121°C i a 1,1 atmosferes. Tot el

procediment però, dura una hora ja que ha de pujar de temperatura i pressió i ha de baixar.

El material que es posa a l'autoclau no ha d'estar del tot tancat. D'aquesta manera s'evita que exploti per la pressió a la qual estarà exposat.

Un cop es treu el material de l'autoclau es pot comprovar que s'ha esterilitzat ja que la cinta d'autoclau (que s'ha hagut de posar prèviament) ha canviat del color verd al negre.

4. Balança analítica

Instrument per mesurar quantitats molt petites de massa. La balança utilitzada tenia precisió fins a les mil-i-enèsimes.

5. Pipeta

Instrument volumètric que permet mesurar un volum de líquid amb molta precisió. Hi ha pipetes graduades, pipetes aforades (una sola línia que indica un volum determinat) i pipetes electròniques (permeten agafar volums molt petits amb una gran precisió). Aquestes últimes les utilitzaré molt per fer les dilucions ja que he d'agafar volums molt petits. Les pipetes electròniques no tenen punta sinó que s'hi ha de posar una punta cada vegada que s'ha d'utilitzar.

6. Ringer

Solució salina i làctica que farà la funció de mitjà de transport a l'hora de fer les dilucions i filtrar-les.

7. Vòrtex

Aparell que serveix per barrejar el contingut de tubs d'assaig tapats tot sacsejant-los ràpidament.

8. Filtrador

Aparell que serveix per filtrar mostres líquides. Consta de tres espais on es poden posar els filtres i d'un recipient on va a parar el líquid filtrat.

9. Estufa bacteriològica

Estufa amb temperatura de 37°C o 30°C que permet donar les condicions de temperatura necessàries als bacteris perquè creixin i es reproduïxin.

10. Nansa de Kölle

Nansa amb la punta en forma de circumferència oberta que permet fer sembres tant a medis de cultiu líquids com sòlids.

11. Paper parafilm

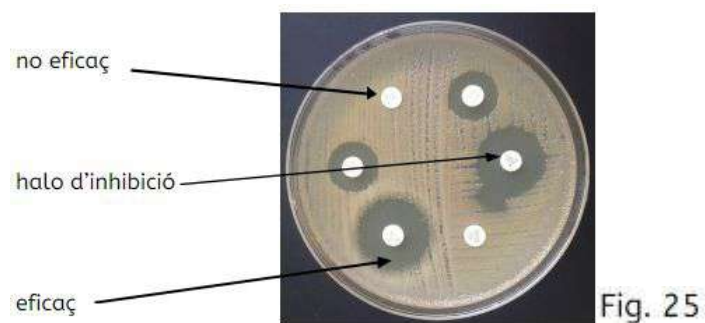
Paper elàstic que serveix per tancar les plaques de Petri sembrades i poder-les guardar a la nevera sense perill que s'obrin.

12. Antibiograma

Un antibiograma és una prova microbiològica que s'utilitza per determinar la sensibilitat d'un bacteri a un antibiòtic. Gràcies a aquesta prova es pot saber el grau de sensibilitat d'una soca bacteriana a un antibiòtic i quin és el millor antibiòtic per combatre-la.

Els antibiogrames són constantment utilitzats en el camp de la medicina per saber quin antibiòtic serà més eficaç per tractar un pacient amb una infecció bacteriana.

La prova consisteix en el cultiu de bacteris en una placa de Petri, que, a continuació, són exposats a un o diversos antibiòtics. Si són resistents a l'antibiòtic, els bacteris no moriran. En canvi, si l'antibiòtic és eficaç, els bacteris es moriran i quedarà un halo d'inhibició en el lloc on l'hem afegit. Com més gran sigui l'halo, més eficaç és l'antibiòtic. Segons el diàmetre de l'halus, el tipus de bacteri i el tipus d'antibiòtic podem saber si el bacteri és resistent o no gràcies pautes establertes.



BIBLIOGRAFIA

Llibres:

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M. i PARKER, J. (1997). *Brock, biología de los microorganismos*. Madrid: Prentice Hall Iberia.

INGRAHAM, J. L. i INGRAHAM, C. A. (1998). *Introducción a la microbiología*. Barcelona: Editorial Reverté, S. A.

Articles:

CLOSA, D. (2014) “Dia de vigilar amb els antibiòtics” en el *Diari Ara*. [Data de consulta: 09/08/2019].

