

treball de recerca

CARLA COSTA i CALLÍS
segon de batxillerat B

REMENAR DINERS
MICROORGANISMES EN MOVIMENT
estudi microbiològic de bitllets estrangers

tutoritzat per **Helena Puigdemunt**
06 d'octubre de 2020

Abstract

Remenar bitllets forma part de la nostra vida. Aquests petits trossos de paper viatgen de mà en mà. No s'és conscient del que representa un objecte en contacte amb un gran nombre de persones sobre el qual hi ha una quantitat inimaginable d'organismes invisibles a ull nu, però existents...

Partint d'aquest interès, s'ha plantejat aquest treball de recerca: un estudi microbiològic de bitllets de diferents sistemes monetaris. A través de la recerca experimental es vol descobrir si els bitllets són una possible font de contagi i si el país d'origen dels bitllets condiciona la seva microflora.

Per poder resoldre els interrogants esmentats s'han recollit bitllets de països estrangers, congelat les mostres per mantenir al màxim la vida microbiana, sembrat les solucions utilitzant diferents tècniques, analitzat i observat les colònies i realitzat proves bioquímiques i tincions diferencials.

El conjunt d'aquests processos ha permès obtenir informació sobre els gèneres fúngics i bacterians que hi ha, i a través de càlculs, estimar la quantitat de microorganismes en un bitllet. A partir d'aquests resultats, s'ha pogut demostrar que els bitllets contenen microorganismes amb potencialitat patògena. Degut als canvis que ha sofert el treball arran de la pandèmia, no s'ha pogut estudiar amb profunditat la basant geogràfica.

Dealing with banknotes is part of our life. These little pieces of paper travel from hand to hand. We are not aware that we are touching an object which has been in contact with a large number of people. Its surface holds an unimaginable amount of organisms, which are invisible to the naked eye but existing and alive...

Based on that interest, this research project has been developed: a microbiological study of banknotes from different monetary systems. The aim of the experimental research is to find out whether banknotes are a possible source of contagion and if the country of the banknotes conditions their microflora.

In order to solve these questions, banknotes from foreign countries have been collected, samples have been frozen, in order to maintain the maximum microbial life, and sown using different microbiological techniques. Once the bacterial cultures have been done, the colonies have been analyzed and observed, apart from having biochemical tests and differential stainings done.

The combination of these processes has made it possible to obtain information about the fungal and bacterial genera present in the samples, and through calculations, to estimate the amount of microorganisms on a banknote. Based on these results, it has been possible to demonstrate that banknotes contain microorganisms with pathogenic potential. Due to the changes that this project has undergone as a result of the pandemic, it has not been possible to study the geographical aspects in depth.

Agraïments

La realització d'aquest treball ha estat possible gràcies a la col·laboració de varies persones, que m'han guiat, aconsellat i ajudat des de la idea inicial, fins al final del treball.

En primer lloc, agrair a la meva tutora Helena Puigdemunt les seves mostres d'interès, l'assessorament i el recolzament que ha fet i m'ha donat en tot moment. Per ser-hi sempre que l'he necessitat. Moltes gràcies Helena.

A la Mariona Callís, la meva tia, per seguir tots i cada un dels passos que he fet i aconsellar-me sempre que ho he necessitat. Moltes gràcies.

A en Ramon Brunet, per aparèixer del no res i acollir-me al seu laboratori a Aigües Banyoles. Per tenir tanta paciència a l'hora d'instruir-me i perdre tardes per ajudar-me a portar a terme la meva recerca experimental. Moltes gràcies.

A en Frederic Gich, qui havia de tutoritzar la meva estada a la Universitat de Girona. Tot i que les circumstàncies no ho han permès, estic molt agraïda per la teva voluntat d'ajudar-me a portar a terme la meva part pràctica.

Al meu avi Josep Callís i a la meva mare Imma Callís, per llegir i rellegir el treball i ajudar en la revisió de la redacció. M'heu ajudat a plasmar les meves idees de manera més clara i entenedora. Moltes gràcies.

A en Pere Tubert, per ajudar-me a millorar el disseny de la portada i contraportada d'aquest treball. Moltes gràcies.

A la meva família i amics, per escoltar-me parlar del treball tot i convertir-ho en un tema una mica massa recurrent. Per fer-me costat i suport quan tot semblava anar malament i apujar-me la moral quan m'he desanimat. Moltes gràcies.

Índex

1. Introducció.....	7
1.1. El perquè del meu treball.....	7
1.2. Cronograma del desenvolupament.....	9
Marc teòric.....	13
2. Microorganismes.....	14
2.1. Éssers acel·lulars.....	14
2.1.1. Virus.....	14
2.1.1.1. Estructura.....	14
2.1.1.2. Replicació.....	16
2.1.1.3. Famílies víriques més comunes.....	16
2.2. Microorganismes cel·lulars.....	17
2.2.1. Procariotes.....	17
2.2.1.1. Arqueas.....	17
2.2.1.2. Eubacteris.....	17
2.2.1.2.1. Morfologia.....	18
2.2.1.2.2. Estructura.....	19
2.2.1.2.3. Metabolisme.....	21
2.2.1.2.4. Reproducció.....	23
2.2.1.2.5. Famílies bacterianes més comunes.....	24
2.2.2. Eucariotes.....	25
2.2.2.1. Fongs.....	25
2.2.2.1.1. Llevaduriformes.....	26
2.2.2.1.2. Filamentosos.....	26
2.2.2.1.3. Famílies fúngiques més comunes.....	27
2.2.2.2. Protozous.....	28
2.2.2.2.1. Flagel·lats.....	28
2.2.2.2.2. Ciliats.....	28
2.2.2.2.3. Rizòpodes.....	28
2.2.2.2.4. Esporozous.....	28
2.2.2.3. Algues.....	29

2.2.2.3.1.	Unicel·lulars.....	29
2.2.2.3.2.	Pluricel·lulars.....	29
3.	El diner.....	30
3.1.	Història del diner.....	30
3.2.	Mètodes de pagament actuals.....	31
4.	Estudis previs.....	33
	Recerca experimental.....	36
5.	Problemes, objectius i hipòtesis.....	37
5.1.	Problemes.....	37
5.2.	Objectius.....	37
5.3.	Hipòtesis.....	38
6.	Medis de cultiu i proves.....	39
6.1.	Medis de cultiu.....	39
6.1.1.	Nutrient Agar.....	40
6.1.2.	Plate Count Agar (PCA)	40
6.1.3.	Chromogenic Coliform Agar (CCA)	40
6.2.	Proves bioquímiques.....	41
6.2.1.	Microbact Oxidase trips.....	41
6.2.2.	Prova de la catalasa.....	41
6.2.3.	Pseudalert, Quanti-Tray.....	42
6.2.4.	Colilert, Quanti-Tray.....	42
6.3.	Tincions diferencials.....	42
6.3.1.	Tinció de Gram.....	42
7.	Tècniques i mètodes utilitzats.....	43
7.1.	Treball sota flama.....	43
7.2.	Conservació de microorganismes.....	43
7.2.1.	Conservació per congelació.....	43
7.3.	Sembra de microorganismes.....	44
7.3.1.	Sembra en estria fins a l'esgotament.....	44
7.3.2.	Sembra en estria escocesa.....	44
7.3.3.	Sembra per disseminació.....	45
7.3.4.	Sembra en profunditat.....	45
7.4.	Recompte d'ufc.....	45

8. Planificació general.....	46
9. Dietari.....	47
10. Procés experimental.....	51
11. Resultats.....	64
11.1. Característiques morfològiques colonials.....	65
11.2. Proves, tincions i observació al microscopi.....	77
11.3. Identificació del gènere més probable.....	82
11.4. Anàlisi dels resultats.....	83
11.5. Càlculs del nombre més probable d'ufc/bitllet.....	89
12. Conclusions.....	93
13. Valoració final.....	97
14. Bibliografia.....	99
15. Annexos.....	104
Annex A: Glossari.....	105
Annex B: Taula de les mostres.....	106
Annex C: Índex de taules, figures i esquemes.....	108
Annex D: Pauta de classificació morfològica.....	111
Annex E: Manual d'identificació bacteriana.....	112
Annex F: Manual d'identificació fúngica.....	118
Annex G: Materials de les mostres.....	120

1. Introducció

1.1. El perquè del meu treball.

Des de ben petita sempre m'ha fascinat conèixer i entendre el món que m'envolta. Sempre m'he preguntat el perquè de les coses i m'ha agradat entendre'n el seu funcionament . És per aquest motiu que sempre m'he decantat per la ciència, sobre tot per la branca de la biologia. La vida evoluciona i es defensa de les incidències externes, i sempre ha estat un factor que m'ha generat mil i un interrogants.

Al començar a plantejar-me el Treball de Recerca, vaig trobar diferents opcions a estudiar: la genètica darrera de la migranya, una malaltia que afecta a varis integrants de la meva família, els processos de transformació que es donen durant la maduració de les fruites, la relació entre els colors de la natura i les diferents èpoques de l'any, entre altres temes.

Finalment, vaig decidir optar per un treball que tractés sobre algun aspecte de la microbiologia, ja que els microorganismes sempre m'han interessat. Saber que una cosa tan extremadament diminuta com els microorganismes pot destruir una cosa tan bonica com una altra vida em fascina i a la vegada m'aterra.

El nostre entorn, com bé sabem, està farcit de diminuts organismes els quals no es poden observar a primera vista, els microorganismes. No hi ha cap indret ni ambient natural on no siguin presents; poden trobar-se a qualsevol tipus d'entorn i superfície, fins i tot dins del nostre propi cos, com ara els que constitueixen la microbiota intestinal.

Alguns dels microorganismes que ens envolten són patògens, és a dir, causen malalties infeccioses. És per aquest motiu que és tan important la microbiologia per a la salut. Els descobriments que s'han donat en aquesta branca de la

biologia han permès identificar el causant de moltes malalties, com ara la SIDA i la tuberculosi, causades per un virus i un bacteri respectivament.

També em motivava molt l'economia, m'interessa el sistema econòmic, el seu funcionament...

A partir d'aquesta realitat i preocupació personal, aquest treball va néixer, intentant associar aquestes dues assignatures: la biologia, més en concret la branca la de microbiologia, i l'economia, que també em generava molt interès. Després de pensar diverses opcions, vaig aconseguir idear un treball que lligava les dues àrees: els microorganismes en els bitllets.

A tots, en un moment o altre ens han dit o hem sentit frases com: *“Rentat les mans després de remenar diners”*. Segurament per aquest motiu has crescut pensant que una de les coses més “brutes” d'aquest món són els bitllets i les monedes. Però a causa de què o què fa que els diners siguin tan “bruts”?

La constant circulació i intercanvi dels bitllets i monedes comporta que continguin molts microorganismes, ja que els microorganismes són presents sobretot en superfícies manipulades contínuament, tal i com passa amb el diner en efectiu.

Amb aquest treball pretenc descobrir si realment el diner en efectiu conté una gran quantitat de microorganismes, tal i com afirmen les creences populars. També intento comprovar si la manipulació de bitllets pot ser una possible font de contagi de malalties infeccioses, i si el país de procedència influeix d'alguna manera en els microorganismes que es troben als bitllets del país en qüestió.

A més, aquest Treball de Recerca em possibilita una formació extra i una oportunitat per poder aprendre les tècniques d'investigació emparades en un laboratori de microbiologia i, al mateix temps, em permet aprofundir els meus coneixements en el marc teòric de la microbiologia.

1.2. Cronograma del desenvolupament

Un cop decidit el tema que volia tractar, vaig posar-me en contacte amb un parell de doctors en biologia implicats en el món dels microorganismes, la Dra. Mariona Callís i el Dr. Pere Tubert, per tal de tenir un assessorament científic.

Després d'explicar-los el meu objectiu principal: **realitzar un estudi microbiològic als diners en efectiu estrangers per comprovar si hi havia una clara diferenciació en els microorganismes**, em van aconsellar respecte la metodologia i altres aspectes a estudiar (fer una comparativa entre la quantitat de microorganismes en els bitllets i les monedes, estudiar la relació entre la microflora i els materials de les monedes, estudiant alhora els mètodes de congelació més efectius).

A través d'ells, vaig posar-me en contacte amb el departament de Microbiologia de la Universitat de Girona. Després de trucades i correus, vaig lligar un conveni que em permetia utilitzar els laboratoris de microbiologia per a realitzar-hi les meves recerques. L'acord, a més, em permetia disposar d'una gran varietat de medis selectius i diferencials, proves bioquímiques, tincions diferencials, microscopi electrònic de rastreig (SEM) i fins i tot realitzar algunes PCRs.

Malauradament, a causa del confinament arran de la pandèmia de la COVID-19, la UdG va cancel·lar qualsevol tipus d'estada i vaig quedar-me sense laboratori on realitzar la meva part pràctica. Tot i això, vaig decidir continuar amb la idea.

Novament vaig posar-me en contacte amb diversos laboratoris privats i empreses, però amb la incertesa generada per la pandèmia cap va accedir a deixar-me utilitzar les seves instal·lacions. Finalment, la meva tutora del Treball de Recerca Helena Puigdemunt va contactar amb el Sr. Ramon Brunet, cap del laboratori d'Aigües Banyoles, una empresa privada que realitza estudis i anàlisis de potabilització de l'aigua que es distribueix a la meva ciutat.

El laboratori de les Aigües està menys equipat que el de la UdG, circumstància que m'ha obligat a adaptar-me als recursos dels quals disposava. Les tècniques utilitzades en el treball són més modestes, però malgrat no ser comparables amb

medis diferencials o una PCR, els resultats han estat adequats i he après molt a nivell de tècniques microbiològiques.

Els canvis també m'han comportat haver de cultivar un nombre més reduït de mostres, atès que Aigües Banyoles és una empresa privada que m'ha cedit les instal·lacions en detriment del seu treball. A causa d'això, he deixat de banda les monedes i totes les mostres congelades sense agent crioprotector, ja que els bitllets amb agent crioprotector era el que m'assegurava una major viabilitat.

Conseqüentment, he hagut de reduir el nombre de mostres i països que pretenia estudiar, i eliminar els següents aspectes que volia treballar:

- comparativa diferencial entre bitllets i monedes (la quantitat de microorganismes i els gèneres de bacteris i fongs identificats).
- relació entre el material de les monedes i la quantitat de microorganismes.
- elecció del sistema de congelació més eficient.

El meu objectiu inicial va quedar modificat i es va convertir en: **realitzar un estudi microbiològic als bitllets en efectiu estrangers per comprovar si hi havia una clara diferenciació en els microorganismes.**

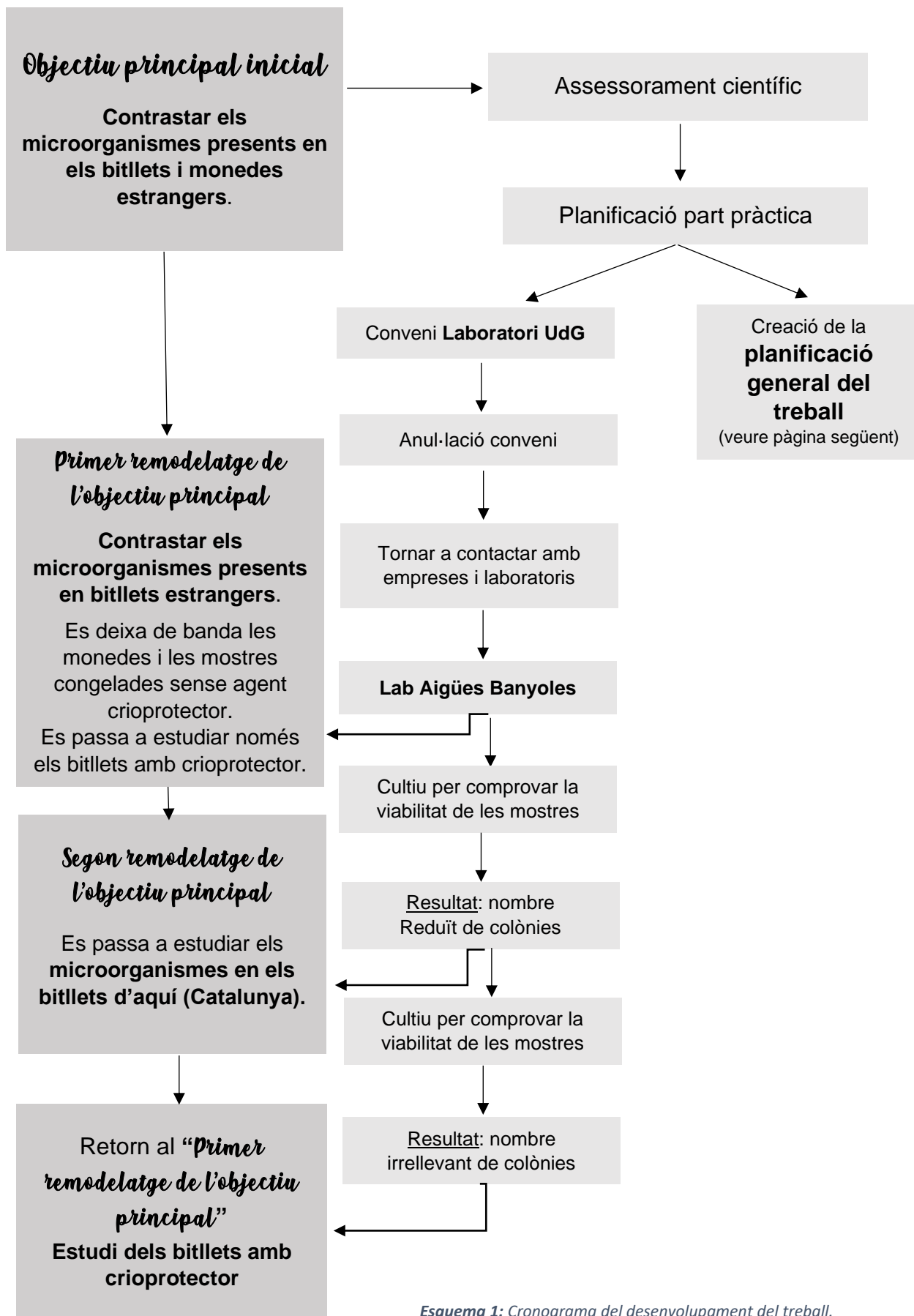
(analitzant només els bitllets amb agent crioprotector, ja que calia reduir les mostres).

Després de realitzar una sembra per analitzar la viabilitat de les mostres congelades i comprovar que els resultats no eren prou satisfactoris (hi havia poques colònies), vam decidir passar a **estudiar els microorganismes en els bitllets de 5 euros recollits aquí, a Catalunya.**

Novament es va realitzar un cultiu per comprovar si era més viable, però com a resultat tampoc es va obtenir un nombre considerable de colònies, de fet, el nombre era més reduït que en l'estudi dels bitllets estrangers.

Es va acordar, per tant, que es podia retornar al segon objectiu principal: **estudi microbiològic dels bitllets estrangers congelats amb un agent crioprotector.**

Tal i com ha passat amb un gran nombre d'activitats, empreses, viatges, programacions i altres treballs de recerca, el treball s'ha hagut d'adaptar al període temporal que estem vivint: la pandèmia de COVID-19. Com a resultat, la part pràctica del treball s'ha efectuat d'una manera més senzilla i artesanal.



Esquema 1: Cronograma del desenvolupament del treball.

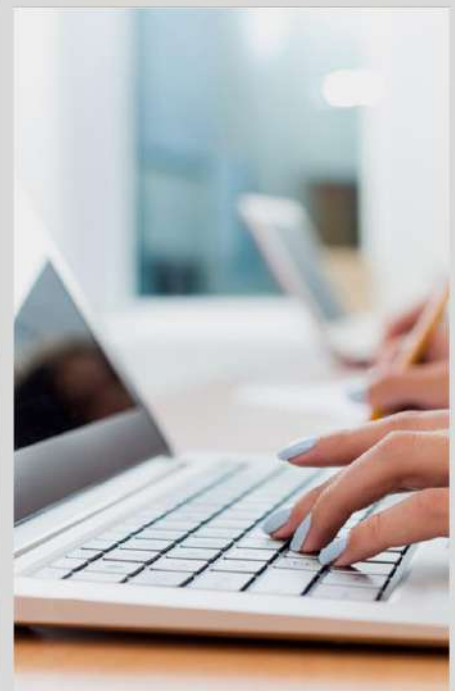
Planificació general del treball

Concreció tema	Llistat d'interessos
	Concreció de la recerca
	Interrogants que es plantegen
Planificació	Concreció dels objectius
	Concreció de les hipòtesis
	Disseny de la recerca experimental
	Selecció dels procediments de la recerca experimental
	Contacte amb gent per aconseguir mostres de diferents països estrangers
Marc Teòric	Recerca bibliogràfica
	Bases científiques generals
	Articles sobre el tema
Experimentació	Recollida de mostres
	Realització de la recerca experimental
	Recollida de resultats
Anàlisi de resultats	Anàlisi morfològic de les colònies
	Anàlisi proves bioquímiques i tincions
	Anàlisi quantitatiu
Conclusions	Acceptació d'hipòtesi
	Refutació d'hipòtesis

Esquema 2: Planificació general del treball

2., 3., 4.

Marc teòric



2. Microorganismes ^[1,2]

Els microorganismes són els organismes que l'ésser humà no pot percebre a ull nu, sinó que requereix un microscopi per a ser capaç de veure'ls, ja que la seva mida és inferior a 0'1 mm, el límit de visió dels humans. Generalment, s'utilitza les unitats de micròmetre i nanòmetre per a mesurar-los, que corresponen a 10^{-6} m i 10^{-9} m respectivament. Aquests éssers diminuts són molt diversos entre ells, ja que el terme microorganisme no té cap significat taxonòmic precís.

Etimològicament, microorganisme prové de “micro”, que significa petit, i “organisme”, que fa referència a ésser viu. Tot i això, dintre els microorganismes sovint s'inclouen als virus, els quals no són éssers vius.

2.1. éssers acel·lulars

2.1.1. virus ^[3]

Els virus són estructures acel·lulars molt senzilles i simples. Són paràsits cel·lulars obligats, ja que no poden realitzar les funcions vitals de manera autònoma, i necessiten maquinària cel·lular per a la replicació. És per aquest motiu que no són considerats éssers vius.

2.1.1.1. Estructura

L'estructura del virus és molt simple; és constituïda majoritàriament pel genoma del virus, format per un sol tipus d'àcid nucleic, que pot ser tant ADN com ARN monocatenari o bicatenari. Aquest genoma és mínim, ja que únicament porta informació per a la replicació i l'estructura. El material genètic està recobert per una coberta proteica, anomenada càpsida. La morfologia dels virus depèn de la geometria de la seva càpsida, que pot ser icosaèdrica o helicoïdal. Alguns virus també presenten un embolcall lipídic.

Icosaèdrics

La seva càpsida està formada per capsòmers¹ amb 5 molècules de proteïna, anomenats pentons, o amb hexons, formats per 6 molècules. Un exemple és el virus del refredat comú.

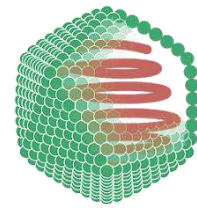


Figura 1: Virus amb càpsida icosaèdrica.

Helicoïdals

Els capsòmers¹ són disposats helicoïdalment, de manera que es forma al centre una estructura tubular buida, on hi ha disposat el material genètic. Un exemple és el virus del mosaic del tabac.

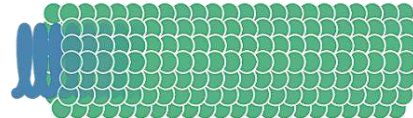


Figura 2: Virus amb càpsida helicoïdal

Complexos

S'anomenen així perquè la seva estructura es pot diferenciar en dues parts: el cap, d'estructura icosaèdrica, i la cua, d'estructura helicoïdal. El cap està constituït per la nucleocàpsida, formada pel material genètic i la càpsida. La cua, per altra banda, és el mecanisme que li permet adherir-se i perforar la membrana de la cèl·lula hoste. Els complexos també es coneixen com a bacteriòfags o fags, ja que parasiten a bacteris.

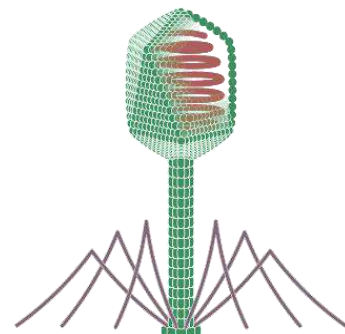


Figura 3: Bacteriòfag.

Embolcallats

Són virus amb una càpsida helicoïdal o icosaèdrica, la qual està recoberta per una bicapa lipídica, formada per la membrana cel·lular de la cèl·lula hoste. Adherides a aquesta capa hi ha glucoproteïnes, que li permeten unir-se als receptors de membrana de la cèl·lula a la qual parasiten. Un exemple de virus amb càpsida embolcallada és el VIH², el virus que provoca la SIDA³.

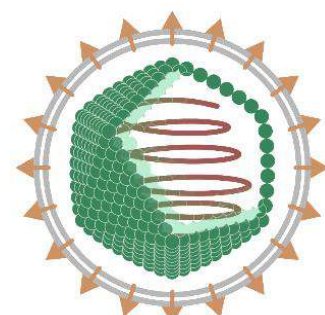


Figura 4: Virus amb càpsida embolcallada.

2.1.1.2. Replicació

Els virus són paràsits cel·lulars obligats; per tal de poder multiplicar-se, prèviament han d'infectar una cèl·lula. Els virus no es reproduïxen ni divideixen, sinó que es repliquen. És a dir, repliquen la seqüència de nucleòtids de les cadenes del seu material genètic i les estructures del virus.

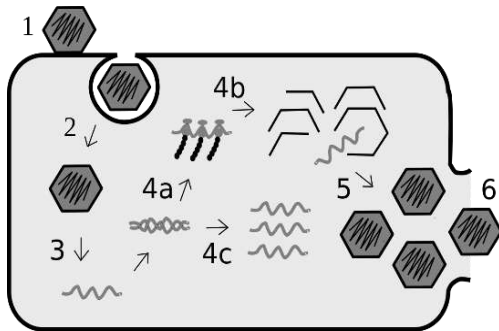


Figura 5: Representació del cicle de replicació.

Primer, el virus es fixa a la membrana de la cèl·lula hoste (1) i la perfora a partir d'enzims (2). El virus desprèn el seu material genètic al citoplasma (3), el qual passa al nucli de la cèl·lula (4a). S'apropia del control de la cèl·lula i els seus orgànuls, i es comencen a sintetitzar les proteïnes que formen la càpsida (4b). Al mateix

temps, es replica el material genètic (4c). Un cop el material genètic víric està replicat, entra a les càpsides formades (5), i pot sortir lentament sense rebentar la cèl·lula, o bé de forma ràpida, trencant la membrana de l'hoste i causant la seva mort (6).

2.1.1.3. Famílies víriques més comunes [4]

Actualment, els virus estan agrupats en 71 famílies, entre les quals:

Família (-dae)	Càpsida	material genètic	característiques	exemples
<i>Herpesviridae</i>	embolcallada	ADN	infeccions recurrents afecta a animals	virus de l'herpes
<i>Poxviridae</i>	embolcallada	ADN	afecta a animals	virus de la verola
<i>Coronaviridae</i>	embolcallada	ARN	malalties respiratòries	SARS-CoV-2
<i>Orthomyxoviridae</i>	embolcallada	ARN	malalties respiratòries	Influenza A
<i>Retroviridae</i>	embolcallada	ARN	cicle de replicació molt particular [5] patologies molt diverses	VIH ²

Taula 1: Famílies víriques més comunes.

2.2. *microorganismes cel·lulars* [1,2]

Són els que es poden classificar com a éssers vius, que estan formats per cèl·lules i fan les tres funcions vitals: nutrició, relació i reproducció. Aquests estan classificats en dos grups segons la complexitat i on es disposa el material genètic.

2.2.1. *procariotes* [1,2,7]

Els procariotes són el conjunt d'organismes microscòpics que no presenten nucli, sinó que el seu material genètic es troba lliure pel citoplasma, concentrat en el nucleoide. Presenten una paret cel·lular que els limita i ribosomes com a únics orgànuls. Els procariotes mesuren entre 0,5 i 10 μm .

Dins el conjunt de procariotes, hi ha els arqueobacteris i els eubacteris.

2.2.1.1. *Arqueas* [6]

Tenen una estructura molt similar als bacteris: membrana plasmàtica, paret cel·lular, citoplasma, ADN circular i ribosomes. La seva membrana és formada per una monocapa o bicapa lipídica, la qual no conté àcids grassos. La paret dels arqueas presenta glicoproteïnes, diferent dels bacteris, que presenten peptidoglicans⁴. El material genètic està format per una sola molècula d'ADN. Generalment, els arqueas són anaerobis i habiten en ambients extrems de temperatura, salinitat i acidesa.

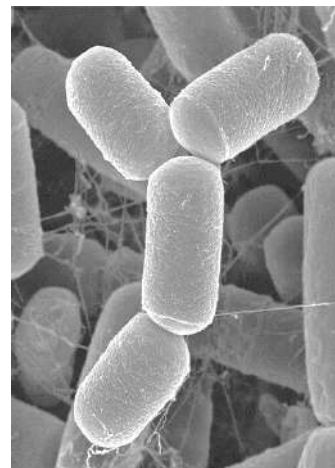


Figura 6: Conjunt d'arqueobacteris.

2.2.1.2. *Eubacteris*

Els eubacteris, majoritàriament coneguts com a bacteris, són els microorganismes més abundants a la Terra i són necessaris per a l'equilibri dels ecosistemes, ja que els trobem a tots els hàbitats terrestres i aquàtics. Tenen una mida petita, generalment d'entre 0,5 i 5 μm .