<http://ciencia.ara.cat/centpeus/2014/11/18/dia-de-vigilar-amb-els-antibiotsics/>



BONILLA, L. i SEGURA, X. (2017). “La meitat dels antibiòtics es consumeixen incorrectament” en el *Diari Ara*. [Data de consulta: 09/04/2019].

https://www.ara.cat/societat/meitat-dels-antibiotsics-consumeixen-incorrectament_0_1906609376.html



DAVID TAFUR, J., ANDRÉS TORRES, J. i VIRGINIA VILLEGAS, M. (2008) “Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria” en la *Revista Infectio*. [Data de consulta: 01/05/2019].

<https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/es/>



CLOSA, D. (2017) “Ens calen nous antibiòtics” en el *Diari Ara*. [Data de consulta: 10/08/2019].

<http://ciencia.ara.cat/centpeus/2017/03/01/ens-cal-nous-antibiotsics/>



Documents electrònics:

PÍREZ, M. i MOTA, M. *Morfología y estructura bacteriana*. [PDF]. [Data de consulta: 10/01/2019].

<https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43169930/Morfologia_yEstructuraBacteriana.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DTEMAS_DE_BACTERIOLOGIA_Y_VIROLOGIA_MEDIC.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190807%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20190807T110722Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=91c7f4d72d400336f6f816849676ef0a2dcca2fa9631510d21404e1306f99c26>

CASTRO, E. i MORALES, H. *Flagelos, pili, fimbrias y adhesinas bacterianas*. [en línia] [Data de consulta: 12/01/2019].

<<https://es.slideshare.net/hrmorales71/estructuras-bacterianas-flagelo-pili-y-fimbrias>>

RODRÍGUEZ, C. *Orgánulos de una bacteria*. [en línia] [Data de consulta: 5/02/2019].

<<https://www.unprofesor.com/ciencias-naturales/organulos-de-una-bacteria-1323.html>>

BARADAD, O. *Els microorganismes*. [en línia] [Data de consulta: 2/03/2019].

<<https://www.slideshare.net/oribara/biologia-2n-batxillerat-ud16-els-microorganismes>>

GARCÍA HYLARY, Q. *Metabolismo bacteriano*. [en línia] [Data de consulta: 23/03/2019].

<<http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/metabolismo-bacteriano.html>>

SEIJA, V. i VIGNOLI, R. *Principales grupos de antibiòticos*. [PDF] [Data de consulta: 10/04/2019].

<<http://higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>>

NÚÑEZ FREILE, B. *Mecanismo de acción de los antibiòticos*. [PDF] [Data de consulta: 8/05/2019].

<<https://es.scribd.com/doc/117662628/Mecanismo-de-Accion-de-Los-Antibioticos>>

SUSSMANN P., A., MATTOS, L. i RESTREPO, A. *Resistencia bacteriana*. [PDF] [Data de consulta: 13/05/2019].

<<https://blocs.xtec.cat/ferrerfrancesch/files/2009/06/002620resistencia.pdf>>

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. [PDF] [Data de consulta: 05/07/2019].

<<https://www.asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>>

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>. [Data de consulta: 10/07/2019].

INSTRUCTIONS FOR USE. *Hardydisktm antimicrobial sensitivity test (AST)*. [PDF] [Data de consulta: 17/07/2019].

<https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/HardyDiskASTProceduresandChart.pdf>

HIMEDIA. *Plate Count Agar (Standard Methods Agar)*. [PDF] [Data de consulta: 17/07/2019].

<<http://www.himedialabs.com/TD/M091.pdf>>

BECTON DICKINSON. *BD Mueller Hinton II Agar*. [PDF] [Data de consulta: 19/07/2019].

<<https://docplayer.es/21127341-Bd-mueller-hinton-ii-agar-bd-mueller-hinton-ii-agar-150-mm-bd-mueller-hinton-ii-agar-square.html>>

Imatges:

Fig. 1: Recuperat de:

<https://www.visionlearning.com/es/library/Biologia/2/El-Descubrimiento-y-Estructura-de-C%C3%A9lulas/64>

Fig. 2: Recuperat de:

[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_\(OpenStax\)/03%3A_The_Cell/3.3%3A_Unique_Characteristics_of_Prokaryotic_Cells](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_(OpenStax)/03%3A_The_Cell/3.3%3A_Unique_Characteristics_of_Prokaryotic_Cells)

Fig. 3: Recuperat de:

<http://www.biologydiscussion.com/bacteria/definition-of-mesosomes-bacteria/64975>

Fig. 4: Recuperat de: <http://kit-blse.com/diagnostic-microbiologique-nice/>

Fig. 5: Recuperat de:

<https://www.studyblue.com/notes/note/n/microbiology-exam-1-chapters-1-3/deck/12358568>

Fig. 6,7,8: Recuperat de:

<http://andreaarcos16.blogspot.com/2016/06/adn-recombinante-en-la-naturaleza.html>

Fig. 9: Recuperat de:

<https://www.studocu.com/es/document/universitat-autonoma-de-barcelona/microbiologia/apuntes/5-i-6-creixement-bacteria/2500315/view>

Fig. 10: Recuperat de:

<http://antibioticosuninorte.blogspot.com/2014/11/nitrofurantoina.html>

Fig. 11: Recuperat de: <http://hot-pharm.com/?id=1516>

Fig. 12: Recuperat de:

<https://www.timetoast.com/timelines/la-historia-de-la-microbiologia>

Fig. 13: Recuperat de: <http://proyctomontessoribean.blogspot.com/>

Fig. 14: Recuperat de:

<https://www.clinicaangloamericana.pe/blog/semana-mundial-de-concientizacion-sobre-el-uso-de-antibioticos/>

Fig. 15: Recuperat de:

<https://es.dreamstime.com/stock-de-ilustraci%C3%B3n-resistencia-antimicrobiana-image66421906>

Fig. 16, 17, 18, 19, 20, 21: Recuperat de:

<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-resistencia-antibioticos-causas.pdf>

Fig. 22: Recuperat de: <https://maps.google.es/>

Fig. 23: Recuperat de: <https://www.youtube.com/watch?v=lwSxg0-tU4M>

Fig. 24: Recuperat de:

<http://turisme.plaestany.cat/activitats/activitats-aquatiques-i-zones-de-bany/>

Fig. 25: Recuperat de:

<http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/11/antibiogramas.html>

ANNEX 1: Antibiòtics utilitzats

1. CIPROFLOXACINA (Cipro.)

Concentració: 15 μ g

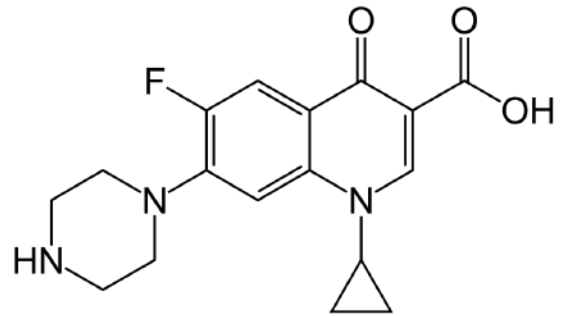
Família: quinolones

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi d'ADN.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta infeccions bacterianes com diarrees, infeccions òssies i articulars, infeccions en el tracte respiratori i urinari, febre tifoide...

Efectes secundaris: problemes en el ritme cardíac, en el sistema nerviós central i en els tendons i els músculs.



2. AMPICIL·LINA (Amp.)

Concentració: 10 μ g

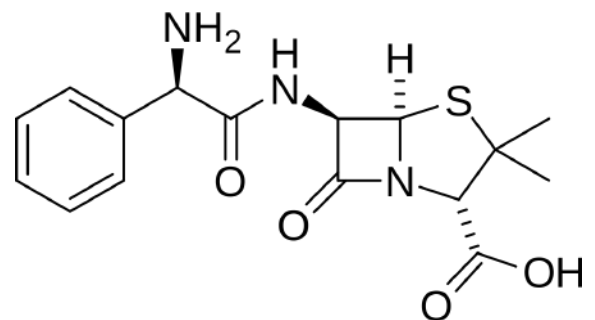
Família: beta lactàmics

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi de la paret cel·lular.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta infeccions bacterianes com la salmonel·losis, la meningitis, infeccions respiratòries, urinàries...

Efectes secundaris: nàusees, granissades, diarrees... No prendre en cas de ser al·lèrgic a la penicil·lina.



3. ERITROMICINA (Ery.)

Concentració: 15 μ g

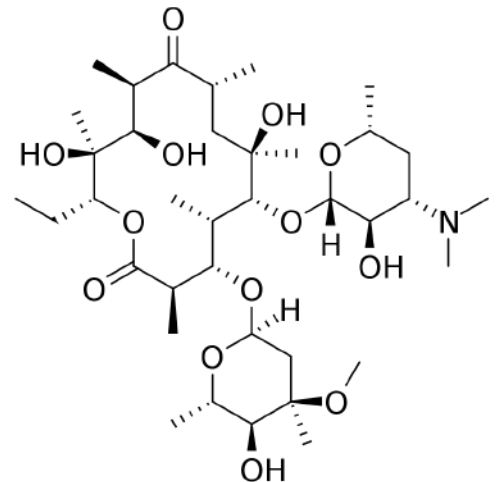
Família: macròlids

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi d'ADN.

Afecta: *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* spp., *Listeria monocytogenes*, *Bordetella pertussis* i *Actinomyces*.

Ús: tracta infeccions bacterianes com infeccions respiratòries, cutànies i MTS.

Efectes secundaris: vòmits, diarrees, rampes abdominals, reaccions al·lèrgiques...



4. IMIPENEM (Imip.)

Concentració: 10 μ g

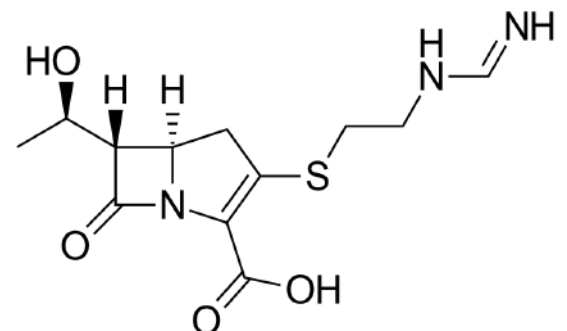
Família: beta lactàmics

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi de la paret cel·lular.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta infeccions bacterianes del cor, els pulmons i la pell entre altres.

Efectes secundaris: nàusees i vòmits. No prendre en cas de ser al·lèrgic a la penicil·lina.



5. TETRACICLINA (Tet.)

Concentració: 30 μ g

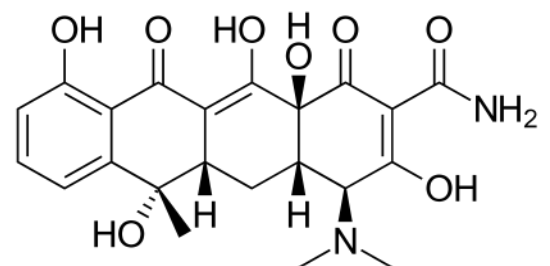
Família: tetraciclines

Mecanisme d'acció: inhibició de la síntesi de proteïnes.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta l'acne, la còlera, la sífilis i la malària.

Efectes secundaris: vòmits, diarrees, pèrdua de gana i granissades.



6. AZITROMICINA (Azi.)

Concentració: 15 μ g

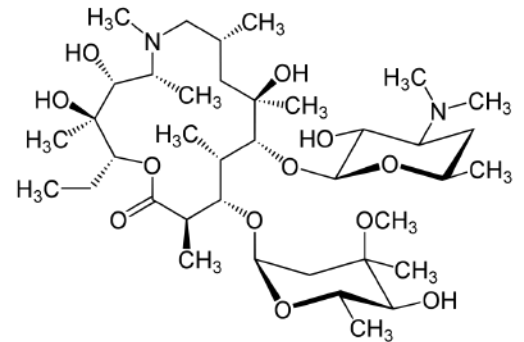
Família: macròlids.

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi dels àcids nucleics.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta la pneumònia, infeccions de coll, orel·la i intestinals.

Efectes secundaris: vòmits, diarrees, nàusees o reaccions al·lèrgiques.



7. TRIMETHOPRIM I SULFAMETHOXACIN (Tri. Sulf.)

El medicament conté una part de trimethoprim i 5 parts de sulfamethoxacin.

Concentració: 25 μ g

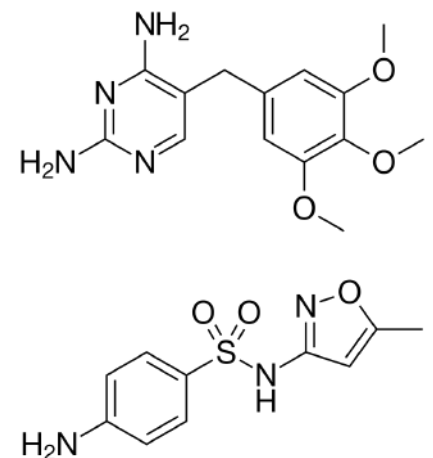
Família: sulfamides.

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi dels àcids nucleics.

Afecta: bacteris Gram + i Gram -.

Ús: tracta infeccions bacterianes com infeccions d'orella, de coll, urinàries, bronquitis, diarrea...

Efectes secundaris: nàusees, vòmits i granissades.



8. VANCOMICINA (Van.)

Concentració: 30 μ g

Família: Glicopèptids.

Mecanisme d'acció: bloqueig de la síntesi de la paret cel·lular.

Afecta: *Staphylococcus* i altres.

Ús: tracta infeccions de sang, de pell i d'ossos així com meningitis i endocarditis.

Efectes secundaris: mal de coll, urticàries, granissades, dificultat per respirar, marejos o visió borrosa.