2.2.1.2.1. morfologia [1,2]

Dins els bacteris, trobem quatre diferents morfologies:

Coc	Bacil	Espiril	Vibrió
Estructura esfèrica, immòbils	Forma allargada, generalment mòbils	Estructura helicoidal	Forma de coma

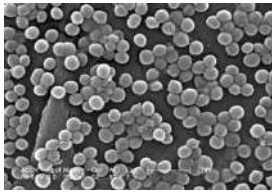


Figura 7: Conjunt de cocs.



Figura 8: Conjunt de bacils.

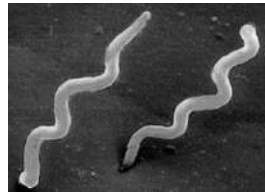
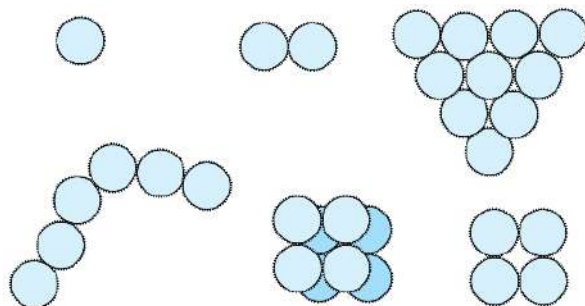


Figura 9: Conjunt d'espirls.



Figura 10: Vibrió.

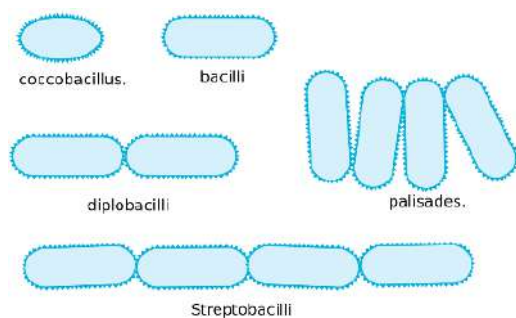
Agrupació dels cocs



1. Coc: solitari
2. Diplococs: parella
3. Estafilococs: forma de raïm
4. Estreptococs: cadena
5. Sarcina: associació cúbica
6. Tètrada: associació quadrada

Figura 11: Agrupació dels coc.

Agrupació dels bacils



1. Bacil: solitari
2. Diplobacil: parella
3. Palissada: disposats verticalment
4. Estreptobacils: horitzontalment

Figura 12: Agrupació dels bacils.

2.2.1.2.2. estructura [1,7]

Pel que fa a l'estructura, podem distingir la interna i l'externa.

INTERNA:

Nucleoide: zona irregular dins la cèl·lula procariota on es troba de manera concentrada el material genètic del bacteri. Aquest material genètic format per ADN bicatenari en forma de doble hèlix conté la informació genètica necessària per portar a terme les funcions de l'organisme.

Citoplasma: compost pel citosol i altres estructures. El citosol està format per aigua, substàncies dissoltes i enzims. En el citoplasma, hi ha:

- **Ribosomes:** Són els encarregats de la traducció, per a la síntesi de proteïnes. Llegeixen la seqüència de nucleòtids de l'ARNm i, a partir del codi genètic, ho tradueixen a aminoàcids.
- **Inclusions i vesícules:** Les inclusions són estructures en forma de sac on s'emmagatzemen grànuls de substàncies que s'utilitzen com a reserva d'energia per a fer diverses funcions. Les vesícules, per altra banda, són presents en bacteris que habiten ambients aquàtics. Aquestes emmagatzemen gasos o líquids, que li permeten flotar.
- **Plasmidi:** molècula d'ADN bicatenari circular que porta informació addicional i que es pot replicar independentment.

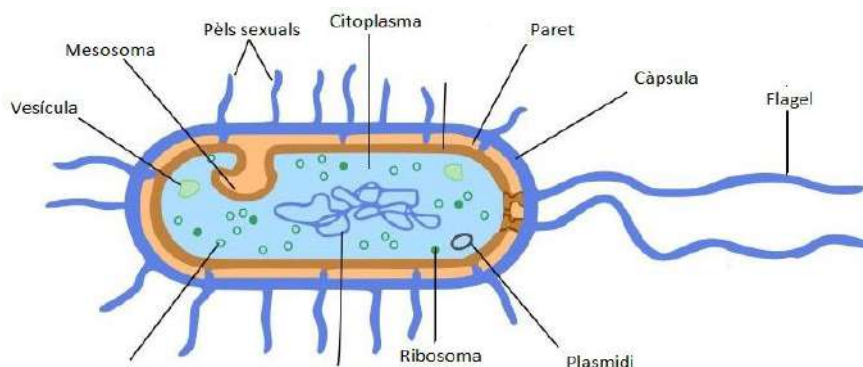


Figura 13: Estructura d'un bacteri.

EXTERNA:

Fímbries i pèls sexuals o pili: estructures tubulars similars als flagels i als cilis, que no intervenen en la locomoció del bacteri. Estan formats per cadenes proteiques. Les fímbries estan situades a la membrana d'alguns dels bacteris gramnegatius, i participen en la fixació amb la cèl·lula hoste o una superfície. Els pèls sexuals, que tenen una estructura de forma helicoidal, són presents en cèl·lules que fan la conjugació (veure al punt 1.2.1.2.4).

Flagel i cilis: prolongacions proteiques que participen en la locomoció i la mobilitat d'alguns bacteris. Els flagels són filaments llargs i fins, mentre els cilis són més curts i recobreixen tot el bacteri.

Càpsula: capa rígida que envolta la paret cel·lular d'alguns bacteris, generalment els més infecciosos. Aquesta càpsula està formada per aigua, polisacàrids i algunes glicoproteïnes. La càpsula protegeix el bacteri de la dessecació, ja que té la capacitat d'absorbir aigua, i li serveix com a estructura de resistència davant la fagocitosis⁵. També serveix per a protegir el bacteri del sistema immunitari de l'hoste.

Paret: estructura rígida que dóna forma a tots els bacteris, a excepció dels gèneres *Mycoplasma* i *Chlamydia*. És permeable a sals i a un gran nombre de substàncies de poc pes. Està formada per peptidoglicans⁴, cadenes de polisacàrids units per cadenes peptídiques. Segons la paret del bacteri, aquests poden ser Gram + o - depenent si retenen o no el colorant emparat per a la tinció de Gram, anomenat cristall violeta:

- **Grampositius:** Els bacteris Gram + tenen una paret cel·lular molt gruixuda, que pot estar formada per més de 30 capes de peptidoglicans. Amb el procés de la tinció, els bacteris grampositius es tenyeixen de blau.

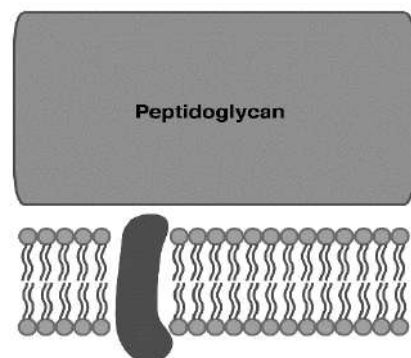


Figura 14: Paret d'un bacteri grampositiu.

- **Gramnegatiu:** Els bacteris Gram - tenen una sola capa de peptidoglicans, que està compresa entre la membrana cel·lular i una bicapa lipídica externa a la qual hi ha associats lipopolisacàrids i proteïnes. Els gramnegatiu no es tenyeixen de color blau, sinó d'un color rosat, ja que no tenen la capa de peptidoglicans exposada.

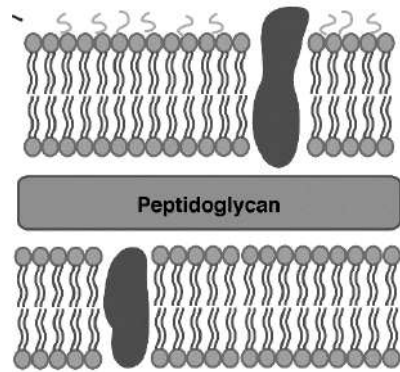


Figura 15: Paret d'un bacteri gramnegatiu.

Membrana cel·lular: Capa que delimita el citoplasma i permet l'entrada i sortida d'algunes substàncies gràcies a la permeabilitat selectiva. Està constituïda per fosfolípids, disposats de la mateixa manera que en els organismes eucariotes. A diferència d'aquestes, la bicapa lipídica dels bacteris no conté colesterol⁶.

Aquesta membrana conté molts sistemes enzimàtics que li permeten fer la respiració bacteriana, entre altres processos. Les proteïnes associades a la seva membrana li permeten obtenir els nutrients i substàncies necessàries, a més de detectar les substàncies que l'envolten, per poder elaborar-ne una resposta.

- **Mesosoma:** replers interns de la membrana cel·lular que dirigeixen la duplicació del bacteri i subjecten el material genètic bacterià.

2.2.1.2.3. *metabolisme* [1,2,7]

Els éssers vius porten a terme un seguit de processos els quals transformen els nutrients en elements que formaran part de l'estructura de l'organisme, com ara els lípids i les proteïnes. Ens referim a metabolisme al conjunt de les reaccions químiques, les quals són produïdes pels enzims, un tipus de proteïnes.

Els bacteris són organismes molt simples, amb una estructura poc complexa. Tot i això, tenen un metabolisme molt actiu i molt divers, permetent classificar-los gràcies a les reaccions bioquímiques que es donen.

El metabolisme bacterià és molt complex, però se'n poden destacar dos tipus:

EN FUNCIO DE LA FONT DE CARBONI I D'ENERGIA			
AUTÒTROFS		HETERÒTROFS	
Obtenen el carboni dels <u>compostos inorgànics (CO₂)</u> .		Obtenen el carboni metabolitzant <u>compostos orgànics</u> .	
Aquests es divideixen segons la seva font d'energia		També es divideixen segons la font d'energia.	
Fotolitòtrofs	Quimiolitòtrofs	Fotoorganòtrofs	Quimioorganòtrofs
Utilitzen la <u>llum solar</u> com a font d'energia.	Obtenen l'energia amb les <u>reaccions químiques</u> .	Utilitzen la <u>llum solar</u> com a font d'energia.	Obtenen l'energia amb les <u>reaccions químiques</u> .

Taula 2: Metabolisme en funció de la font de carboni i d'energia.

EN FUNCIO DE LA NECESSITAT D'OXIGEN			
Aerobis obligats	Anaerobis facultatius	Anaerobis aerotolerants	Anaerobis obligats
<u>Necessiten l'O₂</u> per a la respiració cel·lular.	<u>Tenen la capacitat d'utilitzar l'O₂</u> per a la respiració, a més de poder créixer per fermentació ⁷ .	<u>No utilitzen l'O₂</u> , però no els afecta la seva presència.	<u>No toleren l'O₂</u> . Poden fer respiració anaeròbica o bé viure per fermentació ⁷ .

Taula 3: Metabolisme en funció de la necessitat d'oxigen.

2.2.1.2.4. reproducció [1]

Els bacteris es reproduïxen de manera asexual, per un procés anomenat bipartició o fissió binària. En condicions normals, un bacteri pot reproduir-se cada 1 hora i mitja, aproximadament.

El procés consisteix en el següent:

- El material genètic es duplica (B)
- Es forma el septe de separació (C)
- El citoplasma es divideix (D)
- Es dona lloc a dues cèl·lules genèticament idèntiques a la inicial, amb la meitat del citoplasma (E).

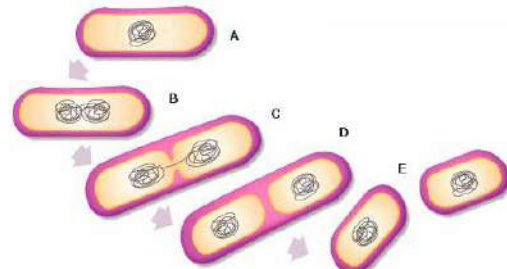


Figura 16: Representació de la fissió binària.

Per a obtenir noves característiques, els bacteris tenen mecanismes parasexuals, que els permeten l'intercanvi d'informació genètica amb altres bacteris. De mecanismes parasexuals en diferenciem tres:

La **transducció** consisteix en la introducció de gens al nucleòide del bacteri per mitjà d'un bacteriòfag, que conté fragments de material genètic del bacteri que ha infectat prèviament.

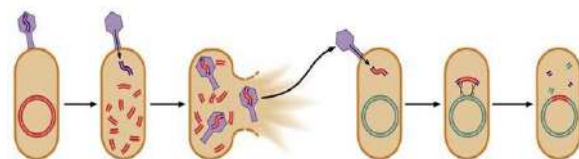


Figura 17: Representació de la transducció.

La **conjugació** és l'intercanvi que es dona pels pèls sexuals. El bacteri donador duplica el material genètic o plasmidi que vol donar, i amb els pilis estableix contacte amb el receptor.

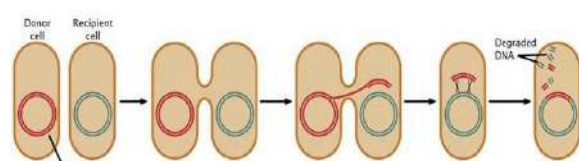


Figura 18: Representació de la conjugació..

La **transformació** consisteix en la introducció de fragments de material genètic procedents de cèl·lules mortes o d'altres bacteris, els quals es troben lliurement pel medi.



Figura 19: Representació de la transformació.

2.2.1.2.5. famílies bacterianes més comunes [8]

Hi ha una gran diversitat de bacteris, els quals s'agrupen en famílies, entre altres grups taxonòmics. Les famílies bacterianes més comunes són les següents:

Família (-aceae)	Característiques	Exemples
<i>Corynebacteriaceae</i>	Bacils grampositius. Anaerobis facultatius, Quimioorganòtrofs.	<i>C. diphtheriae</i> <i>C. parvum</i>
<i>Enterobacteriaceae</i>	Cocs i bacils gramnegatius. Anaerobis facultatius, Majoritàriament habiten dins els intestins, constitueixen la microbiota.	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Erwinia</i>
<i>Neisseriaceae</i>	Cocs aparellats gramnegatius. Aerobis obligats, quimioorganòtrofs.	<i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. meningitidis</i>
<i>Streptococcaceae</i>	Cocs grampositius. Anaerobis facultatius, Quimioorganòtrofs.	<i>S. anginosus</i> <i>S. pneumoniae</i>
<i>Staphylococcaceae</i>	Cocs grampositius. Anaerobis facultatius, Quimioorganòtrofs.	<i>S. epidermidis</i> <i>S. lugdunensis</i>
<i>Micrococcaceae</i>	Cocs grampositius. Aerobis obligats, quimioorganòtrofs.	<i>Micrococcus</i> <i>luteus</i>
<i>Listeriaceae</i>	Bacils grampositius. Anaerobis facultatius, Quimioorganòtrofs. Alguns amb capacitat mòbil (flagels)	<i>L.</i> <i>monocytogenes</i> <i>L. welshimeri</i>

Taula 4: Famílies bacterianes més comunes

2.2.2. eucariotes

En el cas de les cèl·lules eucariotes, el material genètic està limitat per una membrana nuclear composta per una bicapa lipídica. Aquestes cèl·lules contenen orgànuls, com el Reticle Endoplasmàtic, l'Aparell de Golgi, mitocondris, cloroplasts, vacúols, etc. Segons la teoria de l'endosimbiosi, proposada per Lynn Margulis l'any 1967, l'origen de les cèl·lules eucariotes parteix de les procariotes. Aquestes, es van unir per simbiosi¹¹, donant com a resultat una cèl·lula principal amb orgànuls.

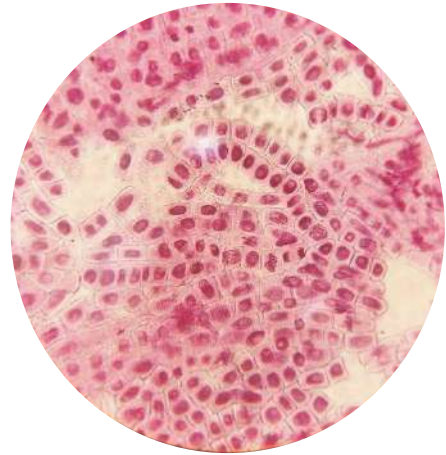


Figura 20: Observació al microscopi del teixit epidèrmic de la ceba.

La mida general de les cèl·lules eucariotes és d'unes 10-100 micres, un número major respecte al dels procariotes.

Dins aquest domini, hi ha diversos regnes: fongs, protists, vegetals i animals. Dels cinc regnes, només els tres primers són d'importància pel meu treball, ja que en el regne vegetal i animal, els organismes són pluricel·lulars.

2.2.2.1. Fongs ^[9]

Els fongs poden ser organismes unicel·lulars o bé pluricel·lulars.

La seva alimentació és totalment heteròtrofa amb digestió externa, també coneguda com a exodigestió. L'exodigestió consisteix en l'alliberament d'enzims al seu voltant, els quals són capaços d'hidrolitzar les molècules orgàniques complexes. Els nutrients que es deriven d'aquesta hidròlisi són absorbits pel fong a través de la seva paret. Els fongs poden ser paràsits, majoritàriament sapròfits, ja que en molts casos s'alimenten d'organismes morts, i en alguns casos simbiòtics¹¹, tal com són els fongs que formen part dels líquens⁸.

Quant a la reproducció, aquesta pot ser tant asexual com sexual, tot i que la segona és més inusual. La majoria de les espècies fúngiques tenen la capacitat de reproduir-se per ambdós mètodes, encara que hi ha espècies que es reproduïxen únicament de manera sexual o bé asexual.

De manera asexual, es poden reproduir tant per gemmació, per fragmentació o a través d'espores. Aquest tipus de reproducció és molt més senzilla i efectiva que la sexual en cas d'estabilitat de les condicions ambientals, però els organismes que se'n deriven són genèticament idèntics al progenitor.

Es pot donar la doble reproducció en alguns casos, ja que en condicions desfavorables el fong passa a reproduir-se de manera sexual. Al reproduir-se d'aquesta manera, hi ha la possibilitat que el fong descendent adquireixi algun tret que el beneficiï i l'ajudi a sobreviure. La sexual consisteix en la unió i fusió de dues hifes de dos micelis diferents, uns filaments ramificats formats per cèl·lules allargades que units formen el miceli dels fongs.

2.2.2.1.1. *Levaduriformes*

Grup de fongs unicel·lulars, d'entre 4 i 7 micres de les divisions *Ascomycota* i *Basidiomycota*. No formen hifes, tot i que en alguns casos poden formar pseudohifes⁹.

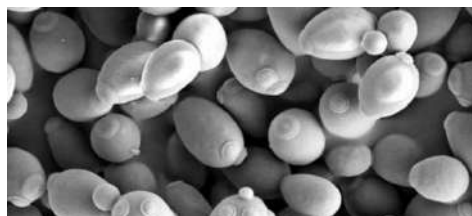


Figura 21: Conjunt de fongs llevaduriformes: *Saccharomyces cerevisiae*.

Tenen la capacitat de créixer en ambients anaeròbics, ja que realitzen la fermentació⁷, amb la qual descomponen les molècules orgàniques del seu voltant. Aquesta característica fa que s'utilitzin en molts processos alimentaris.

2.2.2.1.2. *filamentosos*

Aquests són pluricel·lulars, i se'n pot distingir el cos vegetatiu del reproductiu. El vegetatiu és la part filamentosa constituïda pel miceli, conjunt d'hifes. El reproductiu és l'encarregat de generar les espores.



Figura 22: Conjunt d'espors del gènere *Penicillium*.

2.2.2.1.2. famílies fúngiques més comunes

Dins el regne dels fongs, hi ha moltes famílies diferents amb característiques molt diverses. Les famílies més comunes són les següents:

Família (-aceae)	Característiques	Exemples:
<i>Trichocomaceae</i>	Fongs filamentosos. Condicions extremes. Relacionats amb la descomposició i els aliments.	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Paecilomyces</i>
<i>Endomycetaceae</i>	Fongs llevaduriformes. Forma part de la microbiota. Relacionat amb els cereals, les plantes i els productes làctics.	<i>Geotrichum</i> <i>Endomyces</i>
<i>Dipodascaceae</i>	Fongs llevaduriformes. Relacionats amb la descomposició i els aliments.	<i>Dipodascus</i> (<i>Yarrowia</i>)
<i>Saccharomycetaceae</i>	Fongs llevaduriformes. Capacitat de fermentació ⁷ . Importants per a la producció d'aliments (cervesa, vi, pa, etc)	<i>Saccharomyces</i>

Taula 5: Famílies fúngiques més comunes

2.2.2.2. Protozoous [10,11]

Són organismes unicel·lulars heteròtrofs. Poden ser paràsits, comensals¹⁰ o simbiòtics¹¹. La nutrició és interna, ja que la seva membrana plasmàtica és flexible i li permet la fagocitació⁵ dels nutrients. Generalment són aquàtics o habiten en zones humides, tot i que també parasiten alguns organismes. La seva reproducció pot ser sexual o asexual.

Segons les estructures de desplaçament que presenten, es classifiquen en:

2.2.2.2.1. flagel·lats

Presenten un flagel a la membrana, un orgànel allargat que recorda a una cua. La reproducció és a partir de gàmetes o per bipartició. Generalment, habiten l'aigua dolça o bé són paràsits.

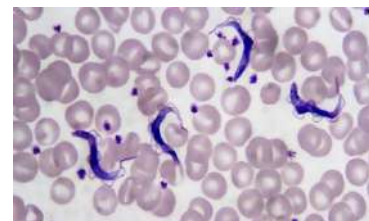


Figura 23: Conjunt de protozoous flagel·lats: *Tripanosoma brucei*, (causant de la malaltia del son).

2.2.2.2.2. ciliats

Tenen cilis al voltant de la seva membrana plasmàtica, uns petits orgànuls filamentosos. Aquests també els serveix per, ja que capten els aliments i els guien a la citofaringe, un orifici que els fa de boca.



Figura 24: Conjunt de protozoous ciliats: *Paramecium*

2.2.2.2.3. rizòpodes

La seva membrana presenta pseudopòdis, uns allargaments temporals que li permeten la fagocitació⁵ dels aliments.



Figura 25: Conjunt de protozoous rizòpodes: *Chaos glabrum*.

2.2.2.2.4. esporozous

No tenen cap estructura que li faciliti el moviment, sinó que el desplaçament és a partir de contraccions corporals. La seva reproducció pot ser per alternança de generacions [12], o bé per esporulació.

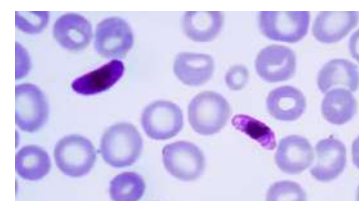


Figura 26: Conjunt de protozoous esporozous: *Plasmodium falciparum*, (causant de la malària).

2.2.2.3. *Algues* [2, 13]

Són organismes aquàtics i autòtrofs fotosintètics, ja que fan la fotosíntesi. Les seves cèl·lules contenen cloroplasts, orgànuls cel·lulars que utilitzen per a portar a terme la fotosíntesi.

També presenten pigments, com ara la xantofil·la i la clorofil·la, la segona també present en les cèl·lules vegetals. La seva paret està formada per cel·lulosa, un polisacàrid estructural que també forma la paret cel·lular dels vegetals.

La reproducció pot ser sexual, mitjançant gàmetes, o bé asexual, a partir d'espores, bipartició o fragmentació. Dintre les algues, trobem dos grups:

2.2.2.3.1. *unicel·lulars*

Són molt variades. La gran majoria d'elles pertanyen al fitoplàncton, i habiten a l'aigua salada o bé a l'aigua dolça.

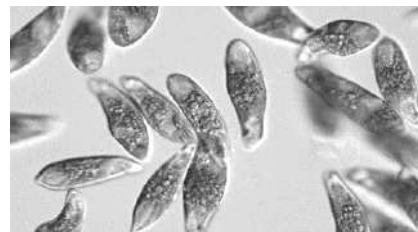


Figura 27: Conjunt d'algues unicel·lulars.

2.2.2.3.2. *pluricel·lulars*

Aquestes es classifiquen segons el seu color: brunes, roges o verdes. Les últimes són els organismes precursors dels vegetals.

No són considerades microorganismes, per tant, no s'aprofundirà més en elles.

3. El diner

Aquest treball es basa en l'**estudi dels microorganismes presents en el diner en efectiu, és a dir, en els bitllets i monedes**. Aquests objectes són molt comuns i una part fonamental de la societat actual, ja que són una peça clau de l'economia. La seva constant circulació fa que aquests siguin tocats per mans de moltes persones diferents, estant en contacte amb els microorganismes que es troben sobre la superfície de les mans.

Però, què és exactament el diner? [14]

Quan parlem de diner, no només ens referim a petits metalls de forma circular i als papers de forma rectangular amb una impressió. El diner és qualsevol classe de canvi que la societat accepta en tota economia basada en l'intercanvi. Per tant, és una peça clau, ja que la utilitzem per a pagar en rebre un bé o servei, i per cobrar quan som nosaltres qui ho oferim.

3.1. història del diner [15,16]

El sistema econòmic va néixer fa molt de temps, durant el període del Neolític, fa més de deu mil anys. En aquest període s'inicia la divisió de treballs. La gent passa a especialitzar-se (d'una manera molt menys àmplia a l'actual) en diferents feines: agricultors, ramaders, artesans... Amb els excedents que es produïen es generaven intercanvis per altres productes, naixent així el comerç.

Aquest sistema va persistir durant milers d'anys, fins que el segle VII aC, a Grècia, es va inventar la moneda; un petit objecte de metall de forma circular. Uns anys més tard, va néixer a la Xina i l'Índia el concepte de moneda, però aquestes



Figura 28: Monedes originàries de l'època romana.

eren diferents de les actuals. Les formes eren variades, i els materials eren metalls preciosos, com ara la plata, el bronze i l'or.

Amb el temps, es van deixar d'utilitzar materials preciosos, donant pas a aliatges molt més econòmics i fàcils d'obtenir, com ara el cuproníquel¹². Simultàniament, al segle XVII, a Suècia, es va començar a utilitzar el paper moneda, més tard conegut com a bitllet.



Figura 29: Primer bitllet portuguès, 1799.

Aquests, es van anar expandint durant els següents segles arreu del món, suplantant les monedes d'alts valors.

Tres segles més tard, a la dècada dels cinquanta, dins d'una oficina de Manhattann, Estats Units, va sorgir el concepte de la targeta. El petit tall de paper va anar-se popularitzant per tot els Estats Units, fins arribar a Europa a finals dels seixanta. En concret, la targeta de



Figura 30: Primera targeta de crèdit.

crèdit no va arribar a Espanya fins l'any 1978, uns anys més tard que la resta d'Europa, però l'ús d'aquesta va propagar-se molt ràpidament.

3.2. mètodes de pagament actuals

El diner en efectiu (bitllets i monedes) ha perdurat fins a l'actualitat, on conviu amb els xecs i les targetes de crèdit, de dèbit i de prepagament. Tot i que el pagament amb efectiu és més senzill, el pagament amb targeta s'ha popularitzant per la seva immediatesa i comoditat.

Generalment, cada adult disposa d'una targeta personal, la qual està vinculada al seu compte bancari. En pagar amb targeta, es descompta l'import del producte o servei directament del que es disposa en el compte bancari.

Quan paguem amb targeta, sigui de crèdit, de dèbit o de prepagament, no manipulem un objecte que ha passat per moltes mans, ja que pràcticament només la utilitzem nosaltres o en alguns casos el dependent de la botiga.

Aquest fet també passa amb les aplicacions de pagament. Es comencen a utilitzar aplicacions que permeten pagar a partir d'algun tipus de dispositiu electrònic, més comunament, els telèfons mòbils. Un exemple d'aquestes aplicacions és Google Pay, Apple Pay, Bizum, etc. A l'utilitzar el mòbil, utilitzem un objecte que només manipulem nosaltres i, en alguns casos, els nostres pròxims.

Un altre sistema de pagament que tampoc no involucra tocar objectes manipulats per molta població, serien els mitjans digitals d'intercanvi amb criptografia¹³.



Figura 31: Terminal d'intercanvi de BTC.

Aquest tipus de diner és conegut com a criptomoneda, i la primera, anomenada Bitcoin (BTC), va posar-se en circulació l'any 2009. Des de llavors ja s'han creat altres criptomonedes, com ara Litecoin, Ethereum i Dogecoin.

Tot i que les criptomonedes no s'han acabat d'instaurar en la gran majoria de població, no és d'estranyar que en conjunt amb les aplicacions de pagament i les targetes, en un futur pròxim extingeixin els bitllets i monedes.

Aquesta extinció, d'alguna manera ens beneficiaria: els sistemes esmentats són més àgils i fàcils. A més, el diner en efectiu passa de persona a persona constantment, ja que és el màxim objecte d'intercanvi del nostre sistema econòmic actual. En passar constantment de mà en mà, els bitllets i monedes contenen una càrrega microbiana bastant considerable.

4. Estudis previs

Per a qualsevol estudi científic és molt important fer una recerca d'estudis anteriors relacionats amb el que es vol realitzar. Partint d'aquests coneixements previs és més fàcil evitar errors comesos a priori per altres investigadors, descartar alguns aspectes de la investigació i obtenir resultats i coneixements relacionats amb el tema.

A continuació hi ha un recull d'estudis microbiològics de bitllets fets.

L'any 1972 un estudi de l'*American Medical Association* [17] **va descobrir per primera vegada microorganismes en els bitllets**. Des de llavors, s'ha considerat als diners com un dels objectes més transmissors de microorganismes, dels quals alguns poden ser potencialment patògens. La constatació de la circulació fa que els bitllets recorrin llargues distàncies i passin a una gran quantitat de mans, essent molt fàcil la seva contaminació.

El paper dels bitllets està constituït bàsicament per cel·lulosa¹⁴, una substància que proporciona als microorganismes una gran quantitat de nutrients. Segons estudis publicats per la universitat d'*Oxford* [18], aquesta substància afavoreix a la durada dels microorganismes. També va declarar que **la durada de vida dels microorganismes és molt diversa, oscil·lant majoritàriament entre els deu dies i els vint-i-cinc dies**. Aquesta durada depèn dels tractaments que s'han aplicat al bitllet i de la resistència del microorganisme en qüestió.

Uns anys més tard, entre el 2004 i el 2007, es va realitzar un estudi de la microflora present en alguns bitllets que estaven en circulació. El *Research Institute of Epidemiology and Microbiology* de Rússia [17] va aconseguir decretar que **la totalitat dels bitllets que estaven en circulació contenien microorganismes**. A més, va establir que aproximadament **el 20% dels bitllets contenien algun microorganisme patògen i que tots presentaven espores de floridures**.

Al llarg de l'estudi, **van poder identificar 34 espècies patògenes**, la majoria de les quals eren bacterianes. Van reconèixer **31 espècies bacterianes**, les quals pertanyien a 9 classes diferents. Entre aquestes espècies, hi havia *Escherichia coli*, un dels principals causants de la intoxicació alimentària, *Flavobacterium psychrophilum*, *Pasteurella Multocida* i *Bacillus Cereus*, així com una gran quantitat d'espècies del gènere *Streptococcus* i *Staphylococcus*.

Quant a la resta de patògens, tots pertanyien al regne dels fongs. Es van detectar un total de **3 espècies fúngiques**, que pertanyien a dos gèneres diferents. Entre les espècies reconegudes, hi havia *Aspergillus niger* i *Aspergillus flavus*, pertanyents al mateix gènere, i *Penicillium chrysogenum*.

Un altre estudi executat el 2017 pel *Centre de Genoma i Biologia de Sistemes* de la Universitat de Nova York [19], va permetre determinar la quantitat de microorganismes. Segons l'estudi que van realitzar, els bitllets del mateix banc presentaven més de 3.000 espècies diferents. **En posar-se en circulació però, el nombre de microorganismes augmentava fins a 24.000.**

El mateix any a Hong Kong, també es feia un estudi del mateix tema [20]. Els resultats van concloure que el **94% dels bitllets i monedes estudiats contenen bacteris i virus** sobre la seva superfície, i que aquests sobreviuen entre 1 i 13 dies, un nombre bastant diferent del publicat de la universitat d'Oxford. A l'estudi es van identificar diversos gèneres i espècies comuns: el gènere *Acinetobacter*, que es trobava en el 16,27% de les mostres estudiades, amb alguna espècie patògena com ara *Acinetobacter baumannii*. També es va trobar amb un 5% *Propionibacterium acnes*, el bacteri causant de l'acne, *E. coli* amb un 2%, i *Clostridium difficile*, un bacteri formador d'espores, en un 1% de les mostres.

L'estudi, a més, conclouïa que l'alta circulació del diner en efectiu facilitava la seva contaminació, la qual podia ser a través del menjar, la terra, l'aire i, sobretot, les mans que el manipulen. A causa de la constant i àmplia circulació, els bitllets són un **transmissor de gens de resistència als antibiòtics** bastant important, ja

que s'observava que tenien un potencial de difondre gens de resistència fins a 48 vegades major que a través de l'aire.

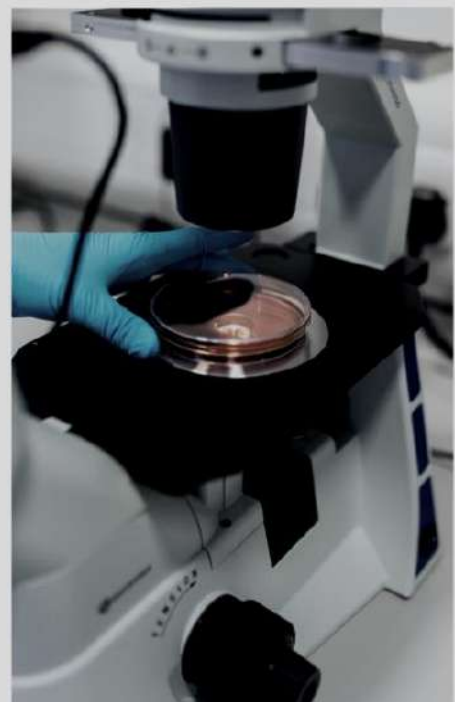
L'abril del 2020, arran de la pandèmia mundial de la COVID-19, s'ha fet ressò de la recent investigació realitzada pel *Centre Mèdic Universitari d'Hamburg-Eppendorf* [21]. A l'estudi es va comparar la resistència en els bitllets i les monedes. Més concretament, en els bitllets de 5 euros, en les monedes de 5 i 50 cèntims, i les d'1 euro. L'estudi conclou que **les monedes presenten una major activitat antimicrobiològica** degut a la seva composició.

La important quantitat de coure, un dels materials que impedeixen més la resistència dels microorganismes, **impedeix que més del 99% de la microflora resisteixi més de 24h**. Per altra banda, en els bitllets no es produeix cap reducció del nombre de microbis inicial.

Tot i que els bitllets i monedes poden contenir una càrrega microbiana, aquests no són una font important de transmissió o contagi. Últimament, s'ha difós popularment la possibilitat de contagiar-se de COVID-19 al manipular diners en efectiu contaminats pel virus. L'OMS, però, ha desmentit aquestes declaracions, ja que **la possibilitat d'infectar-se a través dels diners és pràcticament nul·la**. Tot i això, sempre s'ha d'evitar manipular de manera excessiva i vigilar amb qualsevol mena d'objecte, ja sigui una moneda, un bitllet, un botó d'un caixer automàtic o la barra d'un metro, entre molts altres objectes.

5., 6., 7., 8., 9., 10.

Recerca experimental



5. Problemes, objectius i hipòtesis

5.1. Problemes

A l'inici del treball m'he plantejat els següents problemes a estudiar:

- Influeix la proximitat dels països on es recullen els bitllets en la similitud d'espècies de microorganismes que s'hi troben?
- Quins gèneres bacterians i fúngics es troben als bitllets?
- Els bitllets contenen bacteris i fongs patògens?
- Quin és el nombre aproximat de microorganismes presents en els bitllets?
- Poden ser els bitllets una possible font de contagi de malalties infeccioses?

5.2. Objectius

A partir d'aquests problemes, m'he marcat uns objectius a complir:

- Dissenyar diferents experiments.
- Iniciar-me en el treball dins d'un laboratori de microbiologia.
- Aprendre sistemes de congelació de microorganismes.
- Realitzar diversos tipus de sèbres de microorganismes.
- Aprendre a realitzar proves bioquímiques i tincions.
- Entendre l'objectiu i el funcionament de cada prova, tinció, tècnica, mètode, etc. utilitzat al llarg del meu treball.
- Descobrir si els bitllets contenen un nombre considerable de microorganismes i si poden ser potencialment patògens.
- Identificar els gèneres bacterians i fúngics obtinguts a les mostres cultivades.
- Determinar el nombre aproximat de bacteris i fongs a cada bitllet.

- Comparar els microorganismes presents en els bitllets segons la seva procedència.
- Contrastar si la proximitat entre els països condiciona que hi hagi microorganismes semblants.
- Comparar el nombre de microorganismes presents en bitllets i monedes.*
- Determinar quin sistema de congelació conserva millor els microorganismes. *
- Relacionar el material de la mostra estudiada i la quantitat de microorganismes. *

5.3. Hipòtesis

A partir dels objectius m'he formulat les hipòtesis següents:

- **Hipòtesi 1:** Potser els bitllets contenen microorganismes.
- **Hipòtesi 2:** Potser hi ha un nombre considerable de bacteris i fongs en els bitllets, el qual s'aproxima a les 5.000 ufc** / bitllet.
- **Hipòtesi 3:** Potser els bitllets contenen alguns gèneres fúngics patògens que causen malalties infeccioses comunes.
- **Hipòtesi 4:** Potser es pot trobar en els bitllets gèneres bacterians patògens.
- **Hipòtesi 5:** Potser és habitual la presència de bacteris coliformes en els bitllets.
- **Hipòtesi 6:** Potser les mostres de països pròxims entre si presentaran una microflora similar, i els més distants contindran microorganismes més diferents.
- **Hipòtesi 7:** Potser les característiques del clima dels països on s'han obtingut les mostres influiran en els microorganismes que es trobin als bitllets del país.

* Aquests objectius s'han vist frustrats a causa dels canvis que s'han anat donant al llarg del treball.

** Unitats Formadores de Colònies.

6. Medis de cultiu i proves

6.1. Medis de cultiu

[22, 23]

Per a poder portar a terme un treball de microbiologia, es requereixen microorganismes vius que necessiten constantment nutrients per a viure. De manera natural, els microorganismes extreuen els nutrients del medi que els envolta però al laboratori els obtenen de manera artificial mitjançant medis de cultius.

Un medi de cultiu és una substància que conté les condicions òptimes i necessàries per afavorir la proliferació cel·lular¹⁵ dels microorganismes del cultiu. La composició dels medis està formada per substàncies orgàniques i inorgàniques i un substrat. Les substàncies orgàniques (com ara lípids, sucres i proteïnes) i les substàncies inorgàniques serveixen com a font de nutrients per als microorganismes, per tal d'afavorir-ne el creixement.

Hi ha molts tipus de medis de cultiu amb característiques molt diverses. Aquests es poden diferenciar per la seva utilitat i la seva consistència o estat físic.

Segons l'estat físic, els medis es diferencien entre medis líquids i medis sòlids:

- **Medi líquid:** També és anomenat brou o caldo, ja que està compost per aigua, extracte de carn i peptones¹⁶. Generalment s'utilitzen per a cultius nocturns.
- **Medi semisòlid:** Són medis líquids al qual s'hi ha afegit un solidificant amb una baixa concentració respecte a la dels medis sòlids.
- **Medi sòlid:** S'obtenen a partir d'un medi líquid al qual s'hi afegeix una quantitat considerable d'agent solidificant, que pot ser agar¹⁷ o gelatina. Generalment, aquest tipus de medi és el més utilitzat en microbiologia, ja que permet separar i aïllar les diferents colònies.

Segons la seva utilitat, es classifiquen en:

- **Medis mínims:** Cobreixen les necessitats mínimes dels microorganismes. Estan formats per únicament sals minerals i una font de carboni.
- **Medis de desenvolupament:** Tenen les substàncies necessàries per al creixement de pràcticament tota mena de colònies microbiològiques, ja que no són selectius.
- **Medis selectius:** Aquests medis tenen substàncies que inhibeixen el creixement de determinats tipus de bacteris que són indesitjables i permeten la proliferació de les desitjables.
- **Medis diferencials:** S'utilitzen per a identificar i cultivar un tipus de microorganisme concret. Els medis diferencials contenen substàncies que fan que determinats microorganismes destaquin de la resta de microorganismes.

6.1.1. Nutrient Agar

És un medi de desenvolupament que permet la proliferació de microorganismes poc exigents. Està compost per extracte de carn, peptona, clorur sòdic i agar¹⁷.

6.1.2. Plate Count Agar (PCA)

És el medi de desenvolupament utilitzat per a la realització d'un recompte total dels bacteris aeròbics.

6.1.3. Chromogenic Coliform Agar (CCA)

Aquest medi diferencial s'utilitza per detectar i enumerar la quantitat de coliformes i *E.coli* β -glucuronidasa positius. El medi està format per extracte de llevat, clorur sòdic, peptona de caseïna¹⁸ i agar¹⁷, entre altres components. Aquesta composició permet diferenciar en un color violeta o blau marí les colònies d'*Escherichia coli* de les de bacteris coliformes, les quals es veuen d'un color vermell o rosa.

6.2. Proves bioquímiques

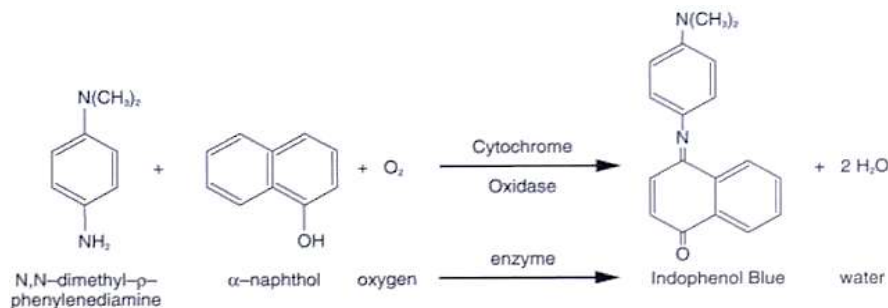
[24, 25, 26]

Per tal de poder classificar i diferenciar els microorganismes segons el seu metabolisme, s'utilitzen les proves bioquímiques. Consisteixen en diversos tests químics que determinen l'absència o la presència d'un determinat enzim. Generalment, aquestes proves introdueixen artificialment un substrat¹⁹, el qual reacciona amb l'enzim que s'estudia. Si es dona la reacció química esperada, indica que el microorganisme presenta l'enzim i la ruta metabòlica en qüestió.

6.2.1. Microbact Oxidase strips

Les tires contenen un compost (N,N,N',N'-tetrametil-1,4-fenilendiamina) que permet la detecció de l'enzim Citocrom c oxidasa, que no és present en els microorganismes anaerobis obligats (veure al punt 2.2.1.2.3). Aquest enzim pertany a les l'oxidases, un grup que contribueix a la producció d'ATP.

Si la tira canvia de color blanc a violeta, indica que és Citocrom c oxidasa positiu, per tant, un microorganisme aerobi o anaerobi facultatiu (veure al punt 2.2.1.2.3).



6.2.2. Prova de la catalasa

En posar en contacte una colònia amb una gota de solució de peròxid d'hidrogen (H_2O_2) al 3%, més coneguda com a aigua oxigenada, es pot detectar si la colònia conté un enzim anomenat catalasa. Aquest enzim descompon el peròxid d'hidrogen en oxigen i aigua, fent que es puguin observar bombolles en cas que sigui positiu.



Figura 33: Representació de la reacció de la catalasa.

6.2.3. Pseudalert, Quanti-Tray

Pseudalert serveix per a detectar la presència de *Pseudomonas aeruginosa*. La prova utilitza un substrat¹⁹ que en posar-se en contacte amb un enzim que presenten les *Pseudomonas*, genera fluorescència de color blavós amb llum ultraviolada.

6.2.4. Colilert-18, Quanti-Tray

Aquesta prova s'utilitza per a detectar bacteris coliformes i *E.coli*.

La mescla conté un substrat¹⁹ anomenat ONPG, el qual els coliformes poden metabolitzar gràcies a un enzim. En trencar-se l'enllaç gràcies a un enzim específic, la dissolució passa d'incolora a un color groguenc.

Per altra banda, conté un altre substrat¹⁹ anomenat MUG. Les *E. coli* utilitzen un enzim (β -glucuronidasa) que crea fluorescència groga sota llum ultraviolada.

6.3. Tincions diferencials

Aquest grup de tincions s'utilitza per a agrupar mitjançant colorants diferencials.

6.3.1. Tinció de Gram

Aquesta tinció permet la diferenciació entre els bacteris Gram positius i els bacteris Gram negatius (veure al punt 2.2.1.2.2). Segons la retenció de colorant que presenta la paret cel·lular, es tenyeixen de blau (G+) o bé de color rosat (G-).

7. *Tècniques i mètodes utilitzats*

7.1 *Treball sota flama*

És important que en un treball de microbiologia s'estigui en un ambient el màxim estèril possible per evitar la contaminació dels estudis. Com que no dispo de campana de flux laminar, que permet un ambient completament estèril, he hagut de recórrer al fogonet. La flama del fogonet proporciona un radi d'uns 20 cm de zona asèptica²⁰, un marge més reduït que amb la campana, però suficient per a l'execució de la part pràctica d'aquest treball.

7.2. *Conservació de microorganismes*

[27, 28, 29]

La conservació de microorganismes permet estudiar una mostra microbiològica a llarg termini, sense que aquesta mori completament. Al conservar una mostra, s'espera que entre un 20 i un 30% de la càrrega microbiana mori, però aquest nombre varia en funció del temps, el nombre, la temperatura, el pH, etc.

7.2.1. *Conservació per congelació*

Aquest mètode de conservació utilitza la congelació de les cèl·lules a menys de 0°C, la qual cosa fa que els microorganismes aturin el seu metabolisme: no es reproduïxen, i a la vegada la majoria no moren.

En congelar els microorganismes, però, hi ha la possibilitat que les parets o membranes de les cèl·lules col·lapsin. El citoplasma de les cèl·lules conté molta aigua en estat líquid, la qual a estar a menys de 0°C se solidifica. En solidificar-se, augmenta el volum i pot arribar a formar cristalls d'una mida bastant considerable, la qual cosa pot trencar les membranes o parets cel·lulars.

Per evitar el col·lapse de les parets cel·lulars, s'afegeix un agent crioprotector, el qual protegeix les cèl·lules dels danys que pot ocasionar la congelació. Hi ha una gran varietat de substàncies químiques anticongelants: alguns sucres, com ara

la glucosa, la maltosa i la rafinosa, la polivinilpirrolidona, l'etilenglicol, entre altres. El més utilitzat, però, és el glicerol.

El glicerol és un compost orgànic crioprotector. En contacte amb cèl·lules, reemplaça l'aigua del seu citoplasma i regulen la seva deshidratació, de manera que no canvia la seva estructura i es redueix la formació de cristalls.

A la vegada, el glicerol en altes concentracions és tòxic per a les cèl·lules, de manera que no es pot utilitzar en concentracions més altes del 30%.

7.3. Sembra de microorganismes

[22, 23]

Es coneix com a sembra al procés de transferir de manera artificial una part de mostra en un medi de cultiu, per tal d'iniciar un cultiu microbià. Els diferents mètodes de sembra varien segons l'objectiu de la sembra: l'obtenció d'un cultiu pur, l'augment de la biomassa, el recompte de microorganismes, la realització de proves bioquímiques... i del tipus de medi: sòlid, líquid, semisòlid.

7.3.1. Sembra en estria fins a l'esgotament

Aquest tipus de sembra es realitza amb l'ajuda d'una nansa de Kolle esterilitzada. Amb aquesta es recull la mostra i es fa lliscar sobre el medi sòlid tot dibuixant una ziga-zaga a tota la placa.

S'utilitza principalment per aconseguir un cultiu pur o bé colònies aïllades.

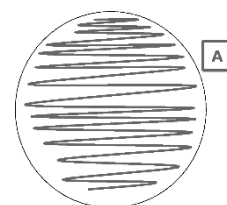


Figura 34: Sembra en estria fins a l'esgotament.

7.3.2. Sembra en estria escocesa

Aquesta sembra es realitza també amb una nansa de Kolle esterilitzada. A diferència de la sembra en estria fins a l'esgotament, es fa lliscar la nansa sobre el medi sòlid, obtenint línies paral·leles. Es va girant la placa, de manera que quedin diferents regions, amb la finalitat d'obtenir diferents concentracions de microorganismes.

Aquest tipus de sembra s'utilitza per a l'obtenció de colònies aïllades.

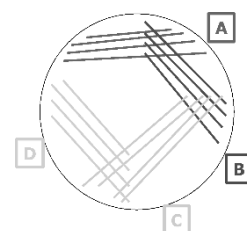


Figura 35: Sembra en estria escocesa.

7.3.3. Sembra per disseminació

Per a sembrar per disseminació es requereix una nansa de Digrafsky. Després de dipositar un volum d'entre 0,1 i 0,5 mL de cultiu líquid sobre el medi sòlid, s'escampa amb la nansa fins que el cultiu líquid hagi quedat absorbit.



Figura 36: Sembra per disseminació

S'utilitza principalment per fer recompte de colònies a partir de mostres líquides.

7.3.4. Sembra en profunditat

Aquesta tècnica consisteix en dipositar un volum d'entre 1 i 2 mL sobre una placa de petri prèviament esterilitzada, sobre la qual s'aboca medi sòlid fos.

Amb aquest tipus de sembra s'aconsegueix un cultiu de microorganismes anaerobis facultatius i anaerobis aerotolerants (veure al punt 2.2.1.2.3).

7.4 Recompte d'U.F.C.

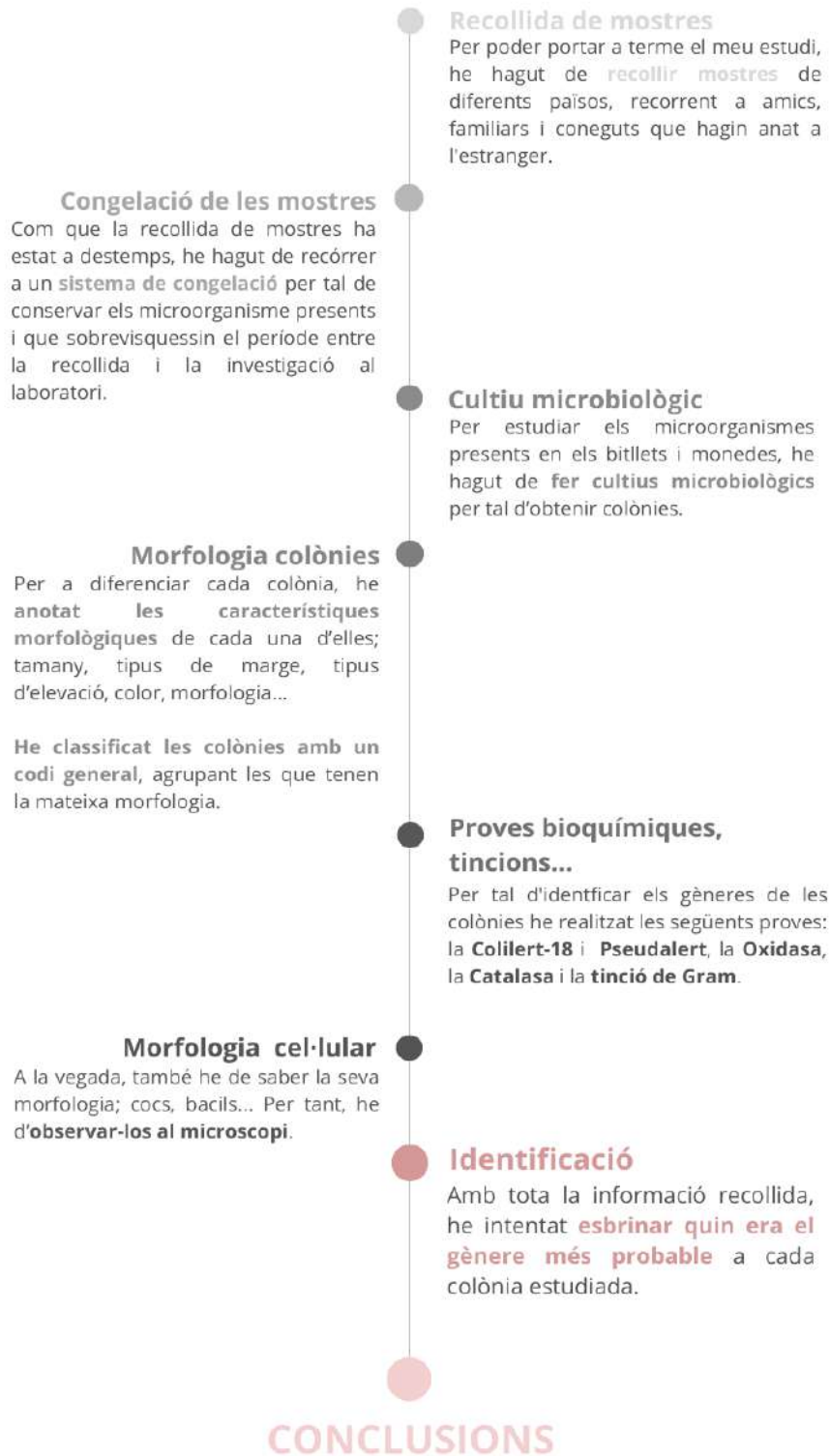
El recompte d'Unitats Formadores de Colònies és àmpliament utilitzat per conèixer la quantitat de microorganismes viables que hi ha en una mostra.

Les cèl·lules viables són capaces de dividir-se nombroses vegades en unes condicions concretes, que es poden afavorir en un laboratori (nutrients, temperatura idònia...) fins a obtenir una colònia visible a ull nu. Per tant, cada una de les colònies sortides a la placa provenen d'un únic microorganisme. Sabent el nombre de colònies resultants, podem saber quants microorganismes viables hi havia inicialment, també conegudes com "Unitats Formadores de Colònies".

És important, però, que el nombre de colònies per placa estigui entre les 15 i les 150, per assegurar-se que cada colònia provingui d'un únic microorganisme.

8. Planificació general

PLANIFICACIÓ GENERAL DE LA RECERCA EXPERIMENTAL



Esquema 3: Planificació general de la recerca experimental.

9. Dietari

Cada tasca (x) està explicada a l'apartat 10.Procés experimental.

Dia	(AB: aigües Banyoles) Lloc		Treball realitzat	Estudi dels microorganismes en els bitllets estrangers <i>Primer remodelatge de l' objectiu inicial</i>
	Casa	AB		
20/12/2019 - 01/01/2020			<ul style="list-style-type: none"> Recollida de mostres (Doha, Abu Dhabi, Masqat, Londres i Banyoles). (0) 	
01/01/2020			<ul style="list-style-type: none"> Etiquetatge de les mostres. (1) Elaboració de la taula de congelació de mostres. (1) 	
02/01/2020			<ul style="list-style-type: none"> Congelació amb aigua peptonada i glicerol dels bitllets i monedes seleccionats de les ciutats de Doha, Abu Dhabi, Masqat, Londres i Banyoles. (2) 	
02/01/2020 - 01/02/2020			<ul style="list-style-type: none"> Recollida de mostres (Ayutthaya i Koh Kood island i Benín). (0) 	
01/02/2020			<ul style="list-style-type: none"> Congelació amb aigua peptonada i glicerol dels bitllets i monedes seleccionats segons la taula de congelació de mostres de les ciutats d'Ayutthaya i Koh Kood island i del país de Benín. (2) 	
08/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> Realització d'un esquema del treball que es realitzarà durant l'estada. 	

09/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Estudi de dues mostres: Do-2-1-b (AP) i Do-2-1-b (gli), amb la finalitat de comprovar la seva viabilitat. • Sembra per disseminació de 0,1 mL de cada mostra en Nutrient Agar i medi CCA. (3) • Realització de la prova Colilert-18 a la mostra Do-2-1-b (AP). (4) • Realització de la prova Pseudalert a la mostra Do-2-1-b (gli). (4) 	
10/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Anàlisi dels resultats de la prova Colilert-18 i Pseudalert. 	
11/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Observació dels cultius en Nutrient Agar i medi CCA. 	
11/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Do-2-1-b (AP). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Do-2-1-b (AP). (6) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Do-2-1-b (AP). (7) 	
12/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Do-2-1-b (gli). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Do-2-1-b (gli). (6) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Do-2-1-b (gli). (7) 	
15/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Recollida de bitllets de 5 euros a diferents establiments de la meua ciutat: un supermercat, una fruiteria, una perruqueria, una gasolinera i al meu moneder. (0) 	
16/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Estudi de la mostra Cat-5-3-b recollida al supermercat, per tal de comprovar la viabilitat de les mostres d'aquí. • Sembra per disseminació de 0,1 mL a partir de mostra física en Nutrient Agar i medi CCA. (8) • Realització de la prova Colilert-18. (4) • Realització de la prova Pseudalert. (4) 	

16/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Cultiu per contacte en medi PCA de la mostra Cat-5-2-b (NR). (9) • Sembra en estria amb hisop fins a l'esgotament en medi PCA de la mostra Cat-5-2-b (NR). (10)
17/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Anàlisi dels resultats de la prova Colilert-18 i Pseudalert. • Sembra en estria escocesa en medi CCA i Nutrient Agar de cultiu pur a partir d'uns dels pous positius en presència de bacteris coliformes. (11)
18/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Observació dels cultius de Nutrient Agar de la mostra Cat-5-3-b i del cultiu pur de coliforms en Nutrient Agar i medi CCA. • Realització de la prova de l'oxidasa a les colònies del cultiu pur de coliforms en Nutrient Agar. (12)
18/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Cat-5-3-b (NR). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Cat-5-3-b (NR). (6) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Cat-5-3-b (NR). (7)
20/06/2020			<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) en estria. (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) en estria. (6) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) en estria. (7)

estudi microorganismes en els bitllets d' aquí (Catalunya).

Segon remodelatge de l' objectiu inicial

21/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) per contacte. (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) per contacte. (6) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Cat-5-2-b (NR) per contacte. (7) 	Retorn a "Primer remodelatge de l'objectiu inicial" Estudi dels billets estrangers amb crioprotector.
22/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Sembra en profunditat en medi PCA de les mostres Ko-2-1-b (gli), Lo-2-1-b (gli), Ma-100-1-b (gli) i Ab-10-1-b (AP). (13) 	
24/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Ko-2-1-b (gli). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Ko-2-1-b (gli). (6) • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Lo-2-1-b (gli). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Lo-2-1-b (gli). (6) 	
25/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Ko-2-1-b (gli). (7) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Lo-2-1-b (gli). (7) 	
26/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Ma-100-1-b (gli) (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Ma-100-1-b (gli). (6) • Realització de la prova de la Catalasa a les colònies de la mostra Ab-10-1-b (AP). (5) • Realització de la tinció de Gram a les colònies de la mostra Ab-10-1-b (AP). (6) 	
27/06/2020		<ul style="list-style-type: none"> • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Ma-100-1-b (gli). (7) • Observació al microscopi de les colònies de la mostra Ab-10-1-b (AP). (7) 	

Taula 6: Dietari de la part pràctica.

10. Procés experimental

(0) recollida de mostres

Per tal que els resultats siguin el màxim fiables, i els microorganismes de les mostres siguin únicament del país d'origen, he seguit el següent protocol:

- Recollir les mostres en el país d'origen.
- Posar-les en un medi esterilitzat de manera segellada, per tal que els bitllets i monedes no es puguin contaminar amb el medi extern ni amb el mateix recipient (bosses tipus zip).
- Les mostres no han d'estar manipulades per la persona que les recull. Són les persones del país d'origen les que s'han d'encarregar d'obrir la bossa zip, col·locar la mostra a dins i tancar-la adientment.



(1) etiquetatge de les mostres

A fi de diferenciar les mostres, vaig dissenyar el següent **codi d'etiquetatge**: (per exemple, Cat - 05 - 01 - b)

- dues/tres lletres de la ciutat o país d'origen.
- dos dígits del valor del bitllet o moneda.
- número de la mostra (si tenia més d'un bitllet o moneda del mateix valor).
- b/m en funció de si és bitllet (b) o moneda (m).

Vaig anomenar tots els exemplars segons el codi dissenyat. Seguidament, vaig realitzar una taula (veure a l'annex B) en la qual decidia quines mostres congelaria directament i a quines tractaria amb un agent crioprotector degut a la disponibilitat limitada de material.



(2) congelació de les mostres

(veure al punt 7.2)

OBJECTIU:

Conservar els microorganismes presents en els bitllets per tal de que sobrevisquessin el període entre la recollida i la investigació al laboratori.

MATERIALS I REACTIUS:

- Falcons amb faldilla de 50 mL
- Falcons de 15 mL
- Bosses zip
- Pinces
- Fogonet (treballar sota flama)
- Glicerol
- Aigua peptonada
- Alcohol (esterilitzar)

PROCEDIMENT:

- Anomenar el material que s'utilitza (bosses zip, falcons de 50 i 15 mL) amb el codi del bitllet o moneda corresponent.
- Emplenar els falcons amb faldilla amb 10 mL d'aigua peptonada al 0,1%.
- Omplir els tubs falcon de 15 mL amb 5 mL de glicerol al 50%.
- Retirar la mostra de la bossa zip i introduir-la amb unes pinces prèviament esterilitzades dins el falcon amb aigua peptonada.
- Sacsejar els tubs durant 10 minuts de manera continuada, per desprendre els microorganismes adherits a la superfície de les mostres.
- Retirar el bitllet o moneda del tub i introduir-lo dins una nova bossa zip per si de cas es requeria retornar al bitllet o moneda.



- Dels 10 mL d'aigua peptonada on s'havia fet el rentat del bitllet o moneda, decantar 5 mL dins el falcon amb 5 mL de glicerol al 50%.*



- Posar ràpidament la mostra amb glicerol al congelador.**

- Finalment, posar tots els altres elements dins el congelador

(falcons de 50 mL, bosses amb bitllets o monedes “rentats” i bosses amb bitllets o monedes “no rentats”).

Com a resultat d'aquest procediment, s'obtenen quatre maneres diverses per estudiar les mostres: ***

“No Rentats”		bitllets i monedes congelats directament.
“Rentats”		bitllets i monedes sotmesos al procés amb l'agent crioprotector.
“Rentats”	“AP”	solució de 5 mL d'aigua peptonada 0,1%.
	“gli”	solució de 10 mL de glicerol i aigua peptonada.

Taula 7: Sistemes de congelació utilitzats.

* D'aquesta manera, s'aconsegueix com a resultat final una solució de 10 mL en els quals hi ha una meitat de glicerol al 50% i una meitat d'aigua peptonada al 0,1%. Per tant, la concentració de glicerol es redueix al 25%, ja que a alta concentració, és tòxic per a les cèl·lules.

** Ja que el glicerol és citotòxic, és a dir, que és capaç d'eliminar les cèl·lules.

*** Inicialment pretenia comparar l'efectivitat dels diversos tipus de congelació, per això vaig crear quatre sistemes diferents de congelació de les mostres. Arran dels canvis que he hagut de fer, no he pogut analitzar aquesta variable, i he passat a estudiar únicament les mostres congelades amb glicerol i aigua peptonada (gli), i les d'aigua peptonada (AP).

(3) sembra per disseminació

(veure al punt 7.3.3)

OBJECTIU:

Cultivar els microorganismes de la solució de rentat de manera que cada microorganisme present es reproduïxi fins formar una colònia. Un cop obtingudes les colònies, es poden realitzar les proves bioquímiques i les tincions.

MATERIALS I REACTIUS:

- Vòrtex
- Pipeta automàtica i puntes
- Nansa de Digrafsky
- Estufa de cultiu
- Fogonet (treballar sota flama)
- Alcohol (esterilitzar)
- Medis N.A. i CCA

PROCEDIMENT:

- Retirar el falcon del congelador.
- Un cop descongelat, utilitzar un vòrtex a una velocitat de 1000 r.p.m.*
- Amb l'ajuda d'una pipeta automàtica, prendre 0,1 mL de la dissolució i dipositar-ho sobre la placa amb el medi.
- Amb l'ajuda d'una nansa de Digrafsky, escampar la dissolució per la superfície del medi fins que aquesta s'absorbeix.
- Finalment, posar les plaques a una estufa a 38°C, on s'incuba 48 hores.



* Amb la finalitat d'homogeneïtzar la solució.

(4) proves Quanti-Tray: Colilert-18 i Pseudalert (veure punt 6.2.4)

OBJECTIU:

Detectar la presència en mostres aquoses de bacteris coliformes i *E. Coli* amb Colilert-18, i pseudomonas amb Pseudalert.



MATERIALS I REACTIUS:

- Quanti-tray
- Màquina selladora
- Fogonet (treballar sota flama)
- Estufa de cultiu
- Alcohol (esterilitzar)
- Aigua destil·lada
- Reactiu Colilert-18/Pseudalert

PROCEDIMENT:

- Omplir un pot estèril amb el volum de la dissolució de la mostra i enrasar-ho amb aigua destil·lada a 100 mL.

Codi mostra	Pseudalert / Colilert-18	Volum dissolució de la mostra
Do-2-1-b (AP)	Colilert-18	4,8 mL
Do-2-1-b (gli)	Pseudalert	9,8 mL
Cat-5-3-b	Colilert-18	9,9 mL
Cat-5-3-b	Pseudalert	9,9 mL

Taula 8: Volum de dissolució de les mostres en les proves Quanti-Tray.

- Afegir el contingut de la dosi a dins el pots i sacsejar-lo.
- Decantar la mescla en una Quanti-Tray i sellar-ho amb la màquina selladora.



- Posar la mostra dins una estufa de cultiu.
 - Les proves Colilert-18 en una estufa a 35,5°C durant 18 hores.
 - Les proves Pseudalert a 38°C durant 24 hores.

(5) *prova de la Catalasa*

(veure al punt 6.2.2)

OBJECTIU:

Detectar la presència de l'enzim Catalasa.

MATERIALS I REACTIUS:

- Portaobjectes
- Peròxid d'hidrogen al 3%
- Eскурadents esterilitzat
- (aigua oxigenada)

PROCEDIMENT:

- Amb un escuradents esterilitzat, recollir la colònia a la qual es realitzarà la prova.
- Col·locar la colònia sobre una gota de peròxid d'hidrogen.
- Inmediatament observar els resultats.

(6) tinció de Gram

(veure al punt 6.3.1)

OBJECTIU:

Diferenciar els bacteris grampositius dels gramnegatius.

(veure al punt 2.2.1.2.2)

MATERIALS I REACTIUS:

- Portaobjectes
- Escuradents
- Fogonet elèctric
- Pinces de fusta
- Aigua destil·lada
- Colorant cristall violeta
- Lugol
- Alcohol d'acetona
- Safranina

PROCEDIMENT:

- Col·locar una gota d'aigua destil·lada sobre un portaobjectes.
- Recollir la colònia amb un escuradents esterilitzat i mesclar-la amb l'aigua.

- Fixar les cèl·lules amb calor, amb l'ajuda d'un fogonet elèctric.



- Tenir la preparació amb el primer colorant: el cristall violeta.

- Després d'1 minut, rentar l'excés de colorant amb aigua destil·lada.



- Cobrir la mostra amb lugol, i deixar-ho actuar 1 minut més.
- Retirar novament el lugol amb aigua destil·lada.
- Decolorar la mostra amb alcohol d'acetona durant 30 segons i rentar.
- Tenir la preparació amb safranina 1 minut i retirar l'excés de colorant.
- Observar els resultats al microscopi òptic

(7) observació al microscopi òptic

OBJECTIU:

Observar les cèl·lules augmentades, permetent diferenciar la seva morfologia.

MATERIALS I REACTIUS:

- Portaobjectes
- Ecuradents
- Fogonet elèctric
- Pinces de fusta
- Microscopi òptic.
- Blau de metilè
- Aigua destil·lada

PROCEDIMENT:

- Col·locar una gota d'aigua destil·lada sobre un portaobjectes.
- Recollir la colònia amb un escuradents esterilitzat i mesclar-la amb l'aigua.
- Fixar les cèl·lules amb calor, amb l'ajuda d'un fogonet elèctric.
- Colorar la mostra amb blau de metilè.
- Passat 1 minut, retirar l'excés de colorant amb aigua destil·lada.
- Observar les preparacions amb el microscopi.



(8) sembra per disseminació a partir d'una mostra sense rentat previ

(veure al punt 7.3.3)

OBJECTIU:

Cultivar els microorganismes de la mostra prèviament realitzant una dissolució de la mostra recollida. Després es poden realitzar proves i tincions.

MATERIALS I REACTIUS:

- Pinces esterilitzades
- Pot estèril
- Ultrasonic Bath
- Pipeta automàtica i "boquilles"
- Nansa de Digiralsky
- Estufa de cultiu
- Fogonet (treball sota flama)
- Alcohol (esterilitzar)
- Aigua destil·lada
- Medi

PROCEDIMENT:

- Retirar els bitllets del seu recipient amb l'ajuda d'unes pinces esterilitzades.
- Col·locar-los en un pot amb 20 mL d'aigua destil·lada.
- Posar els pots dins la màquina Ultrasonic Bath a 500 Hz durant 10 minuts.
- Amb unes pinces novament esterilitzades, retirar el bitllet del pot.
- Prendre 0,1 mL de la dissolució amb una pipeta automàtica i dipositar-ho al centre del medi.
- Amb una nansa de Digiralsky, escampar la dissolució per la superfície fins l'absorció.
- Posar les plaques a l'estufa de 38°C durant 48 hores.



(9) cultiu per contacte d'una mostra sense rentat previ

(veure al punt 7.3.3)

OBJECTIU:

Cultivar els microorganismes de la mostra fent contacte sobre el medi amb la superfície del bitllet.

MATERIALS I REACTIUS:

- Pinceres esterilitzades
- Fogonet (treball sota flama)
- Estufa de cultiu
- Alcohol (esterilitzar)
- Medi

PROCEDIMENT:

- Retirar el bitllet del seu recipient amb l'ajuda d'unes pinceres esterilitzades.
- Col·locar el bitllet plegat sobre el medi, de manera que la meitat de la superfície del bitllet faci contacte sobre aquest.
- Posar les plaques a l'estufa de 38°C durant 48 hores*.



*Al no disposar d'estufa, vaig posar les plaques 72 hores a una temperatura oscil·lant entre 28 i 30°C.

(10) sembra en estria fins a l'esgotament d'una mostra sense rentat previ*

(veure al punt 7.3.1)

OBJECTIU:

Cultivar els microorganismes de la mostra lliscant sobre el medi l'hisop amb el que s'ha fregat la superfície del bitllet.

MATERIALS I REACTIUS:

- Pinces esterilitzades
- Hisop de cotó esterilitzat
- Fogonet (treballar sota flama)
- Estufa de cultiu
- Alcohol (esterilitzar)
- Medi

PROCEDIMENT:

- Retirar el bitllet del seu recipient amb l'ajuda d'unes pinces esterilitzades.

- Amb un hisop de cotó esterilitzat, fregar tota la superfície del bitllet.



- Lliscar l'hisop fent una ziga-zaga, de manera que la placa quedi coberta.



- Posar les plaques a l'estufa de 38°C durant 48 hores**.

*Realitzat amb hisop de cotó.

**Al no disposar d'estufa, vaig posar les plaques 72 hores a una temperatura oscil·lant entre 28 i 30°C.

(11) sembra en estria escocesa

(veure al punt 7.3.2)

OBJECTIU:

Obtenir un cultiu pur a partir de l'aïllament d'una colònia d'un cultiu .

MATERIALS I REACTIUS:

- Nansa de Kolle esterilitzada
- Estufa de cultiu
- Fogonet (treballar sota flama)
- Alcohol (esterilitzar)
- Medi

PROCEDIMENT:

- Amb una nansa de Kolle recollir la colònia que es vol obtenir un cultiu pur.
- Dibuixar 3 ratlles perpendiculars, girar una mica la placa i dibuixar 3 ratlles més, de manera que se solapin. Continuar dibuixant ratlles fins arribar a cobrir quasi tota la placa.
- Finalment, posar la placa en una estufa a 38°C durant 48 hores.



(12) prova de l'oxidasa

(veure al punt 6.2.1)

OBJECTIU:

Detectar la presència de l'enzim oxidasa.

MATERIALS I REACTIUS:

- Nansa de Kolle esterilitzada
- Tira de Microbact Oxidase

PROCEDIMENT:

- Amb una nansa de Kolle esterilitzada recollir la colònia i estendre-la sobre la tira de Microbact Oxidase.
- Després d'un minut, observar els resultats.

(13) sembra en profunditat

(veure al punt 7.3.4)

OBJECTIU:

Cultivar un major volum de dissolució, obtenint un nombre de microorganismes cultivats més elevat.

MATERIALS I REACTIUS:

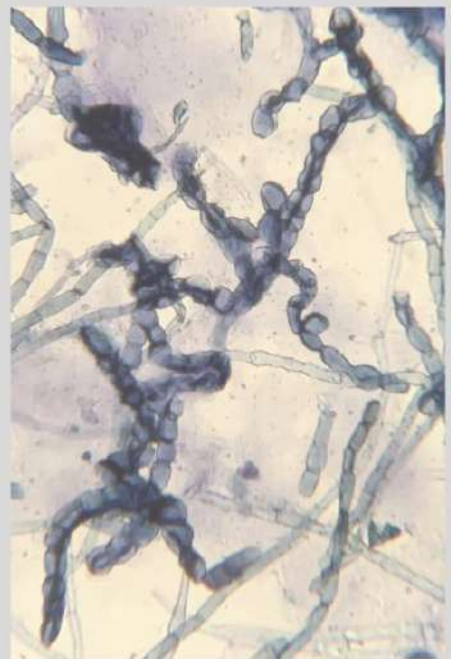
- Vòrtex
- Placa de petri nova
- Fogonet (treballar sota flama)
- Alcohol (esterilitzar)
- Medi sòlid fos

PROCEDIMENT:

- Posar la preparació del medi al bany maria fins que aquest es fongui.
- Un cop descongelada la mostra, utilitzar un vòrtex a 1000 r.p.m. per a homogeneïtzar.
- Col·locar un volum d'1 mL de la dissolució al centre d'una placa de petri.
- Bolcar uns 25 mL del medi fos sobre la placa de petri.
- Realitzar 10 moviments en cada direcció: vertical, horitzontal, diagonal dreta inferior – esquerra superior, diagonal dreta superior – esquerra inferior, cercle cap a l'esquerre, cercle cap a la dreta.
- Deixar refredar el medi a temperatura ambient.
- Posar les plaques a temperatura ambient durant 72 hores.



11.
Resultats



11.1. Característiques morfològiques colonials

Amb la finalitat d'agrupar algunes colònies sota el mateix codi general, s'han registrat les característiques morfològiques (color, transparència, forma, marge, elevació i diàmetre) de totes les colònies de dimensions apreciables* segons pautes preestablertes en microbiologia. (veure pauta de classificació morfològica a l'annex D)

* S'ha desestimat les colònies amb una mida insuficient per sotmetre's a proves.

Do-2-1-b (AP) 09/06/2020

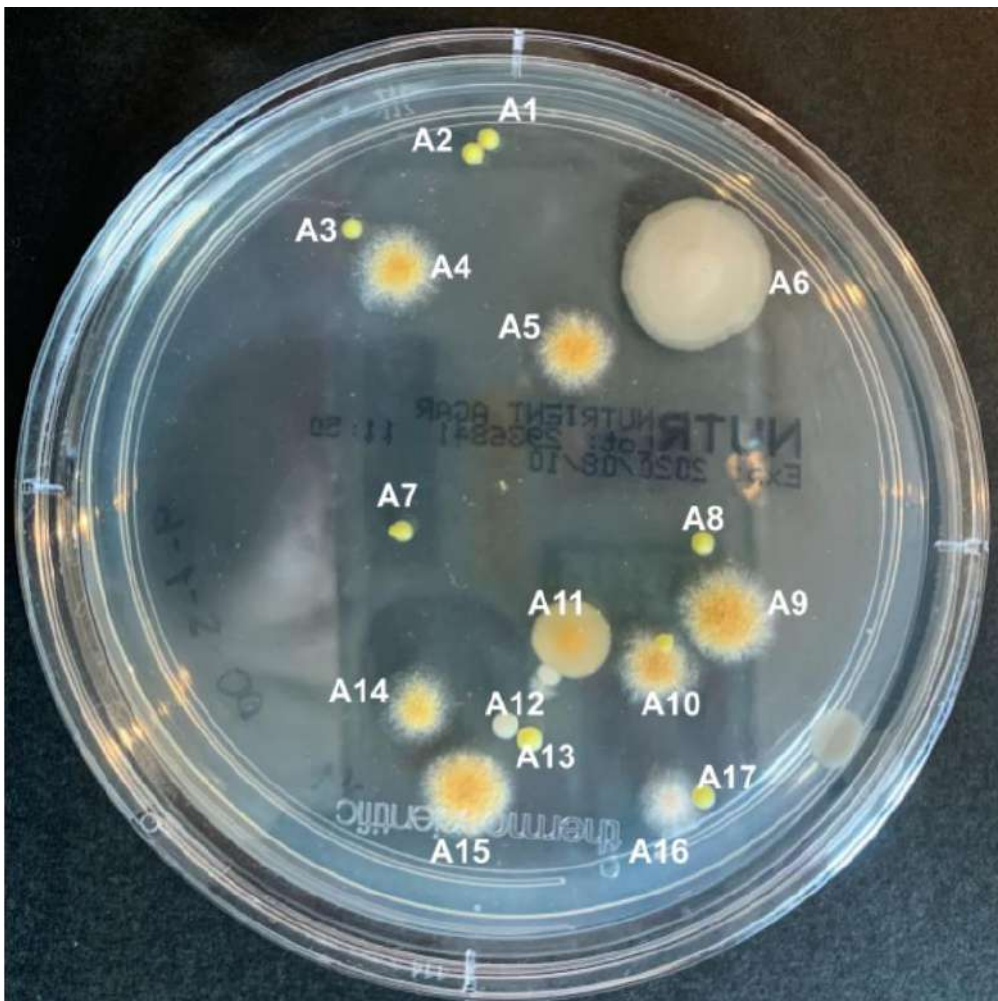


Figura 37: Cultiu mostra Do-2-1-b (AP).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
A1	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A2	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A3	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A4	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	6 mm	1
A5	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	6 mm	1
A6	blanc	opac	circular	ondulat	umbilicada	15 mm	5
A7	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A8	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A9	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	8 mm	1
A10	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	5 mm	1
A11	taronja	opac	circular	enter	umbilicada	8 mm	4
A12	blanc	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	2
A13	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
A14	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	4 mm	1
A15	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	6 mm	1
A16	blanc	opac	filamentosa	filamentós	convexa	3 mm	1
A17	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3

Taula 9: Característiques morfològiques de les colònies mostra Do-2-1-b (AP).

COLÒNIES TOTALS: 22 colònies

CREIXEMENT EN MEDI CCA: 0 colònies.

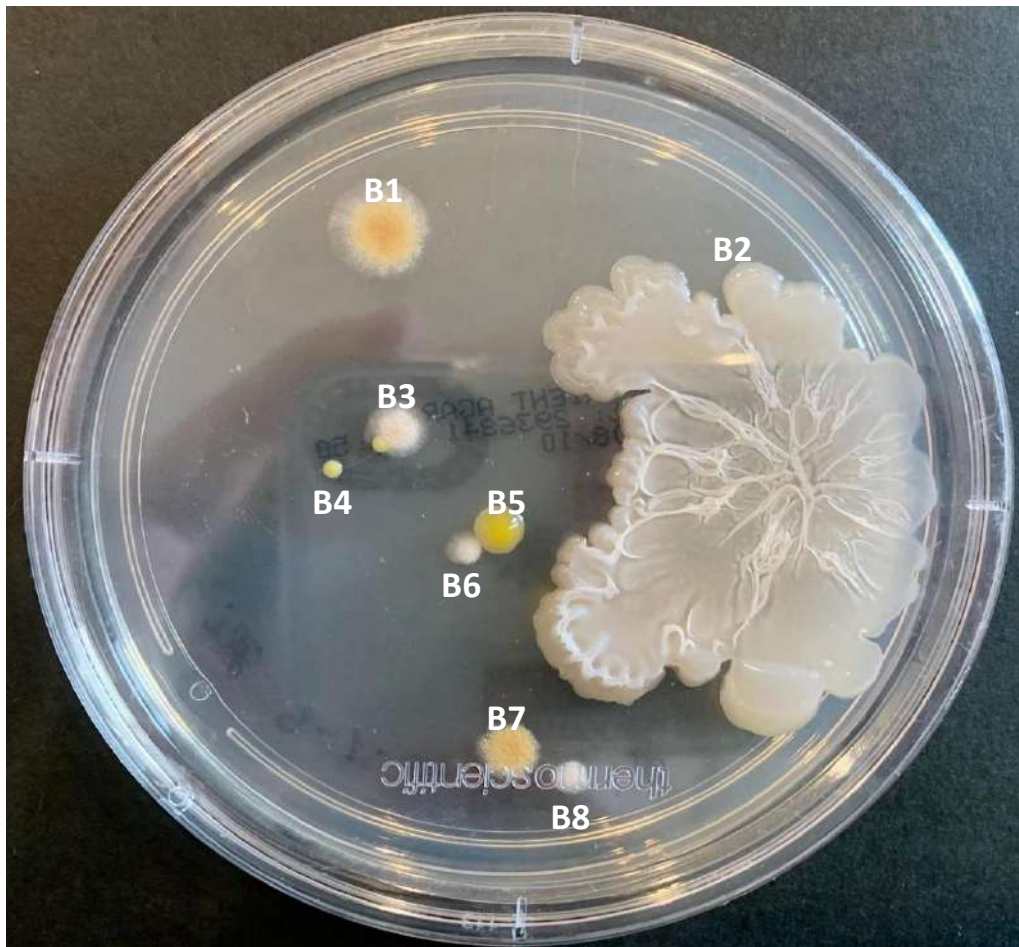


Figura 38: Cultiu mostra Do-2-1-b (gli).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
B1	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	8 mm	1
B2	blanc	translúcid	irregular	lobulat	elevada	52 mm	6
B3	blanc	opac	filamentosa	filamentós	convexa	4 mm	1
B4	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	2 mm	3
B5	groc verdós	opac	circular	enter	en punta	4 mm	7
B6	blanc	opac	filamentosa	filamentós	convexa	3 mm	1
B7	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	4 mm	1
B8	blanc	opac	puntiforme	enter	convexa	3 mm	2

Taula 10: Característiques morfològiques de les colònies mostra Do-2-1-b (gli).

COLÒNIES TOTALS: 9 colònies

CREIXEMENT EN MEDI CCA: 0 colònies.

Cat-5-2-b (NR) 16/06/2020

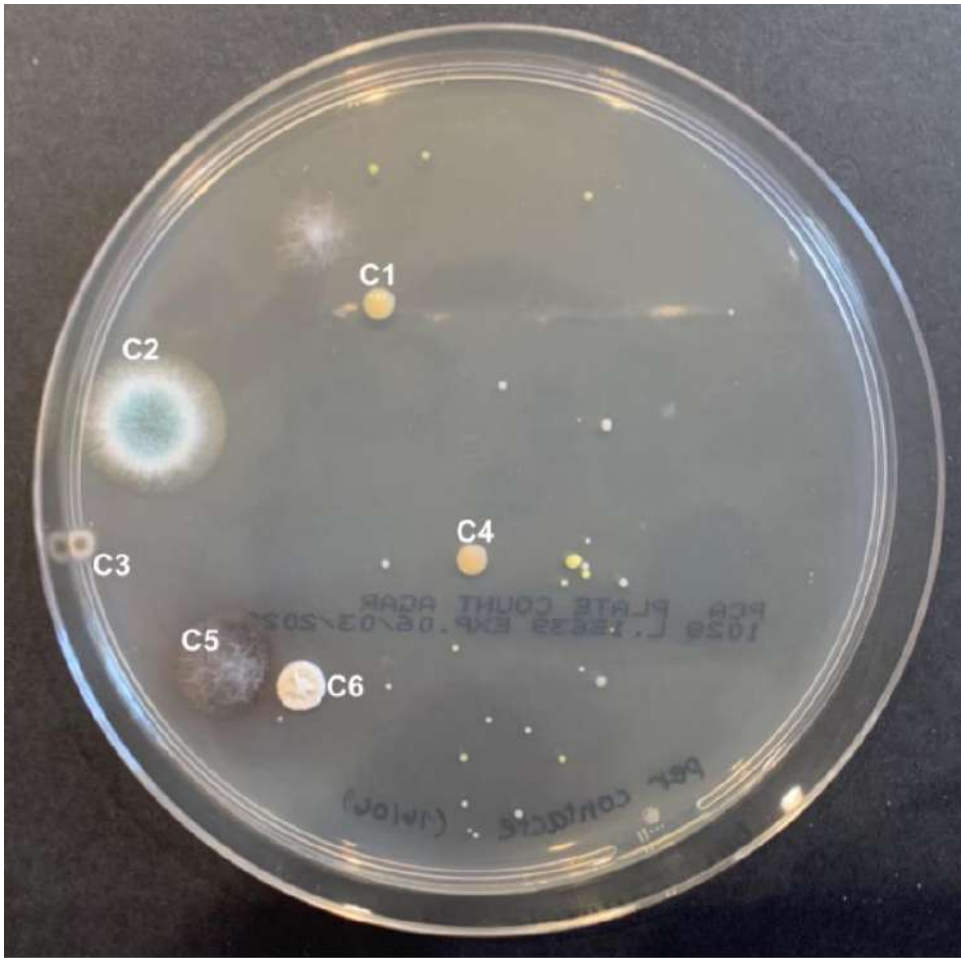


Figura 39: Cultiu mostra Cat-5-2-b (NR).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
C1	taronja	opac	puntiforme	enter	convexa	4 mm	4
C2	centre verd, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	plana	9 mm	9
C3	centre marró, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	plana	3 mm	8
C4	taronja	opac	puntiforme	enter	pulvinada	4 mm	4
C5	centre marró, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	plana	8 mm	8
C6	blanc	opac	circular	dentat	en punta	6 mm	10

Taula 11: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-2-b (NR).

COLÒNIES TOTALS: 34

Cat-5-2-b (NR) 16/06/2020

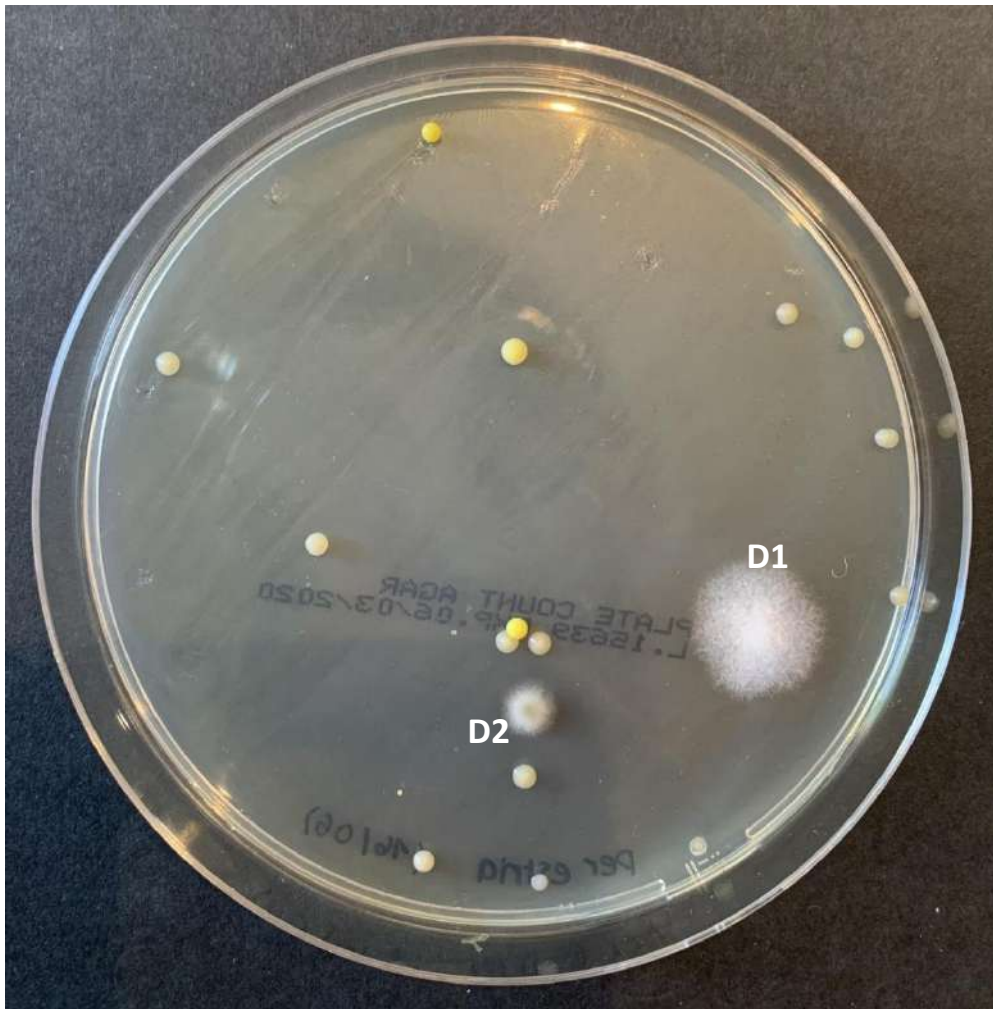


Figura 40: Cultiu mostra Cat-5-2-b (NR).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
D1	blanc	opac	filamentosa	filamentós	plana	10 mm	4
D2	blanc	opac	filamentosa	filamentós	convexa	4 mm	1

Taula 12: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-2-b (NR).

COLÒNIES TOTALS: 16 colònies

Cat-5-3-b (R) 16/06/2020

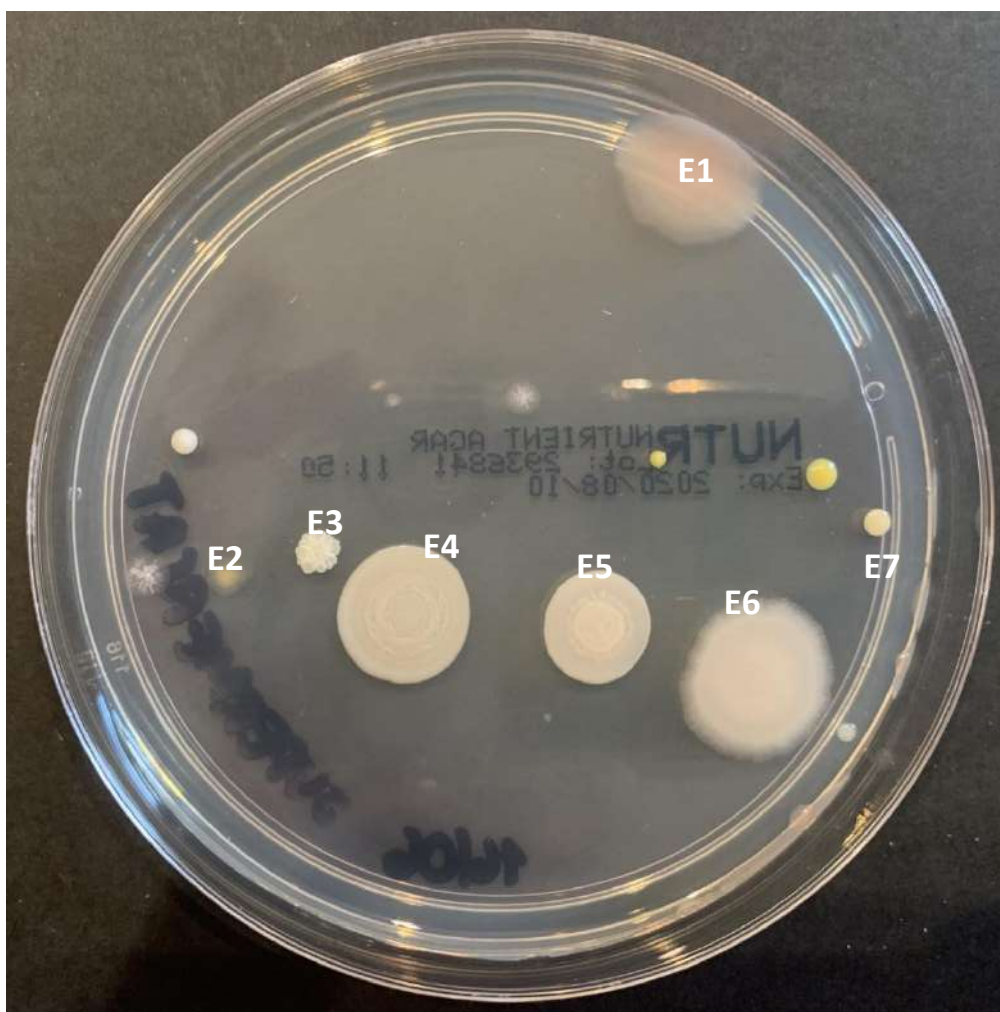


Figura 41: Cultiu mostra Cat-5-3-b (R).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
E1	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	15 mm	3
E2	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	4 mm	3
E3	verd clar	opac	puntiforme	enter	convexa	4 mm	3
E4	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	15 mm	1
E5	centre taronja, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	convexa	12 mm	1
E6	blanc	opac	circular	ondulat	umbilicada	16 mm	5
E7	taronja rosat	opac	puntiforme	enter	convexa	3 mm	3

Taula 13: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-3-b (R).

COLÒNIES TOTALS: 11 colònies

CREIXEMENT EN MEDI CCA: 0 colònies.

Cultiu pur a partir de pou positiu Colilert-18, mostra Cat-5-3-b.



Figura 42: Cultiu pur a partir de pou positiu en medi CCA.

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
F -	vermell rosat	opac	puntiforme	enter	convexa	1 mm	18

Taula 14: Característiques morfològiques de les colònies mostra a partir dels pous positius en medi CCA.

Cultiu pur a partir de pou positiu Colilert-18, mostra Cat-5-3-b.

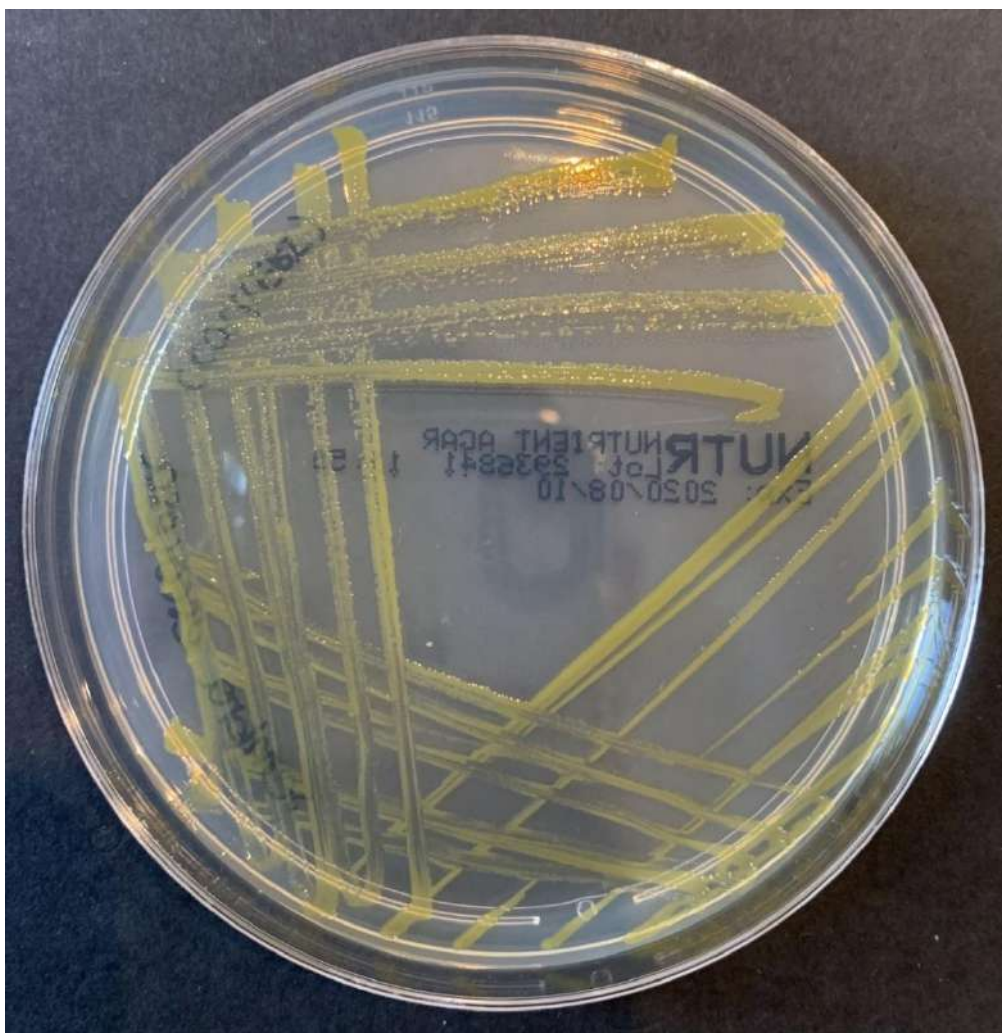


Figura 43: Cultiu pur a partir de pou positiu.

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
G -	groc	opac	puntiforme	enter	convexa	0,5 mm	18

Taula 15: Característiques morfològiques de les colònies mostra a partir dels pous positius.

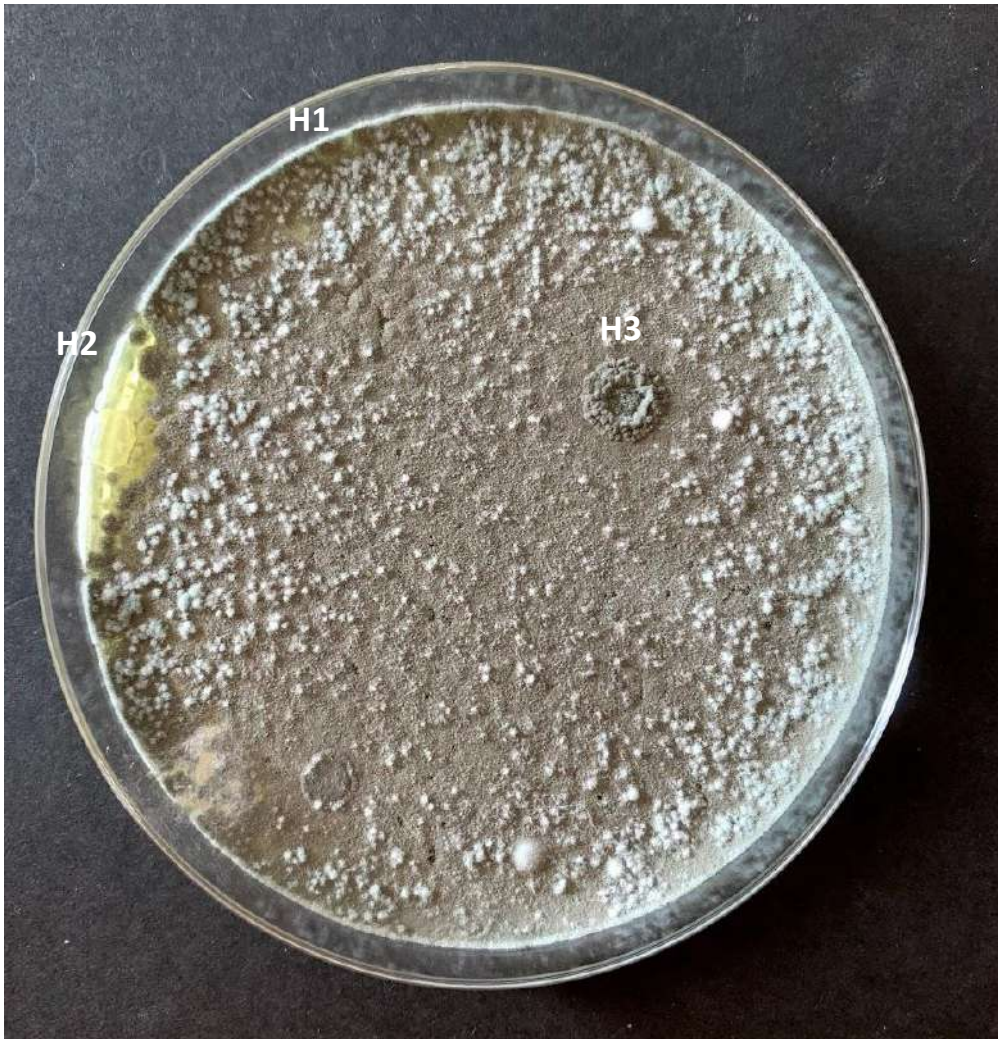


Figura 44: Cultiu mostra Ko-2-1-b (gli).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
H1	gris verdós	opac	circular	-	-	-	12
H2	blanc	opac	granular	lobulat	elevada	27 mm	6
H3	blanc	opac	circular	lobulat	elevada	12 mm	6

Taula 16: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ko-2-1-b (gli).

COLÒNIES TOTALS: - colònies



Figura 45: Cultiu mostra Lo-2-1-b (gli).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
I1	blanc	opac	puntiforme	enter	convexa	54 mm	11
I2	groc verdós	opac	puntiforme	enter	pulvinada	2 mm	13
I3	groc verdós	opac	puntiforme	enter	pulvinada	0,5 mm	13

Taula 17: Característiques morfològiques de les colònies mostra Lo-2-1-b (gli).

COLÒNIES TOTALS: 19 colònies

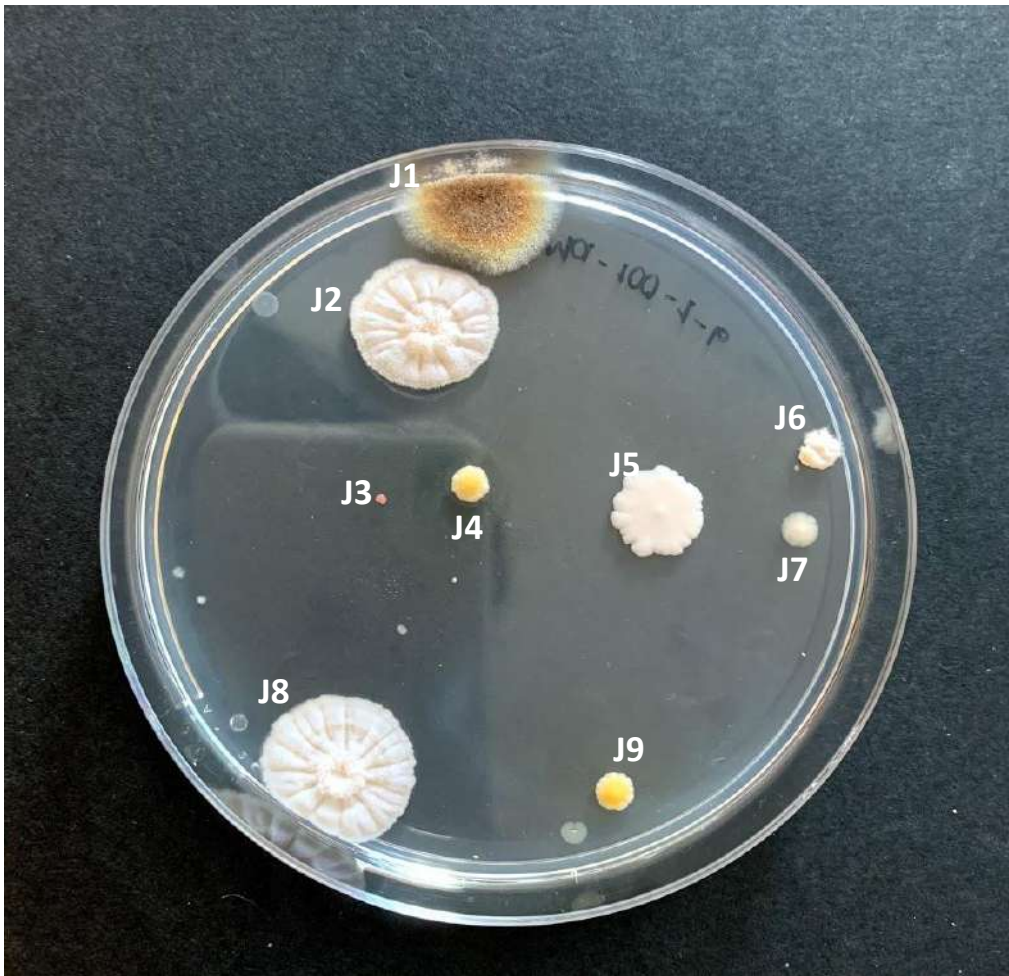


Figura 46: Cultiu mostra Ma-100-1-b (gli).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
J1	centre marró, vora blanca	opac	filamentosa	filamentós	plana	19 mm	8
J2	blanc	opac	granular	ondulat	elevada	16 mm	14
J3	rosat	opac	puntiforme	enter	convexa	0,8 mm	15
J4	centre taronja, voltant blanc	opac	circular	ondulat	en punta	4 mm	16
J5	blanc	opac	circular	ondulat	pulvinada	10 mm	5
J6	centre verd, blanc	opac	filamentosa	filamentós	plana	4 mm	9
J7	blanc	opac	circular	ondulat	en punta	4 mm	16
J8	blanc	opac	granular	ondulat	elevada	16 mm	14
J9	centre taronja, voltant blanc	opac	circular	ondulat	en punta	4 mm	16

Taula 18: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ma-100-1-b (gli).

COLÒNIES TOTALS: 21 colònies

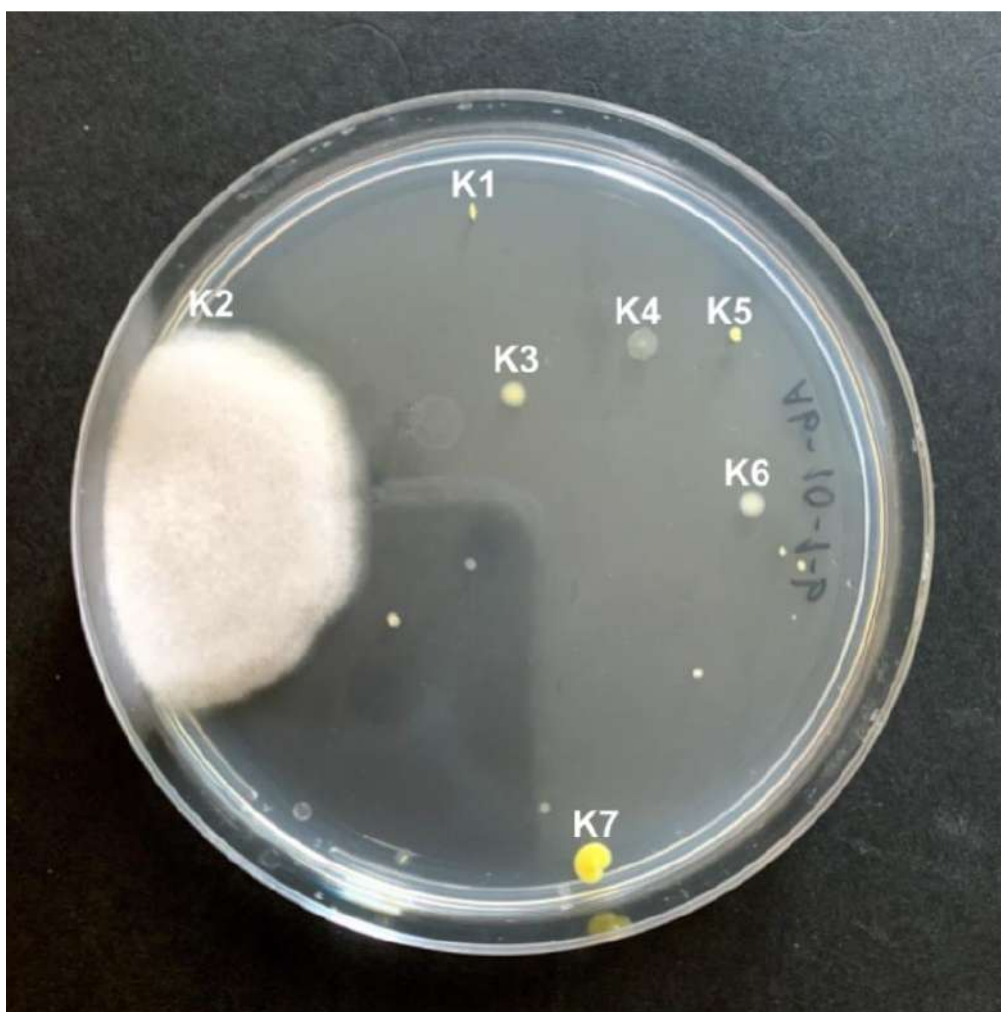


Figura 47: Cultiu mostra Ab-10-1-b (AP).

CODI	Color	Transpa - rència	Forma	Marge	Elevació	Diàmetre	CODI GENERAL
K1	groc verdós	opac	fusiforme	enter	pulvinada	2 mm	13
K2	blanc	opac	filamentosa	filamentós	elevada	47 mm	17
K3	groc verdós	opac	puntiforme	enter	pulvinada	4 mm	13
K4	blanc	opac	circular	ondulat	pulvinada	5 mm	11
K5	groc verdós	opac	puntiforme	enter	pulvinada	1 mm	13
K6	blanc	opac	filamentosa	filamentós	plana	4 mm	11
K7	groc	opac	granular	ondulat	convexa	6 mm	19

Taula 19: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ab-10-1-b (AP).

COLÒNIES TOTALS: 15 colònies

11.2. Proves, tincions i observació al microscopi

El resultat obtingut de les proves, tincions i observacions realitzades al llarg del treball estan sintetitzades i recollides en les següents taules adjuntes:

PROVES QUANTI-TRAY			
MOSTRA	DATA	Colilert-18 / Pseudalert	RESULTAT
Do-2-1-b (AP)	09/06/2020	Colilert-18	2 pous coliforms 0 <i>E. coli</i>
Do-2-1-b (gli)	09/06/2020	Pseudalert	0 pseudomonas
Cat-5-3-b	16/06/2020	Colilert-18	7 pous coliforms 0 <i>E. coli</i>
Cat-5-3-b	16/06/2020	Pseudalert	0 pseudomonas

Taula 20: Resultats proves Quanti-Tray.

CODI GENERAL	Prova de la Catalasa	Prova de la Oxidasa	Tinció de Gram	Morfologia
1	positiu	-	-	-
2	negatiu	-	positiu	Coc
3	positiu	-	positiu	Coc
4	positiu	-	negatiu	Bacil
5	positiu	-	-	-
6	positiu	-	-	-
7	positiu	-	negatiu	Bacil
8	positiu	-	-	-
9	negatiu	-	-	-
10	positiu	-	-	-
11	positiu	-	negatiu	bacil (?)
12	positiu	-	-	-
13	negatiu	-	negatiu	Coc
14	negatiu	-	(positiu)*	-
15	positiu	-	negatiu	Bacil
16	positiu	-	negatiu	Bacil
17	positiu	-	-	-
18	positiu	negatiu	negatiu	Bacil
19	positiu	-	positiu	Coc

Taula 21: Resultats proves, tincions i observació al microscopi.

* no he realitzat la prova, però és positiu.

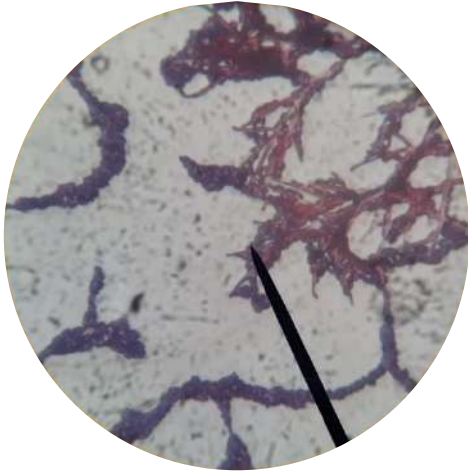


Figura 48: Imatge a 1000x d'una colònia de codi 1.

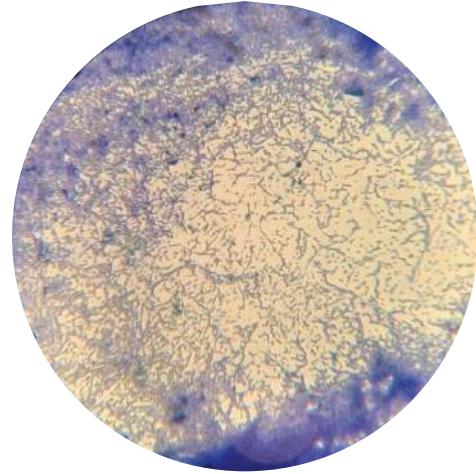


Figura 51: Imatge a 600x d'una colònia de codi 4.

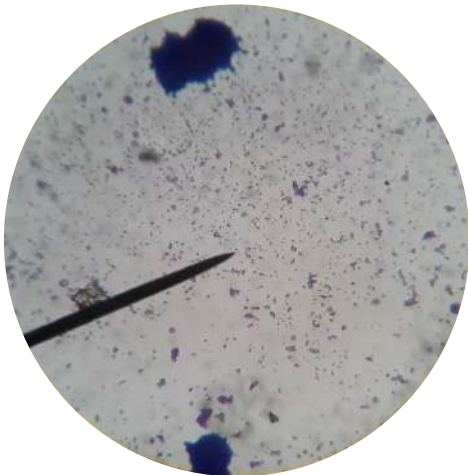


Figura 49: Imatge a 400x d'una colònia de codi 2.

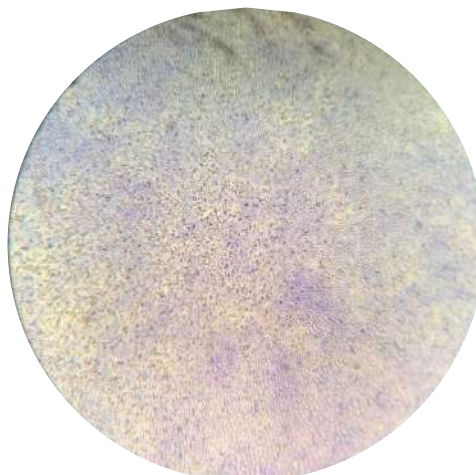


Figura 52: Imatge a 150x d'una colònia de codi 5.

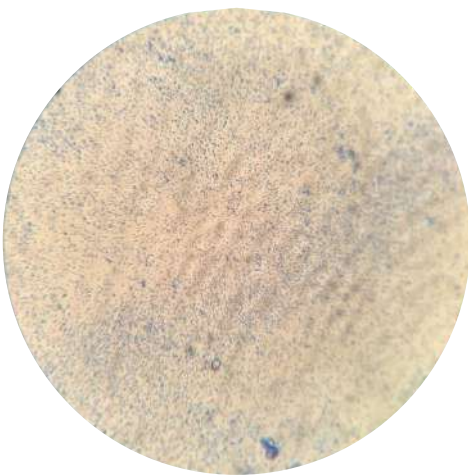


Figura 50: Imatge a 150x d'una colònia de codi 3.

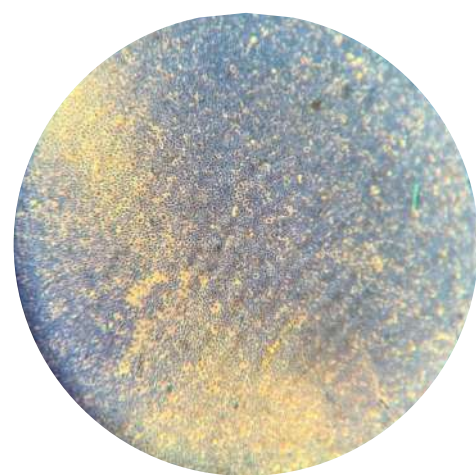


Figura 53: Imatge a 150x d'una colònia de codi 6.

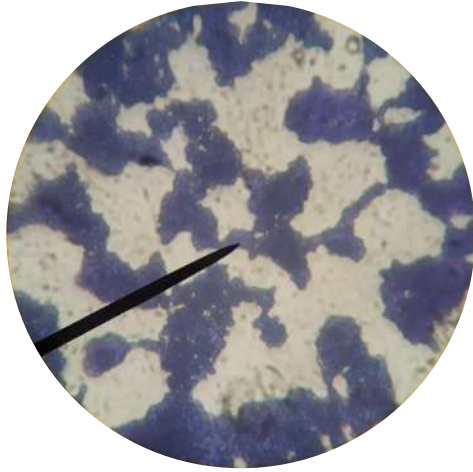


Figura 54: Imatge a 1000x d'una colònia de codi 7.

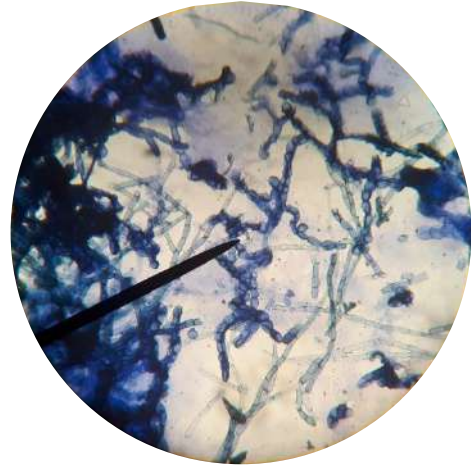


Figura 57: Imatge a 400x d'una colònia de codi 10.



Figura 55: Imatge a 400x d'una colònia de codi 8.

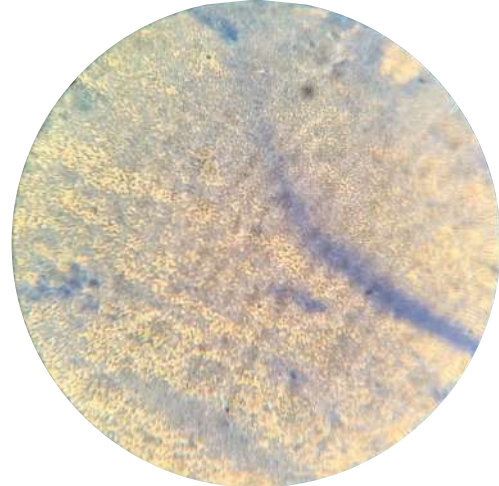


Figura 58: Imatge a 150x d'una colònia de codi 11.

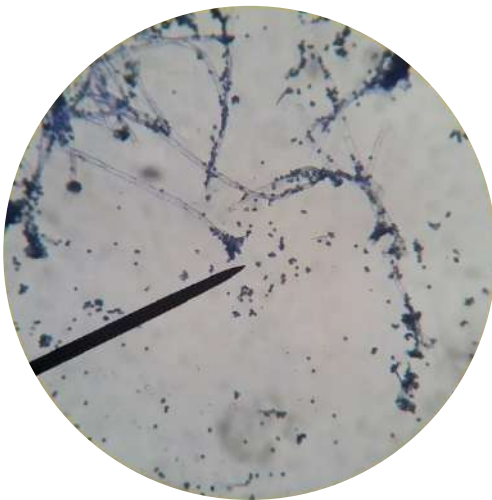


Figura 56: Imatge a 400x d'una colònia de codi 9.

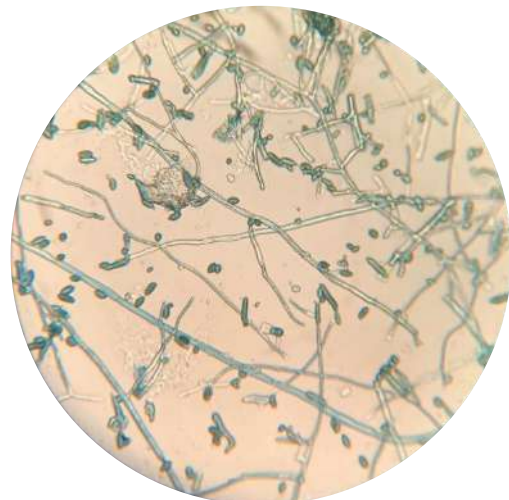


Figura 59: Imatge a 600x d'una colònia de codi 12.

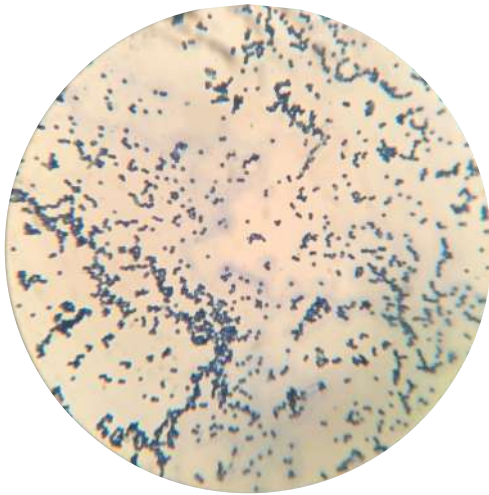


Figura 60: Imatge a 600x d'una colònia de codi 13.

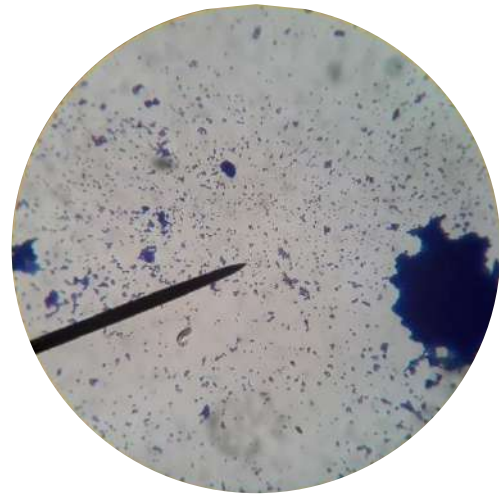


Figura 63: Imatge a 400x d'una colònia de codi 16.

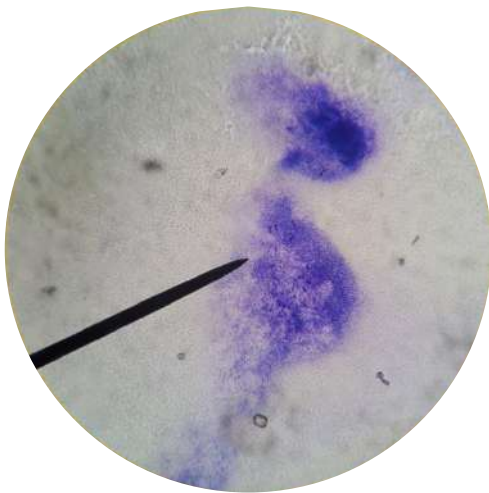


Figura 61: Imatge a 1000x d'una colònia de codi 14.

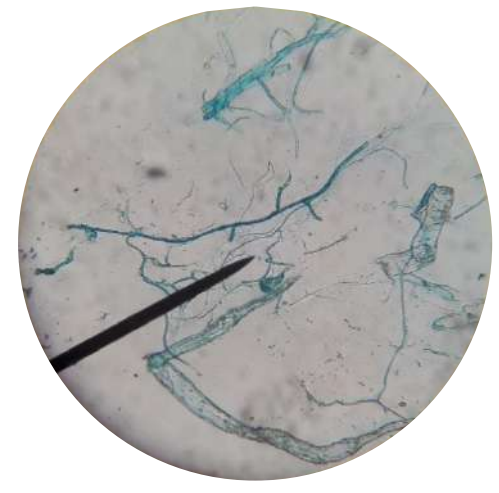


Figura 64: Imatge a 1000x d'una colònia de codi 17.

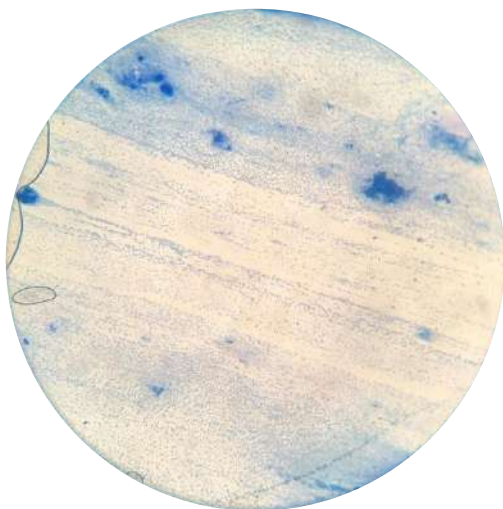


Figura 62: Imatge a 600x d'una colònia de codi 15.

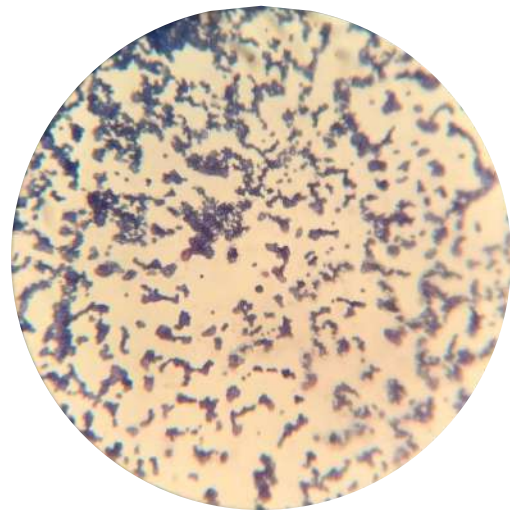


Figura 65: Imatge a 600x d'una colònia de codi 18.

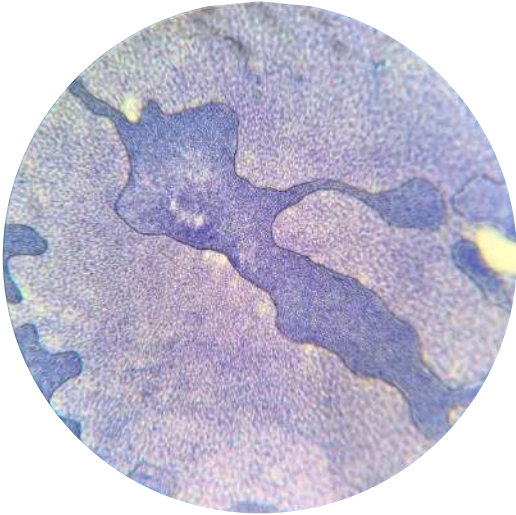


Figura 66: Imatge a 150x d'una colònia de codi 19

11.3. Identificació del gènere més probable

A partir dels resultats anteriors de les dinou colònies (obtinguts de les proves i tincions, i de les característiques morfològiques de les colònies) he hipotetitzat el gènere més probable seguint unes claus de classificació que s'utilitzen a nivell científic de microbiologia. (veure els manuals d'identificació a l'annex E i F).

El gènere més probable de cada tipologia de colònia es resumeix a:

CODI GENERAL	Bacteri / Fong	Gènere més probable
1	Fong	<i>Paecilomyces</i>
2	Bacteri	<i>Micrococcus</i>
3	Bacteri	<i>Micrococcus</i>
4	Bacteri	<i>Chryseobacterium</i>
5	Fong	<i>Saccharomyces</i>
6	Fong	<i>Saccharomyces</i>
7	Bacteri	<i>Chryseobacterium</i>
8	Fong	<i>Aspergillus</i>
9	Fong	<i>Penicillium</i>
10	Fong	<i>Yarrowia</i>
11	Bacteri	<i>Salmonella</i>
12	Fong	<i>Botryotinia</i>
13	Bacteri	<i>Acetobacter</i>
14	Bacteri	<i>Actinomyces</i>
15	Bacteri	<i>Serratia</i>
16	Bacteri	<i>Serratia</i>
17	Fong	<i>Aspergillus</i>
18	Bacteri	Coliform (grup d'espècies)
19	Bacteri	<i>Staphylococcus</i>

Taula 22: Identificació gèneres bacterians i fúngics.

11.4. Anàlisi dels resultats

L'anàlisi dels resultats s'ha efectuat a partir de sis paràmetres d'observació:

1. Identificació i classificació dels microorganismes presents en els bitllets.
2. Grau de representativitat dels gèneres.
3. Potencialitat patògena.
4. Bacteris coliformes i *E. coli*.
5. Recurrència de les tipologies colonials .
6. Comparació de les tipologies colonials segons l'origen dels bitllets.

1. Identificació i classificació dels microorganismes presents.

(veure a la taula 22)

La identificació dels microorganismes s'ha centrat únicament en els fongs i bacteris, prescindint de qualsevol altre microorganisme.

Aquesta identificació ha constatat els punts següents:

- **Identificació del gènere:**

S'han identificat 13 gèneres entre les 19 tipologies colonials: *Paecilomyces*, *Micrococcus*, *Chryseobacterium*, *Saccharomyces*, *Chryseobacterium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Yarrowia*, *Salmonella*, *Botryotinia*, *Acetobacter*, *Actinomyces*, *Serratia* i *Staphylococcus* i 1 grup: els bacteris coliformes.

- **Bacteris i fongs:**

De les 19 colònies, 8 són fúngiques, 42'1% ($\frac{8}{19}$), i 11 bacterianes, 57'9% ($\frac{11}{19}$).

- **Tipologies fúngiques:**

Les 8 colònies fúngiques presenten 6 gèneres diferenciats. La gran majoria (*Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Yarrowia* i *Botryotinia*) són fongs filamentosos a excepció d'un: el gènere *Saccharomyces*, un llevat fermentador molt utilitzat per a la producció de vi, cervesa i pa.

2. Grau de representativitat dels gèneres.

Atenent a la quantitat de presència, 5 dels 13 gèneres catalogats tenen 2 representants dins de les classificacions morfològiques: *Micrococcus*, *Chryseobacterium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* i *Serratia*, cadascun amb un 11,11% ($\frac{2}{18}$)** de representació.

La resta de gèneres només hi ha un representant: *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Yarrowia*, *Salmonella*, *Botryotinia*, *Acetobacter*, *Actinomyces* i *Staphylococcus* amb un 5,56% ($\frac{1}{18}$)**.

3. Potencialitat patògena.

Quatre de les tipologies consta com a mínim alguna espècie patògena que pot ocasionar alguna malalties infecciosa, representant el 26'32% ($\frac{5}{19}$)** dels gèneres. Són els següents:

- El gènere *Salmonella* (codi general 11) és causant de la salmonel·losi, una intoxicació alimentària que es dona especialment a través del consum d'ou cru.
- L'*Actinomyces* (codi general 14), gènere que genera una gran varietat de patologies: dolor intestinal, infeccions cutànies, tapament pulmonar, etc.
- El *Serratia* (codi general 15 i 16), el qual produeix el 2% de les infeccions nosocomials²¹.
- L'*Staphylococcus* (codi general 19), gènere bacterià que pot desenvolupar nàusees, vòmits i diarrees, tot i que és característic per produir una inflamació a les vàlvules cardíques.

(Els bacteris coliformes són potencialment patògens, ja que la soca *Escherichia coli* 0157:H7 provoca intoxicacions alimentàries. Amb la prova Colilert-18, però, no es va detectar la seva presència. Per tant, no es pot comptabilitzar els bacteris coliformes detectats com a patògens).

4. Bacteris coliformes i *E. coli*.

La prova Colilert-18 (veure al punt 6.2.4) ha permès detectar bacteris coliformes en les mostres, tal i com hauria fet si s'hagués trobat *Escherichia coli*. S'ha localitzat un total de 9 bacteris coliformes en ambdues de les proves realitzades.

(veure els resultats a la taula 20)

5. Recurrència de les tipologies colonials:

Amb la taula es vol destacar la quantitat de colònies agrupades amb el mateix codi general. Tal i com es veu a la taula adjunta, es pot destacar el grau de recurrència dels microorganismes de més a menys incidència:

Codi general	Fong Bacteri	Nombre colònies	Colònies (veure al punt 11.1)	%
1	Fong	14	A4 / A5 / A9 / A10 / A14 / A15 / A16 B1 / B3 / B6 / B7 / D2 / E4 / E5	20
2 = 3	Bacteri	2 + 12	A12 / B8 A1 / A2 / A3 / A7 / A8 / A13 / A17 / B4 / E1 / E2 / E3 / E7	2,85+17,14 20
4 = 7	Bacteri	4 + 1	A11 / C1 / C4 / D1 B5	5,71+1,43 7,14
5 = 6	Fong	3 + 3	A6 / E6 / J5 B2 / H2 / H3	4,29+4,29 8,58
8 = 17	Fong	3 + 1	C3 / C5 / J1 K2	4,29+1,43 5,72
9	Fong	2	C2 / J6	2,85
10	Fong	1	C6	1,43
11	Bacteri	3	I1 / K4 / K6	4,29
12	Fong	-	H1	1,43
13	Bacteri	5	I2 / I3 / K1 / K3 / K5	7,14
14	Bacteri	2	J2 / J8	2,85

15 = 16	Bacteri	1 + 3	J3 J4 / J7 / J9	1,43+4,29 5,72
18	Bacteri	9	(Prova Colilert-18)	12,86
19	Bacteri	1	K7	1,43
		70		

Taula 23: Nombre de colònies per tipologia.

- La tipologia més recurrent és la 1 (fong *Paecilomyces*), amb 14 colònies obtingudes de 4 cultius diferents ($20\% = \frac{14}{70}$)***.
- La 2 i la 3 (bacteri *Micrococcus*) empaten també amb la 1. Aquest gènere ha sortit a 3 cultius diferents a 14 colònies ($20\% = \frac{14}{70}$)***.
- La següent és la 18 (bacteris coliformes), amb 9 bacteris detectats amb la prova Colilert-18.
- La tipologia 5 i la 6 (fongs *Saccharomyces*) ha crescut a 4 cultius, amb 6 colònies ($8'58\% = \frac{6}{70}$)***.
- Segueix la 13 (bacteri *Acetobacter*), amb 5 colònies procedents de 2 cultius ($7'14\% = \frac{5}{70}$)***.
- A destacar també hi ha la 4 i la 7 (bacteri *Chryseobacterium*), amb 5 colònies de 5 cultius ($7'14\% = \frac{5}{70}$)***.

6. Comparació de les tipologies colonials segons l'origen dels bitllets.

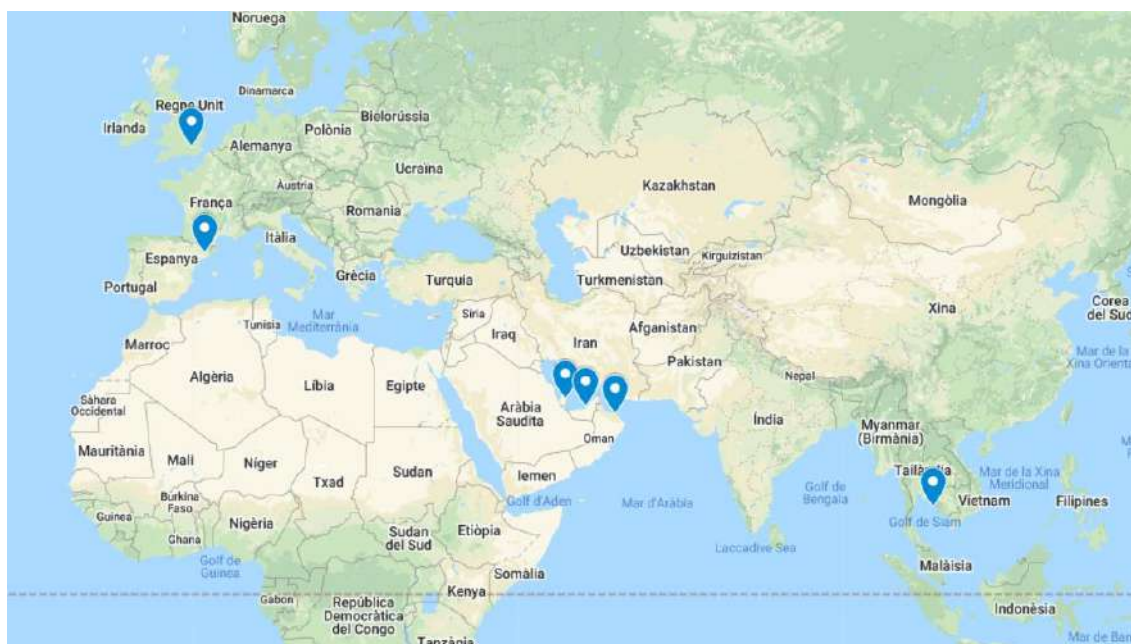


Figura 67: Mapa dels països on s'han recollit les mostres estudiades.

Tal i com es veu a la imatge anterior, les mostres s'han recollit a 6 localitats diferents: Banyoles, Londres, Doha, Masqat, Abu Dhabi i Koh Kood Island.

Si l'anàlisi es fa atenent la diferenciació geogràfica de les mostres, també es poden destacar alguns aspectes. La taula que s'adjunta recull les tipologies colonials detectades en cadascuna de les 6 localitzacions:

Banyoles	Londres	Doha	Masqat	Abu Dhabi	Koh Kood Island
1	11	1	5	11	6
3	13	2	8	13	12
4		3	9	17	
5		4	14	19	
8		5	15		
9		6	16		
10		7			
18		18			
8	2	8	6	4	2
42'1%	10'52%	42'1%	31'56%	21%	10'52%

Taula 24: Tipologies colonials presents a cada país.

A partir de les dades anteriors, es pot dir que:

- Les mostres amb més varietat de microorganismes són les originaries de Banyoles i Doha, amb el 42'1% i Masqat amb un 31'56%.
- Les mostres procedents de Londres i Koh Kood Island presenten poca variabilitat de tipologies, amb únicament un 10'52%.
- La tipologia colonial que es troba en més localitzacions és la 5, sent present a les mostres de Banyoles, Doha i Masqat.
- Per altra banda, les tipologies que només són presents en un sol indret són: a Banyoles, la 10; a Doha la 2 i la 7; a Masqat la 14, 15 i 16; a Abu Dhabi la 17 i la 19; i a Koh Kood Island la 12. Per tant, 9 tipologies colonials (el 47'36%), pràcticament la meitat de les identificades, només són presents en un indret.
- Els dos indrets que tenen més tipologies comunes és Banyoles i Doha, amb 5 de comunes, compartint un 26'32% de les tipologies.

* Realment s'ha donat nom a 18 gèneres i a 1 grup d'espècies.

** Són 4 gèneres diferents, però un d'aquests s'ha identificat 2 vegades.

*** Es desestimen els bacteris coliformes en aquest percentatge.

11.5. Càlculs del nombre més probable d'ufc/bitlet

Un cop determinat el nombre de colònies obtingudes a cada cultiu, es pot determinar el nombre aproximat de bacteris i fongs en un sol bitlet. Al cultivar, cada fong o bacteri es reproduïx un gran nombre de vegades fins a obtenir una colònia visible a ull nu. Per donar valor al nombre de microorganismes, s'utilitza la unitat "ufc: Unitat Formadora de Colònies". Com que he fet diferents procediments de congelació i sembra, els càlculs s'han adaptat al procediment emparat per a cada cultiu. A través dels següents càlculs vull donar un valor numèric de les ufc esperades en un únic bitlet.

A partir dels cultius en Nutrient Agar i medi PCA
Do-2-1-b (AP)
$\frac{22 \text{ colònies}}{0,1 \text{ mL solució AP}} * 10 \text{ mL solució AP total} = \frac{2200 \text{ colònies}}{10 \text{ mL solució AP total}} = \frac{2200 \text{ ufc}}{\text{bitlet}}$
Do-2-1-b (gli)
$\frac{9 \text{ colònies}}{0,1 \text{ mL solució gli (+AP)}} * \frac{10 \text{ mL solució gli (+AP)}}{5 \text{ mL solució AP}} * 10 \text{ mL solució AP total} = \frac{1800 \text{ colònies}}{10 \text{ mL solució AP total}}$ <p>Si la congelació ha sigut realitzada correctament, el 70% dels microorganismes inicialment presents a la mostra es conserven. Al mateix temps, el 30% dels microorganismes moren (veure al punt 7.2.1). Per tant:</p> $1800 \text{ colònies} = 1800 \text{ ufc} * \frac{100 \text{ ufc inicials}}{70 \text{ ufc conservades}} = \frac{2571'43 \text{ ufc}}{\text{bitlet}}$

Cat-5-2-b (NR) per contacte

$$\frac{34 \text{ colònies}}{\frac{1}{4} \text{ superfície del bitllet}} = \frac{136 \text{ colònies}}{\text{bitllet}} = \frac{136 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}.$$

Cat-5-2-b (NR) per estria

$$\frac{16 \text{ colònies}}{\frac{1}{2} \text{ del bitllet}} = \frac{32 \text{ colònies}}{\text{bitllet}} = \frac{32 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}.$$

Cat-5-3-b (R)

$$\frac{11 \text{ colònies}}{0,1 \text{ mL solució}} * 20 \text{ mL solució total} = \frac{2200 \text{ colònies}}{20 \text{ mL solució total}} = \frac{2200 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}.$$

Ko-2-1-b (gli)

-

Lo-2-1-b (gli)

$$\frac{19 \text{ colònies}}{1 \text{ mL solució gli (+AP)}} * \frac{10 \text{ mL solució gli (+AP)}}{5 \text{ mL solució AP}} * 10 \text{ mL solució AP total} = \frac{380 \text{ colònies}}{10 \text{ mL solució AP total}}$$

$$380 \text{ colònies} = 380 \text{ microorganismes} * \frac{100 \text{ microorganismes inicials}}{70 \text{ microorganismes conservats}} = \frac{542'86 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}.$$

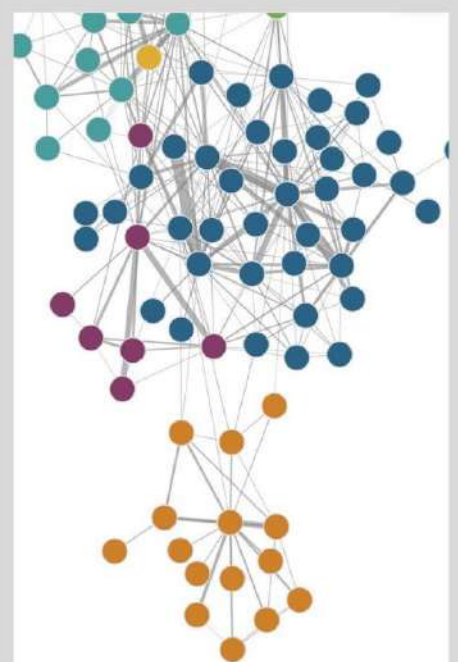
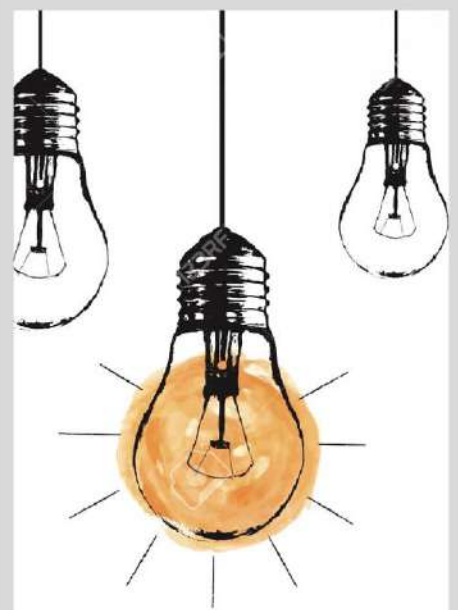
Ma-100-1-b (gli)
$\frac{21 \text{ colònies}}{1 \text{ mL solució gli (+AP)}} * \frac{10 \text{ mL solució gli (+AP)}}{5 \text{ mL solució AP}} * 10 \text{ mL solució AP total} = \frac{420 \text{ colònies}}{10 \text{ mL solució AP total}}$ $420 \text{ colònies} = 420 \text{ microorganismes} * \frac{100 \text{ microorganismes inicials}}{70 \text{ microorganismes conservats}} = \frac{600 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}$
Ab-10-1-b (AP):
$\frac{15 \text{ colònies}}{1 \text{ mL solució AP}} * 10 \text{ mL solució AP} = \frac{150 \text{ colònies}}{10 \text{ mL solució AP total}} = \frac{150 \text{ ufc}}{\text{bitllet}}$

Taula 25: Càlculs del nombre més probable d'ufc/bitllet.

Dels càlculs previs es pot ressaltar:

- Els valors aproximats d'unitats formadores de colònies per bitllet de les mostres Do-2-1-b (AP), Do-2-1-b (gli) i Cat-5-3-b (R) són molt similars, amb una mitjana de 2.323'81 ufc/bitllet.
- El valor de Ma-100-1-b (gli) i Lo-2-1-b (gli) també són molt semblants, amb una mitjana de 571'43 ufc/bitllet

12. Conclusions



12. Conclusions

Després d'haver analitzat els resultats obtinguts es pot arribar a unes conclusions que permeten donar resposta a les preguntes, els objectius i les hipòtesis plantejades.

Per una banda, he comprovat que, tal i com s'esperava, els bitllets sí són portadors de microorganismes. Al realitzar-se cultius a partir de les mostres han crescut colònies, donant la primera hipòtesi: <<**Potser els bitllets contenen microorganismes**>> com a correcta.

Hipòtesi 1: Comprovada i acceptada.

Conclusions a partir dels càlculs

(veure al punt 11.5)

Per verificar o descartar la segona hipòtesi: <<**Potser hi ha un nombre considerable de bacteris i fongs en els bitllets, el qual s'aproxima a les 5.000 ufc / bitllet**>>, he realitzat els corresponents càlculs per intentar esbrinar la quantitat d'unitats formadores de colònies que hi ha en un únic bitllet.

Tot i intentar realitzar els procediments executats durant el treball el màxim rigorosament possible, els resultats dels càlculs són massa diferents entre ells. Els mètodes de congelació i d'anàlisi han estat diversos, tal i com el període entre la recollida de mostres i la seva congelació, fet que pot afectar a la viabilitat dels microorganismes. Conseqüentment, no puc obtenir conclusions prou significatives, sinó compartir els resultats obtinguts dels càlculs.

El risc de contagi està directament relacionat amb la càrrega microbiana, i, per tant, amb les ufc. Al no conèixer el nombre veritable d'ufc per bitllet veritable, no puc determinar si els bitllets poden arribar a ser perillosos o no per a la salut.

Hipòtesi 2: No comprovada.

Conclusions derivades de la identificació bacteriana i fúngica

(veure al punt 11.3 i 11.4)

Si ens fixem en el punt “patogenicitat” dels resultats, ens confirma la tercera hipòtesi: <<**Potser els bitllets contenen alguns gèneres fúngics patògens que causen malalties infeccioses comunes**>> i la quarta: << **Potser es pot trobar en els bitllets gèneres bacterians patògens** >>, ja que s’han identificat 5 colònies possiblement infeccioses que pertanyen tant al regne fongs com al regne moneres.

Hipòtesi 3: Comprovada i acceptada.

Hipòtesi 4: Comprovada i acceptada.

L’apartat anomenat “bacteris coliformes i *E. coli*” (veure al punt 11.4.4), ens ha indicat que la cinquena hipòtesi: <<**Potser és habitual la presència de bacteris coliformes en els bitllets**>> es pot acceptar.

Hipòtesi 5: Comprovada i acceptada.

Segons la sisena hipòtesi: <<**Potser les mostres de països pròxims entre sí presentaran una microflora similar, i els més distants contindran microorganismes més diferents**>>. Per verificar-la o refutar-la, cal analitzar els resultats del punt “Comparació de les tipologies colonials segons l’origen dels bitllets” (veure al punt 11.4.6).

Els països més pròxims són Doha, Masqat i Abu Dhabi, els quals es situen a l’Orient Mitjà. Als cultius que s’han realitzat a partir de les dissolucions s’han obtingut colònies amb característiques morfològiques molt diverses.

En concret, només 1 tipologia ha sortit a més d’un cultiu: la 5, que correspon a les colònies A6 i J5.

(veure a la taula 22 i 23)

Per altra banda, els cultius a partir de les mostres de Banyoles i Doha presenten varies tipologies en comú:

- A4 / A5 / A9 / A10 / A14 / A15 / A16 / B1 / B3 / B6 / B7 / D2 / E4 / E5 corresponen a la tipologia 1
- A1 / A2 / A3 / A7 / A8 / A13 / A17 / B4 / E1 / E2 / E3 / E7 equivalen a la 3
- A11 / C1 / C4 / D1 a la tipologia 4
- A6 / E6 responen a la tipologia 5

(Totes les colònies que han coincidit s'han obtingut de les sèmres amb bitllets recollits a Banyoles i Doha)

Si es pressuposa que la recollida de les mostres s'ha realitzat correctament en tots els casos tal i com s'especificava que s'havia de fer prèviament (veure al punt 10.0), la persona que recollia la mostra no ha d'haver influït en els resultats obtinguts. D'aquesta manera, tots els microorganismes obtinguts són els originaris del país on s'ha obtingut el bitllet.

Per tant, la sisena hipòtesi es podria descartar, ja que els cultius de mostres més pròximes (Doha, Masqat i Abu Dhabi) mostren una quantitat insignificant de colònies en comú. Al mateix temps, els cultius a partir de les mostres procedents de dues situacions amb més de 5.360 kilòmetres de separació: Banyoles i Doha, tenen una quantitat considerable de colònies iguals.

Hipòtesi 6: Comprovada i refutada.

(A part del país del qual provenen els bitllets, s'ha de tenir en compte que hi ha molts altres factors que poden haver condicionat el que s'ha trobat a les mostres. El lloc on s'ha recollit, el grup social d'on prové, la durada de vida del bitllet, si s'ha utilitzat contínuament, el temps que fa que s'ha intercanviat per última vegada... Totes aquestes circumstàncies influeixen de manera directa en la seva microflora. No trobarem els mateixos microorganismes en un bitllet recollit a les altes esferes, com en un restaurant de luxe, que els obtinguts d'un bitllet recollit en un petit comerç d'un barri suburbial.

És per aquest motiu que és tan important fer rèpliques: realitzar varies vegades el mateix experiment, per evitar que els resultats estiguin condicionats per altres factors.

Després de cercar les condicions ambientals òptimes de cada gènere, no s'ha pogut concloure res. Vaig buscar informació sobre el rang de temperatura, de pH i d'humitat en la que pot habitar cada gènere. Les amplituds de tolerància són molt amples, cosa que impedeix acotar la cerca, ja que tots els països dels quals s'havien recollit les mostres entren dins dels marges.

Per tant, la setena hipòtesi: <<**Potser les característiques del clima dels països on s'han obtingut les mostres influiran en els microorganismes que es trobin als bitllets del país**>> no s'ha pogut ni acceptar ni refutar.

Hipòtesi 7: No comprovada.

13. Valoració final

El que va començar fa uns onze mesos com una simple idea, va passar a fer-se realitat. Aquests últims mesos he conviscut amb bitllets, bosses zip, nanses de Digrafsky, medis de cultiu, colorants, etc. Finalment, aquest procés ha acabat amb la presentació del treball.

Tot i que m'hauria agradat aprofundir sobre alguns problemes més, les condicions que s'han donat no m'ho han permès. La reducció de mostres a analitzar ha comportat no poder treballar alguns aspectes que pretenia estudiar. Malgrat que aquest fet em va desil·lusionar una mica en certs moments, també veig que deixa uns interrogants que m'incentiven a seguir investigant en un futur per donar tot allò que pretenia donar.

Tanmateix, aquest treball m'ha aportat i ajudat a aprendre varies coses:

- A nivell acadèmic: He ampliat la meva visió en el camp de la microbiologia, així com una mica de la història de l'economia.
- A nivell científic: He adquirit coneixements de la metodologia científica, per tal de fer un treball el més seriós i vàlid possible.
- A nivell pràctic: He pogut experimentar què significar treballar en un laboratori i introduir-me al món de la recerca científica.
- A nivell personal: He hagut de tenir paciència i esperar, així com aprendre a adaptar-me i a utilitzar els recursos dels quals dispo.

A mesura que he anat obtenint més coneixements, m'han sorgit nous interrogants a respondre i altres temes per aprofundir, com ara: <<**Poden ser els bitllets un focus de transmissió de gens de resistència?**>>, una problemàtica molt actual que afecta a tots i cada un de nosaltres. També la següent: <<**Què es pot fer amb la finalitat de reduir el nombre de microorganismes en els bitllets?**>>.

Si disposés de més temps i recursos, aprofundiria en aquests aspectes mencionats anteriorment i estudiaria un nombre major de mostres, recorrent a les mostres recollides congelades no utilitzades. Al mateix temps, intentaria accedir a medis selectius i diferencials, així com a tincions i proves bioquímiques. Fins i tot, tal i com havia comentat anteriorment, al microscopi electrònic de rastreig i la possibilitat de realitzar PCR per identificar gèneres i/o espècies amb més veridicitat i rapidesa.

Al tenir un ventall més ampli i més certesa, podria arribar a unes conclusions considerablement més fermes que les obtingudes amb les pràctiques fetes.

No haver pogut efectuar el treball amb les condicions que pretenia, m'ha comportat no poder resoldre totes les meves hipòtesis. Aquest fet em genera una necessitat de continuar aquesta recerca per arribar a trobar resposta als punts deixats pel camí, tal i com els que han sortit durant aquest.

Costa molt donar per acabat un treball de recerca. Cada vegada que ho llegeixes, que hi penses o que hi treballes vas trobant nous camins per seguir, noves coses a millorar, idees que condueixen a més idees... Al final, però, el temps ha acabat posant punt i final al meu treball.

Mirant endarrere, veig el camí que he traçat i no puc evitar sentir-me orgullosa pel que he aconseguit, encara que no sigui el que tenia previst.

Aquest treball acaba amb la il·lusió i l'esperança de poder ser continuat en un futur, ja sigui per mi, o per algun investigador encuriós per la mateixa qüestió que jo: **què ens comporta remenar diners?**

14. Bibliografia

- [1] Baradad, O. *Els microorganismes*, 2013. [en línia] [Data de consulta: 02/01/2020].
<<https://www.slideshare.net/oribara/biologia-2n-batxillerat-ud16-els-microorganismes>>.
- [2] *Microorganismes*, 2013. [en línia] [Data de consulta: 02/01/2020].
<<https://www.slideshare.net/mpere599/1-microorganismes>>.
- [3] González, A.M. i Saul Raisman, J. *Estructura i clasificación de los virus*. [en línia] [Data de consulta: 06/04/2020].
<http://www.biologia.edu.ar/viruslocal/estructura_yclasificacion.htm>.
- [4] The Center for Food Security & Public Health, Iowa State University. *Selected* Viral Families, Viruses and Species Affected*. [PDF] [Data de consulta: 06/04/2020].
<<http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assets/VirusFamilyTable.pdf>>.
- [5] aprofundir a:**
López, A. *Retrovirus, Virus RNA con envuelta y RT*. [en línia].
<<http://www2.cbm.uam.es/~jalopez/CLASES2002/CLASES203/tema25.htm>>.
- [6] Departament de Ciències Naturals, IES Alpajés. *Citologia, Organización celular procaríota: Bacterias y Arqueobacterias*, 2012. [en línia] [Data de consulta: 08/01/2020].
<<https://es.slideshare.net/fmedin1/bacteria-beg>>.
- [7] Universitat Rovira i Virgili. *Procariotes*, 2018. [PDF] [Data de consulta: 08/01/2020].
<<https://www.studocu.com/ca-es/document/universitat-rovira-i-virgili/biologia/apuntes/procariotes-resumen-procariotas/3632689/view>>.
- [8] González, A.M. i Saul Raisman, J. *Bacterias relevantes*. [en línia] [Data de consulta: 11/04/2020].
<http://www.biologia.edu.ar/bacterias/Bacterias_rlavantes.htm>.
- [9] Carles, J. *El món dels fongs*, 2020. [en línia] [Data de consulta: 13/02/2020].
<<http://usuaris.tinet.cat/fongs/caracter.htm>>.
- [10] Pilar, T. *Protozoos*, 2016. [en línia] [Data de consulta: 16/02/2020].
<<https://www.slideshare.net/Pilarillo/protozoos>>.
- [11] Jimeno, A. *Regne Protoctistes i Regne Fongs*. [en línia] [Data de consulta: 22/02/2020].
<<http://www.aula2005.com/html/cn1eso/12protocistetes/12protocistetes.htm>>.
- [12] aprofundir a:**
Alternança de generacions, 1986. [en línia].
<<https://www.enciclopedia.cat/ec-gec-0221348.xml>>.
- [13] *La reproducció de les algues*. [en línia] [Data de consulta: 06/04/2020].
<<https://www.monografias.com/docs/La-reproduccion-de-las-algas-PKM9DJUPCDUNZ>>.
- [14] Barneto, M. *¿Qué es el dinero?*. [en línia] [Data de consulta: 16/08/2020].
<<https://sites.google.com/site/economia20parabachillerato/temario/tema-7-el-mercado-de-dinero/1-el-dinero-y-sus-funciones>>.
- [15] *Historia del dinero: monedas y billetes*, 2013. [en línia] [Data de consulta: 16/08/2020].
<<https://www.tinsa.es/blog/historia/historia-del-dinero-monedas-y-billetes/>>.
- [16] En Naranja, ING. *Origen i història de les targetes de crèdit*, 2013. [en línia] [Data de consulta: 18/08/2020].
<<https://www.ennaranja.com/economiafacil/origen-e-historia-de-las-tarjetas-de-credito/>>.
- [17] Departamento de Emisión y Caja, Banco de España. *Billetteria, revista internacional de gestión del efectivo, número 14*, 2013. [PDF] [Data de consulta: 30/05/2020].
<https://www.bde.es/f/webbde/Secciones/Publicaciones/InformesBoletinesRevistas/RevistaBilletteria/13/BILLETARIA_14_OCTUBRE_2013_MEDIA_ESP.pdf>.
- [18] Oyler, J. Darwin, W. Cone, E. "Cocaine Contamination of United States Paper Currency", *Journal of Analytical Toxicology* 20.4 (1996).
<<https://academic.oup.com/jat/article/20/4/213/838490>>.

- [19] Martiz, J. Sullivan, S. Prill, R. Aksoy, E. Scheid, P. Carlton, J. "Filthy lucre: A metagenomic pilot study of microbes found on circulating currency in New York City", *PLOS ONE*, 12.4 (2017).
<<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0175527>>.
- [20] Heshiki, Y. Dissanayake, T. Zheng T. Kang, K. Yueqiong, N. "Toward a Metagenomic Understanding on the Bacterial Composition and Resistome in Hong Kong Banknotes". *Frontiers*, 8.632 (2017).
<<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00632/full>>.
- [21] "Les monedes presenten un menor risc de contagi que els bitllets: Una nova investigació del Centre Mèdic Universitari d'Hamburg-Eppendorf ha estudiat l'activitat antimicrobiana dels diners". *Nació Digital*. 17/04/2020.
<https://www.naciodigital.cat/> [Data de consulta: 28/05/2020].
- [22] Barrabés, S. Aulinas M. *Introducció al laboratori microbiològic*, 2018. [PDF] [Data de consulta: 13/04/2020].
<http://www3.udg.edu/publicacions/vell/electronicques/Introduccio_Biotecnologia_practica/pdf/01_introduccio_al_laboratori_microbiologic.pdf>.
- [23] Universitat de Girona. *Guió de pràctiques integrades de microbiologia*, 2018. [en línia] [Data de consulta: 13/04/2020].
<<https://www.studocu.com/ca-es/document/universitat-de-girona/practiques-de-microbiologia/practica/guio-pcmg-micro-2n-bt-2017-18/4848364/view>>.
- [24] Fisher Scientific, Oxoid. *Microbact Strips manual*. [PDF] [Data de consulta: 10/07/2020].
<<https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/MBD/brochures/Microbact-Range-Product-Overview-EN.pdf>>.
- [25] IDDEX. *Pseudalert, detecció en 24 hores de Pseudomonas aeruginosa*. [en línia] [Data de consulta: 10/07/2020].
<<https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/pseudalert/>>.
- [26] IDDEX. *Colilert-18* [en línia] [Data de consulta: 10/07/2020].
<<https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/colilert-18/>>.
- [27] Sanchez, L. "Congelación Bacteriana: Factores que intervienen en el proceso". *Research Gate*, 3.3 (2005).
<https://www.researchgate.net/publication/316949409_Congelacion_Bacteriana_Factores_Que_Intervienen_en_el_Proceso>.
- [28] García, M^a D. Uruburu, F. *Temas de actualidad: La conservación de cepas microbianas*. [PDF] [Data de consulta: 05/01/2020].
- [29] Canorio, N. Paredes, F. Valdivia, M. "Agentes crioprotectores alternativos para el congelamiento lento de espermatozoides epididimarios de alpaca (Vicugna pacos)". *SciELO Perú*, 26.3 (2015).
<http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000300010>.
- [30] Roque, J. Navarro, M. Toro, G. González, I. Pimstein, M. Venegas, E. "Infección sistèmica por *Paecilomyces lilacinus* en un paciente inmunodeprimido pediátrico". *SciELO Chile*, 131.1 (2003)
<https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872003000100012>.
- [31] López, B. *Micrococcus: características, morfología, enfermedades*. [en línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://www.lifeder.com/micrococcus/>>.
- [32] Guiu, A. Buendía, B. Llorca, L. Gómez, R. Girón, R. "Chryseobacterium spp., ¿nuevo patógeno oportunista asociado a fibrosis quística?". *Elsevier* 32.8 (2014)
<<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-chryseobacterium-spp-nuevo-patogeno-oportunista-S0213005X13002486>>.
- [33] Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC). *El llevat de la cervesa i... del laboratori*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/20].
<<http://www.seresmodelicos.csic.es/llevat.html>>.
- [34] Biblioteca Nacional de Medicina dels EE.UU. *Aspergillus*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001326.htm>>.
- [35] *Penicillium*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://www.ecured.cu/Penicillium>>.

- [36] Zieniuk, B. Fabiszewska, A. "Yarrowia lipolytica: a beneficial yeast in biotechnology as a rare opportunistic fungal pathogen: a minireview". *World J. Microbiol Biothechnol* 35.10 (2019).
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6302869/>>.
- [37] Organització Mundial de la Salut (OMS). *Salmonella*, 2018. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>.
- [38] *Genero: Botryotinia*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<http://avelinosetas.info/fichas_generos/Botryotinia.html>.
- [39] Universidad de los Andes Colombia. *Acetobacter*, 2011. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://www.studocu.com/co/document/universidad-de-los-andes-colombia/biologia-de-organismos-laboratorio/informe/acetobacter-nota-5/4831591/view>>.
- [40] Biblioteca Nacional de Medicina dels EE.UU. *Actinomicosis*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000599.htm>>.
- [41] Dossi, T. Escalona, M. Serrano, C. Silva, A. Juliet, C. Fernández, A. Leiva, V. "Serratia marcescens: descripción de un brote de infección intrahospitalaria". *SciELO Chile*, 19.4 (2002).
<https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002000400007>.
- [42] Washington State Department of Health. *Coliform Bacteria in Drinking Water*, 2018. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://www.doh.wa.gov/CommunityandEnvironment/DrinkingWater/Contaminants/Coliform>>.
- [43] Biblioteca Nacional de Medicina dels EE.UU. *Infecciones por estafilococo*. [En línia] [Data de consulta: 11/08/2020].
<<https://medlineplus.gov/spanish/staphylococcalinfections.html>>.

Figura 1, 2, 3 i 4:

<https://www.ilportaledelbambini.net/i-virus/>

Figura 5:

<https://brainly.lat/tarea/14595703>

Figura 6:

<https://www.lostiempos.com/tendencias/bienestar/20120313/arquea-ser-vivo-mas-rapido-del-mundo>

Figura 7:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/MRSA_SEM_7821_lores.jpg

Figura 8, 9, 10:

<https://www.slideserve.com/sovann/estructura-y-morfologia-bacteriana>

Figura 11:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c1/Arrangement_of_cocci_bacteria_en.svg/1200px-Arrangement_of_cocci_bacteria_en.svg.png

Figura 12:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/9f/Arrangement_of_bacilli_bacteria.svg/1200px-Arrangement_of_bacilli_bacteria.svg.png

Figura 13, 14 i 15:

<http://www.escuelapedia.com/identificacion-de-bacterias-gram-positivas-y-gram-negativas/>

Figura 16:

<https://cnho.files.wordpress.com/2010/02/biparticion.jpg>

Figura 17, 18 i 19:

https://o.quizlet.com/rxaaOWqybEuO4abNeXzI8w_b.jpg

Figura 21 i 22:

<http://losporquesdelanaturaleza.com/hongos-mas-alla-de-las-setas/>

Figura 23:

<https://www.flickr.com/photos/21096258@N05/45155527565>

Figura 24:

<https://www.sciencephoto.com/media/981652/view/paramecium-ciliates-light-micrograph>

Figura 25:

<https://www.flickr.com/photos/microagua/32670648607>

Figura 26:

https://en.wikipedia.org/wiki/Plasmodium_falciparum

Figura 27:

<https://www.escuelapedia.com/wp-content/uploads/Las-algas-unicelulares.jpg>

Figura 28:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5c/Monedas_romanavnavam.jpg

Figura 29:

<https://www.collectorscurrency.com/item/2712>

Figura 30:

<https://www.pinterest.es/pin/80713018292022486/>

Figura 31:

https://es.wikipedia.org/wiki/Criptomoneda#/media/Archivo:Hitbtc_terminal_window.png

Figura 32:

<https://microbeonline.com/oxidase-test-principle-procedure-and-oxidase-positive-organisms/>

Figura 33:

<https://laboratoryinfo.com/catalase-test/>

Figura 34, 35 i 36:

<https://www.studocu.com/ca-es/document/universitat-de-girona/practiques-de-microbiologia/practica/guio-pcmg-micro-2n-bt-2017-18/4848364/view>

Les altres figures són pròpies.

15. Annexos



Annex A: Glossari

1. **Capsòmers:** Proteïnes globulars que constitueixen la càpsida dels virus.
2. **VIH:** El Virus de la Immunodeficiència Humana.
3. **SIDA:** Síndrome de la ImmunoDeficiència Adquirida.
4. **Peptidoglicans:** Polímer format per aminoàcids i monosacàrids. Forma part de la part bacteriana.
5. **Fagocitosi:** Procés en el qual una cèl·lula ingereix una partícula o cèl·lula i la digereix.
6. **Colesterol:** Lipoproteïna (associació d'una proteïna i un lípid) que té funció estructural. Dona rigidesa a la membrana cel·lular dels eucariotes, que per si sola és fluida. També és necessari per ser el precursor de les hormones sexuals, entre altres funcions.
7. **Fermentació:** Procés catabòlic (degradació de compostos) d'oxidació, de naturalesa anaeròbica, que dona com a resultat un compost orgànic.
8. **Líquens:** Ésser viu format per la unió simbiòtica d'un fong i una alga.
9. **Pseudohifes:** Cadenes de cèl·lules.
10. **Comensalisme:** Relació entre dos organismes, en la qual un és beneficiat i l'altre no en surt afectat.
11. **Simbiosi:** Relació entre dos organismes, en el qual els dos són beneficiats. Un exemple és el líquen⁷.
12. **Cuproníquel:** Aliatge de coure i níquel.
13. **Criptografia:** Tècnica de conversió d'un text o d'unes dades en un missatge incompreensible per a la persona que no en posseeix la xifra o la clau.
14. **Cel·lulosa:** Polisacàrid constituït per molècules de glucosa.
15. **Proliferació cel·lular:** Increment del nombre de microorganismes d'una colònia.
16. **Peptones:** S'obtenen, junt amb els aminoàcids, amb la hidròlisi (trencament químic gràcies a enzims) d'una proteïna.
17. **Agar:** Polisacàrid estructural sense ramificacions que forma part de la paret cel·lular d'algunes algues.
18. **Caseïna:** Proteïna de la llet de vaca.
19. **Substrat:** Substància sobre la qual actua un enzim.
20. **Asèpsia:** Absència de microorganismes.
21. **Infecció nosocomial:** Infecció adquirida en un local hospitalari o bé durant una intervenció sanitària.

Annex B: Taula de les mostres

Ciutat, país	Data i hora	Valor	Moneda / bitllet	Codi ciutat-valor- numero-b/m	Mètode de congelació
Masqat, Oman	23/12/2019 17:30	100 baisa	bitllet	Ma-100-1-b	Rentat
Masqat, Oman	23/12/2019 17:30	100 baisa	bitllet	Ma-100-2-b	No Rentat
Masqat, Oman	23/12/2019 17:30	100 baisa	moneda	Ma-100-1-m	No Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	5 riyal	bitllet	Do-5-1-b	Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	1 riyal	bitllet	Do-1-1-b	Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	1 riyal	bitllet	Do-1-2-b	No Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	1 riyal	bitllet	Do-1-3-b	No Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	50 dirhams	moneda	Do-50-1-m	Rentat
Doha, Qatar	25/12/2019 15:00	50 dirhams	moneda	Do-50-2-m	No Rentat
Abu Dhabi, Abu Dhabi	27/12/2019 20:00	10 dirhams	bitllet	Ab-10-1-b	Rentat
Abu Dhabi, Abu Dhabi	27/12/2019 20:00	5 dirhams	bitllet	Ab-5-1-b	No Rentat
Abu Dhabi, Abu Dhabi	27/12/2019 20:00	1 dirham	moneda	Ab-1-1-m	Rentat
Londres, Regne Unit	28/12/2019 22:00	5 pounds	bitllet	Lo-5-1-b	Rentat
Londres, Regne Unit	28/12/2019 22:00	2 pounds	moneda	Lo-2-1-m	No Rentat
Londres, Regne Unit	28/12/2019 22:00	1 pound	moneda	Lo-1-1-m	Rentat

Banyoles, Catalunya	02/01/2020 17:30	5 euros	bitllet	Cat-5-1-b	Rentat
Banyoles, Catalunya	02/01/2020 17:30	5 euros	bitllet	Cat-5-2-b	No Rentat
Banyoles, Catalunya	15/06/2020 15:15	5 euros	bitllet	Cat-5-3-b	No Rentat
Ayutthaya, Tailàndia	16/01/2020 16:00	20 bahts	bitllet	Ay-20-2-b	Rentat
Ayutthaya, Tailàndia	16/01/2020 16:00	5 bahts	moneda	Ay-5-1-m	No Rentat
Ayutthaya, Tailàndia	16/01/2020 16:00	1 baht	moneda	Ay-1-1-m	Rentat
Ayutthaya, Tailàndia	16/01/2020 16:00	1 baht	moneda	Ay-1-2-m	No Rentat
Koh Kood island, Tailàndia	26/01/2020 16:00	20 bahts	bitllet	Ko-20-1-b	Rentat
Koh Kood island, Tailàndia	27/01/2020 17:00	100 bahts	bitllet	Ko-100-1-b	No Rentat
Koh Kood island, Tailàndia	27/01/2020 17:00	10 bahts	moneda	Ko-10-1-m	No Rentat
----- Benín,	28/01/2020 16:30	2000 xof	bitllet	Be-2000-1-b	Rentat
----- Benín,	28/01/2020 16:30	500 xof	moneda	Be-500-1-m	No Rentat

Annex C: Índex de taules, figures i esquemes

Índex de figures

- Figura 1:** Virus amb càpsida icosaèdrica
- Figura 2:** Virus amb càpsida helicoidal
- Figura 3:** Bacteriòfag
- Figura 4:** Virus amb càpsida embolcallada
- Figura 5:** Representació del cicle de replicació
- Figura 6:** Conjunt d'arqueobacteris
- Figura 7:** Conjunt de cocs
- Figura 8:** Conjunt de bacils
- Figura 9:** Conjunt de vibrions
- Figura 10:** Conjunt d'espirls
- Figura 11:** Agrupació dels cocs
- Figura 12:** Agrupació dels bacils
- Figura 13:** Estructura d'un bacteri
- Figura 14:** Paret d'un bacteri grampositiu
- Figura 15:** Paret d'un bacteri gramnegatiu
- Figura 16:** Representació de la fissió binària
- Figura 17:** Representació de la transducció
- Figura 18:** Representació de la conjugació
- Figura 19:** Representació de la transformació
- Figura 20:** Observació al microscopi del teixit epidèrmic de la ceba
- Figura 21:** Conjunt de fongs llevaduriformes: *Saccharomyces cerevisiae*
- Figura 22:** Conjunt d'espores del gènere *Penicillium*
- Figura 23:** Conjunt de protozous flagel·lats: *Trypanosoma brucei*
- Figura 24:** Conjunt de protozous ciliats: *Paramecium*
- Figura 25:** Conjunt de protozous rizòpodes: *Chaos glabrum*
- Figura 26:** Conjunt de protozous esporozous: *Plasmodium falciparum*
- Figura 27:** Conjunt d'algues unicel·lulars
- Figura 28:** Monedes originàries de l'època romana
- Figura 29:** Primer bitllet portuguès, 1799
- Figura 30:** Primera targeta de crèdit
- Figura 31:** Terminal d'intercanvi de BTC
- Figura 32:** Representació de la reacció de l'oxidasa
- Figura 33:** Representació de la reacció de la catalasa

- Figura 34:** Sembra en estria fins a l'esgotament
- Figura 35:** Sembra en estria escocesa
- Figura 36:** Sembra per disseminació
- Figura 37:** Cultiu mostra Do-2-1-b (AP)
- Figura 38:** Cultiu mostra Do-2-1-b (gli)
- Figura 39:** Cultiu mostra Cat-5-2-b (NR)
- Figura 40:** Cultiu mostra Cat-5-2-b (NR)
- Figura 41:** Cultiu mostra Cat-5-3-b (R)
- Figura 42:** Cultiu pur a partir de pou positiu en medi CCA
- Figura 43:** Cultiu pur a partir de pou positiu
- Figura 44:** Cultiu mostra Ko-2-1-b (gli)
- Figura 45:** Cultiu mostra Lo-2-1-b (gli)
- Figura 46:** Cultiu mostra Ma-100-1-b (gli)
- Figura 47:** Cultiu mostra Ab-10-1-b (AP)
- Figura 48:** Imatge a 1000x d'una colònia de codi 1.
- Figura 49:** Imatge a 400x d'una colònia de codi 2.
- Figura 50:** Imatge a 150x d'una colònia de codi 3.
- Figura 51:** Imatge a 600x d'una colònia de codi 4.
- Figura 52:** Imatge a 150x d'una colònia de codi 5.
- Figura 53:** Imatge a 150x d'una colònia de codi 6.
- Figura 54:** Imatge a 1000x d'una colònia de codi 7.
- Figura 55:** Imatge a 400x d'una colònia de codi 8.
- Figura 56:** Imatge a 400x d'una colònia de codi 9.
- Figura 57:** Imatge a 400x d'una colònia de codi 10.
- Figura 58:** Imatge a 150x d'una colònia de codi 11.
- Figura 59:** Imatge a 600x d'una colònia de codi 12.
- Figura 60:** Imatge a 600x d'una colònia de codi 13.
- Figura 61:** Imatge a 1000x d'una colònia de codi 14.
- Figura 62:** Imatge a 600x d'una colònia de codi 15.
- Figura 63:** Imatge a 400x d'una colònia de codi 16.
- Figura 64:** Imatge a 1000x d'una colònia de codi 17.
- Figura 65:** Imatge a 600x d'una colònia de codi 18.
- Figura 66:** Imatge a 150x d'una colònia de codi 19.
- Figura 67:** Mapa dels països on s'han recollit les mostres estudiades

Índex de taules

Taula 1: Famílies víriques més comunes

Taula 2: Metabolisme en funció de la font de carboni i d'energia

Taula 3: Metabolisme en funció de la necessitat d'oxigen

Taula 4: Famílies bacterianes més comunes

Taula 5: Famílies fúngiques més comunes

Taula 6: Dietari de la part pràctica

Taula 7: Sistemes de congelació utilitzats

Taula 8: Volum de dissolució de la mostra en les proves Quanti-Tray

Taula 9: Característiques morfològiques de les colònies mostra Do-2-1-b (AP)

Taula 10: Característiques morfològiques de les colònies mostra Do-2-1-b (gli)

Taula 11: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-2-b (NR)

Taula 12: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-2-b (NR)

Taula 13: Característiques morfològiques de les colònies mostra Cat-5-3-b (R)

Taula 14: Característiques morfològiques de les colònies mostra a partir dels pous positius en medi CCA

Taula 15: Característiques morfològiques de les colònies mostra a partir dels pous positius

Taula 16: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ko-2-1-b (gli)

Taula 17: Característiques morfològiques de les colònies mostra Lo-2-1-b (gli)

Taula 18: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ma-100-1-b (gli)

Taula 19: Característiques morfològiques de les colònies mostra Ab-10-1-b (AP)

Taula 20: Resultats proves Quanti-Tray

Taula 21: Resultats proves, tincions i observació al microscopi

Taula 22: Identificació gèneres bacterians i fúngics

Taula 23: Nombre de colònies per tipologia

Taula 24: Tipologies colonials presents a cada país

Taula 25: Càlculs del nombre més probable d'ufc/bitllet

Índex d'esquemes

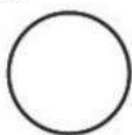
Esquema 1: Cronograma del desenvolupament del treball

Esquema 2: Planificació general del treball

Esquema 3: Planificació general de la recerca experimental

Annex D: Pauta de classificació morfològica

FORM



Circular



Irregular



Filamentous



Rhizoid

ELEVATION



Raised



Convex



Flat



umbonate



Crateriform

MARGIN



Entire



Undulate



Filiform

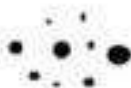


Curled



Lobate

FORMA



Puntiforme



Circular



Filamentosa



Granular



Rizoide



Fusiforme

ELEVACIÓ



Plana



Elevada



Convexa



Pulvinada



Umbilicada

MARGE



Entera



Ondulada



Lobulada



Dentada



Filamentosa



Arissada

Annex E: Manual d'identificació bacteriana

Identification flow charts

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

All of the unknowns will fall into the following groups in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (The pink book on the shelf in the laboratory).

GROUP 4

Description: Gram Negative, Aerobic/Microaerophilic rods and cocci

Key differences are: pigments/fluorescent, motility, growth requirements, denitrification, morphology, and oxidase, read Genera descriptions

Examples: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Beijerinckia*, *Acetobacter*

GROUP 5

Description: Facultatively Anaerobic Gram negative rods

Key differences are: growth factors, morph., gram rxn., oxidase rxn., read Genera descriptions

Examples: Family Enterobacteriaceae and Vibrionaceae

GROUP 17

Description: Gram-Positive Cocci

Key differences are: oxygen requirements, morph., growth requirements (45°C and supplements), read Genera descriptions

Examples: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*

GROUP 18

Description: Endospore-Forming Gram positive rods and cocci

Key differences are: oxygen requirements, motility, morph, catalase

Examples: *Bacillus*, *Clostridium*

GROUP 19

Description: Regular, Nonsporulating Gram positive rods

Key differences are: morph., oxygen require, catalase

Examples: *Lactobacillus*, *Listeria*

GROUP 20

Description: Irregular, Nonsporulating Gram-positive rods

Key differences are: catalase, motility, morph., read Genera descriptions

Examples: *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Propionibacterium*

GROUP 21

Description: Weakly Gram-Positive Nonsporulating Acid Fast Slender Rods

Key differences are: acid fast, growth

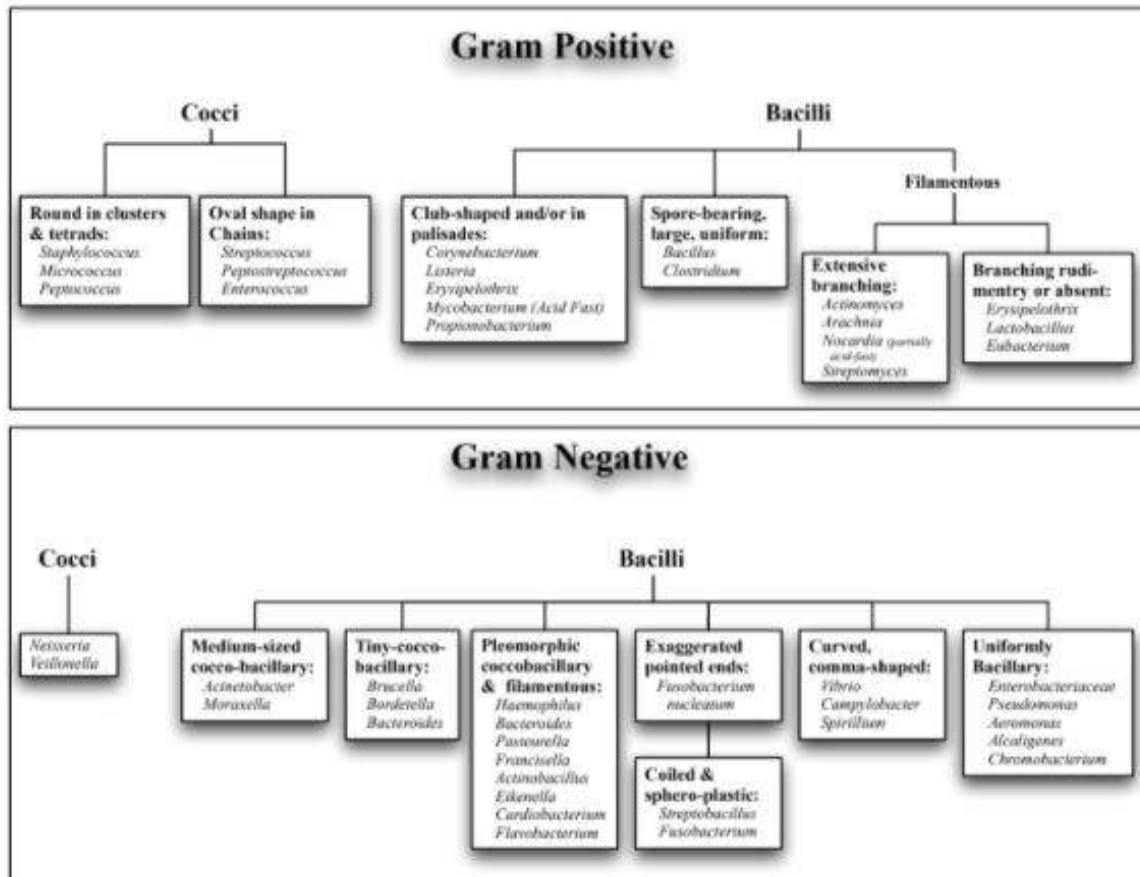
Examples: *Mycobacterium*

Identification flow charts

Differentiation via Gram stains and cell morphology.

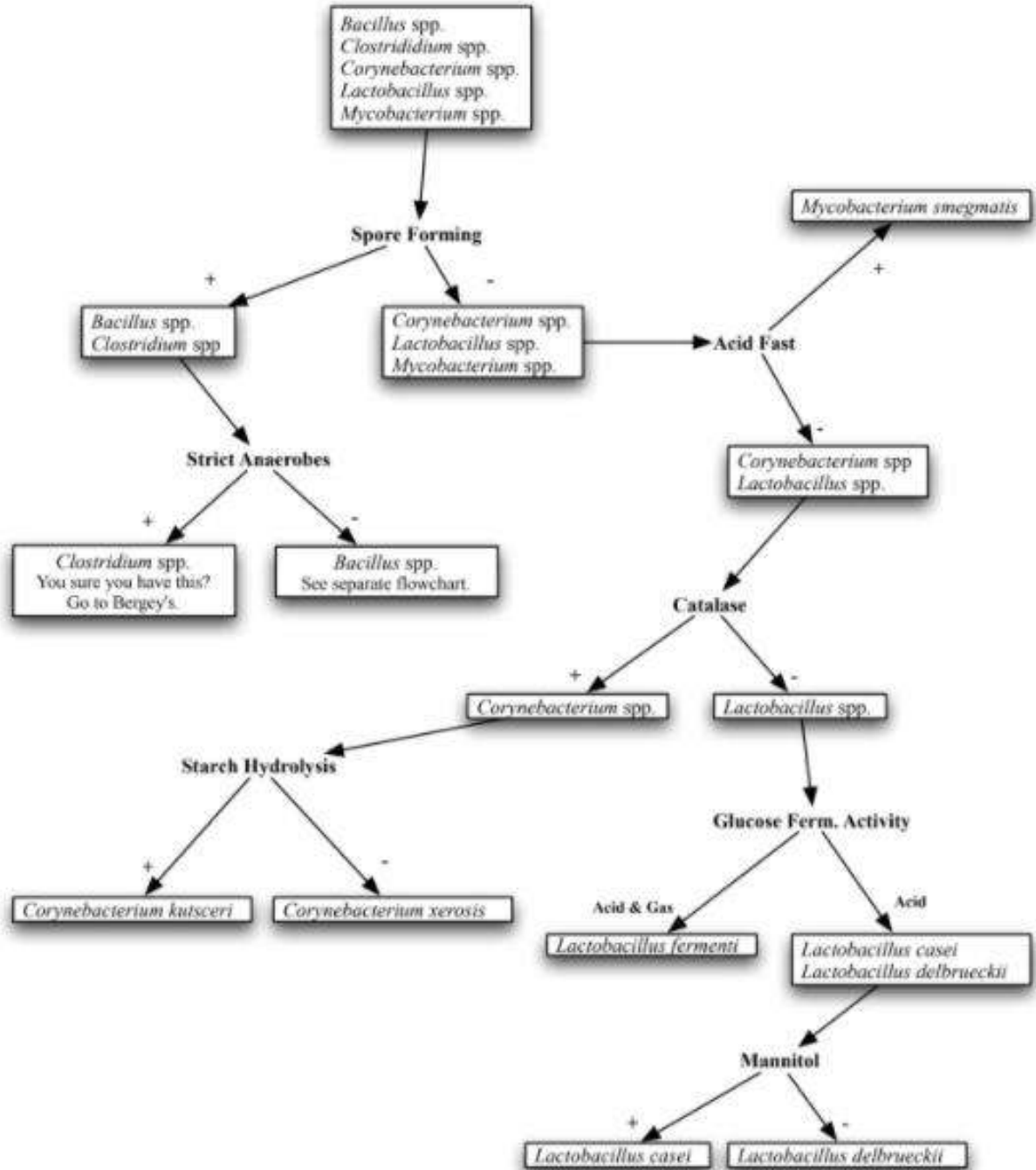
Gram Stain & Morphological Flowchart

Some Examples



Gram Positive Rods ID Flowchart

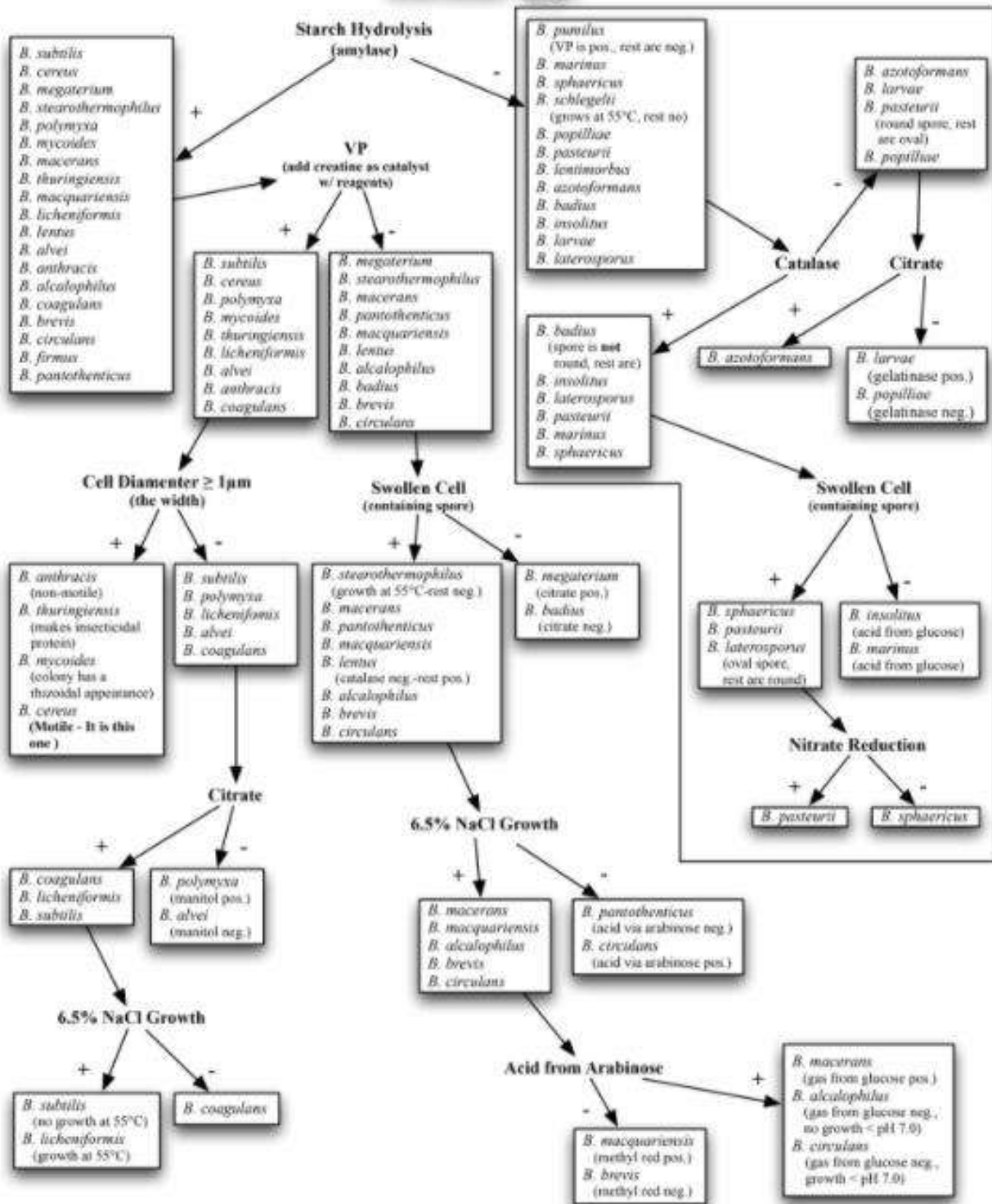
Gram Positive Rods



Identification flow charts

Bacillus spp. ID Flowchart

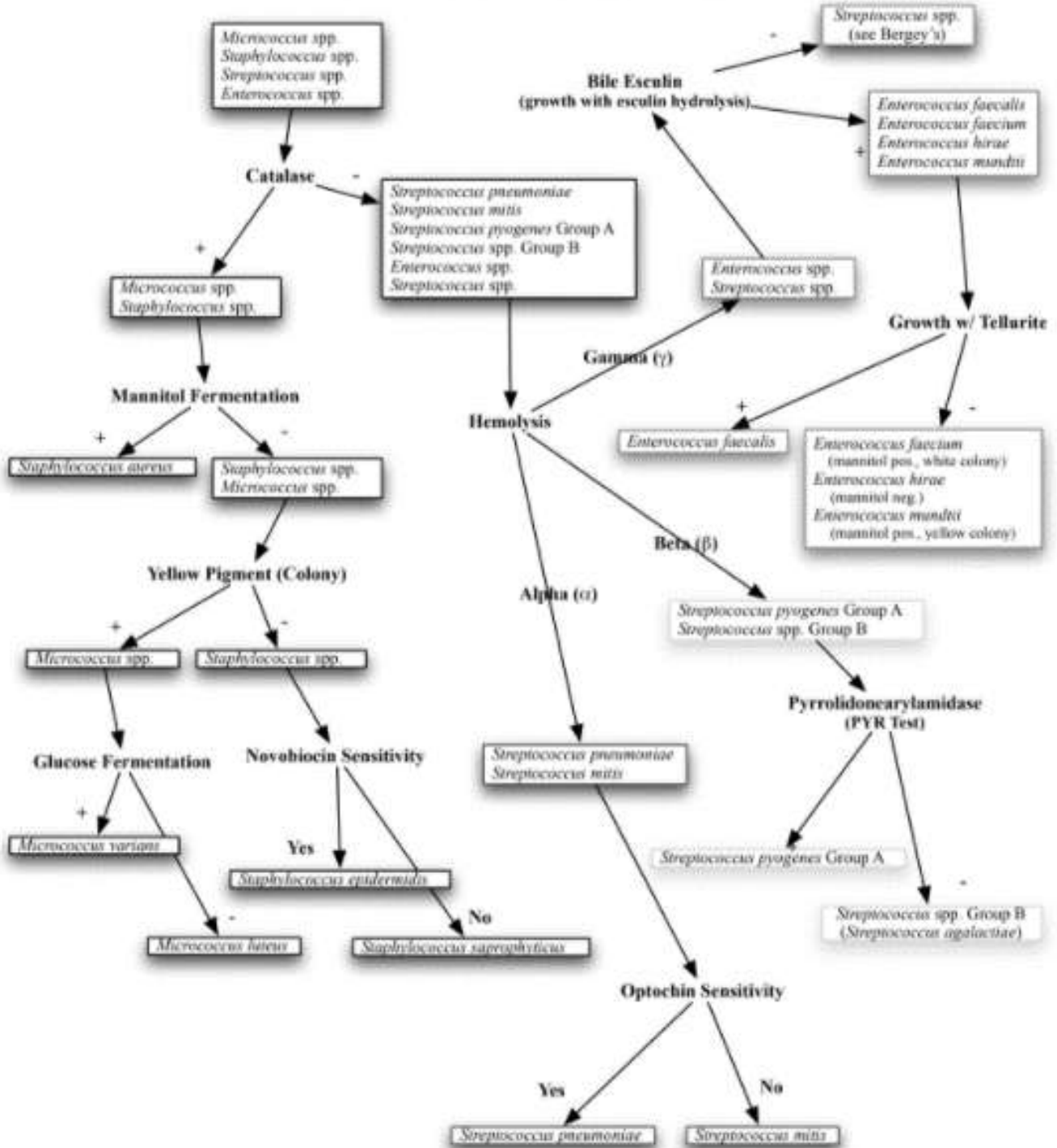
Bacillus spp.



Identification flow charts

Gram Positive Cocci ID Flowchart

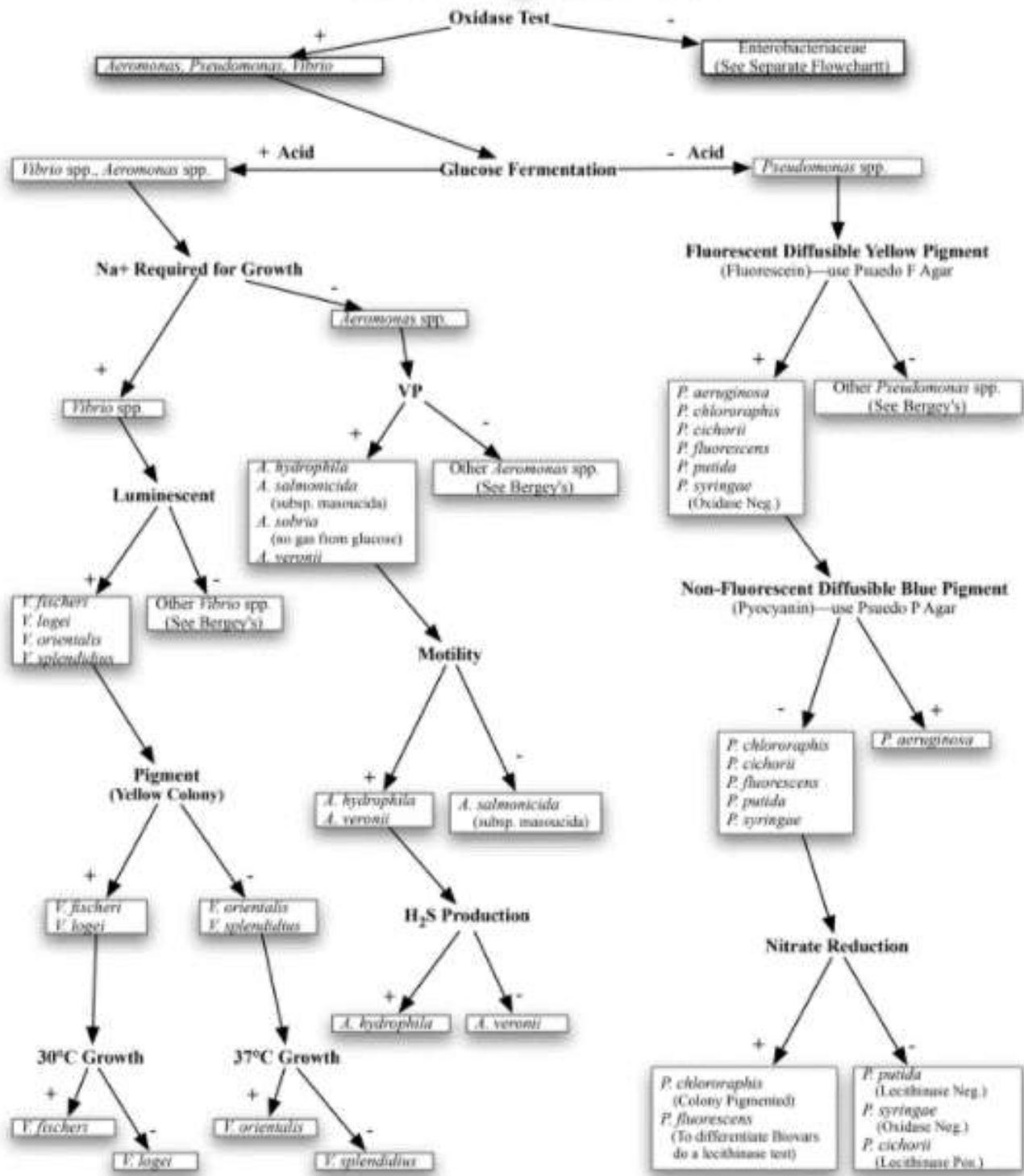
Gram Positive Cocci



Identification flow charts

Gram Negative Rods ID Flowchart

Gram Negative Rods



Annex F: Manual d'identificació fúngica

Clave dicotómica para la identificación de hongos aislados sistemáticamente en ambientes mediterráneos

Aunque las bacterias puedan ser agentes de biodeterioro sobre diversos sustratos, los hongos se aíslan reiteradamente en nuestro medio como agentes causales de graves problemas en archivos, bibliotecas, obras de arte, edificios, etc. por lo que en este estudio aportamos una clave dicotómica resumida que incluye los hongos filamentosos más frecuentemente aislados de nuestro medio ambiente.

Las características descritas se basan en cultivos desarrollados en agar extracto de malta al 2 % durante cinco días a 28°C.

Las preparaciones para la observación de las características microscópicas se realizan en fresco y entre portaobjetos y cubreobjetos.

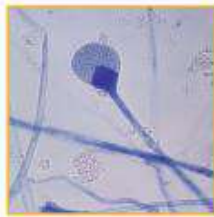
Clave de identificación

- | | |
|---|---|
| 1a Presencia de esporangios y esporangióforos 2 | 13a Fiálides largas. Ausencia de polifiálides 14 |
| 1b Ausencia de esporangios y esporangióforos 4 | 13b Fiálides en forma de botella.
Polifiálides presentes o ausentes 15 |
| 2a Esporangios y esporangióforos generalmente oscuros.
E esporangióforos a menudo con estrías <i>Rhizopus</i> | 14a Fiálides solitarias o en conidióforos ramificados,
normalmente no en verticilos <i>Acremonium</i> |
| 2b Esporangios y esporangióforos generalmente
no pigmentados. Esporangióforos sin estrías 3 | 14b Fiálides en conidióforos ramificados
en verticilos <i>Verticillium</i> |
| 3a Esporangio piriforme con apófisis <i>Absidia</i> | 15a Colonias verdes <i>Trichoderma</i> |
| 3b Esporangio globoso sin apófisis <i>Mucor</i> | 15b Colonias de otros colores 16 |
| 4a Conidios en peritecio o picnidio 5 | 16a Colonias blancas, amarillo-rosadas o púrpuras.
A menudo presencia de macroconidios <i>Fusarium</i> |
| 4b Conidios no formados en peritecis ni en picnidios 6 | 16b Colonias negruzcas.
Conidios no septados <i>Stachybotrys</i> |
| 5a Presencia de peritecios <i>Chaetomium</i> | 17a Conidios sólo átricos <i>Geotrichum</i> |
| 5b Presencia de picnidios <i>Phoma</i> | 17b Conidios átricos y/o blásticos 18 |
| 6a Ontogenia basípeta. Conidios en cadenas o agrupados 7 | 18a Conidios blásticos que nacen de hifas o de células
ensanchadas o ramificadas 19 |
| 6b Ontogenia acropétala o por fragmentación de hifas 17 | 18b Conidios blásticos que no cumplen el requisito
anterior 20 |
| 7a Conidios en cadenas 8 | 19a Colonias gris-marrónáceas. Conidios que nacen
de pequeños denticulos <i>Botrytis</i> |
| 7b Conidios en agrupaciones 13 | 19b Colonias semejantes a levaduras. De color crema
que se transforman en verde-negruzca <i>Aureobasidium</i> |
| 8a Conidios con un septo transversal.
Colonias rosadas <i>Trichothecium</i> | 20a Conidios en agrupaciones de color
negruzco <i>Epicoccum</i> |
| 8b Conidios sin septos o con más de un septo 9 | 20b Conidios no en agrupaciones 21 |
| 9a Conidios formados de hifas fértiles.
Colonias rojo-marrónáceas <i>Wallemia</i> | 21a Conidios mayoritariamente unicelulares.
Colonias gris-verdosas <i>Cladosporium</i> |
| 9b Conidios no formados por división de hifa fértil 10 | 21b Conidios con septos transversales o longitudinales ... 22 |
| 10a Conidióforos con ensanchamiento apical <i>Aspergillus</i> | 22a Conidios jóvenes de base redonda.
Conidióforos generalmente rectos <i>Alternaria</i> |
| 10b Conidióforos sin ensanchamiento apical 11 | 22b Conidios jóvenes de base atenuada.
Conidióforos generalmente no rectos <i>Ulocladium</i> |
| 11a Células conidiógenas con anélices.
Conidios de base truncada <i>Scopulariopsis</i> | |
| 11b Células conidiógenas fiálidicas. Conidios
sin base truncada 12 | |
| 12a Colonias de color amarillo o marrón.
Fiálides de cuello largo <i>Paecilomyces</i> | |
| 12b Colonias a menudos verdosas.
Fiálides de cuello corto <i>Penicillium</i> | |

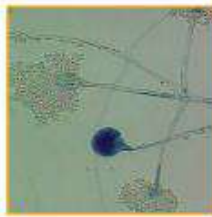
Las características microscópicas de los géneros citados se muestran a continuación.
 Asimismo debemos mencionar que estas cepas poseen una marcada actividad enzimática que les facilita su desarrollo sobre los sustratos y la degradación de los mismos.



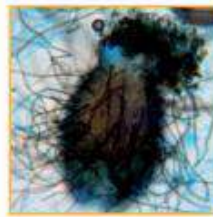
Rhizopus sp.



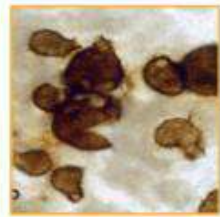
Absidia sp.



Mucor sp.



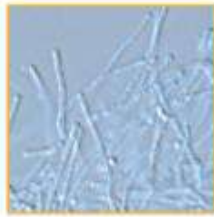
Chetomium sp.



Phoma sp.



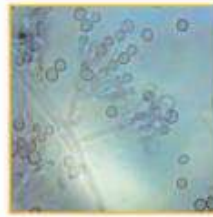
Trichothecium sp.



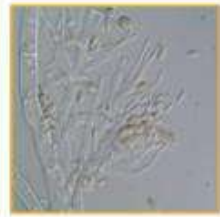
Wallemia sp.



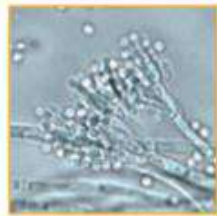
Aspergillus sp.



Scopulariopsis sp.



Paecilomyces sp.



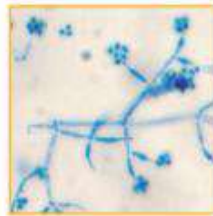
Penicillium sp.



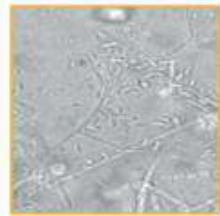
Acremonium sp.



Verticillium sp.



Trichoderma sp.



Fusarium sp.



Stachybotrys sp.



Geotrichum sp.



Botrytis sp.



Aureobasidium sp.



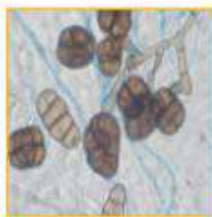
Epicoccum sp.



Cladosporium sp.



Alternaria sp.



Ulocladium sp.

Annex 6: Materials de les mostres

El meu treball requereix de mostres amb les quals poder fer l'estudi microbiològic. En el meu cas, les mostres són bitllets i monedes de diferents parts del món (Tailàndia, Emirats Àrabs, Marroc...) els quals teòricament han de tenir un nombre considerable de microorganismes del seu país d'origen.

Un dels punts determinants en la presència o no i de la quantitat de microorganismes és el material amb el qual està fabricat el bitllet o moneda. Com que les mostres provenen de diferents països, es pot fer una comparativa de la presència i el material amb el qual estan fabricats. A més, en la gran majoria de països, els diferents valors de monedes estan compostats per diferents materials.

Podem veure un clar exemple amb les monedes euro. A simple vista, es pot comprovar que les monedes d'entre 1 i 5 cèntims, les d'entre 10 i 50 i les d'1 i 2 euros són de diferents colors. Aquest canvi de color és degut al material amb el qual han estat fabricades. Les primeres, per exemple, estan compostes d'acer amb un recobriments de coure, que li dóna el to marronós. Les segones, que tenen un color més semblant a l'or, estan fetes d'or nòrdic, una al·liació de coure, alumini i zinc. Les últimes, les monedes d'1 euro i 2 euros, estan fetes de níquel-llautó i de cuproníquel, invertint els dos materials.

Taula amb els materials que componen cada mostra:

Codi (ciutat - valor - numero - b/m)	País	Material
Ma-100-1-b	Oman	paper
Ma-100-2-b	Oman	paper
Ma-100-1-m	Oman	cuproníquel
Do-5-1-b	Qatar	paper
Do-1-1-b	Qatar	paper
Do-1-2-b	Qatar	paper

Do-1-3-b	Qatar	paper
Do-50-1-m	Qatar	acer i níquel
Do-50-2-m	Qatar	acer i níquel
Ab-10-1-b	Abu Dhabi	paper
Ab-5-1-b	Abu Dhabi	paper
Ab-1-1-m	Abu Dhabi	cuproníquel
Lo-5-1-b	Regne Unit	polímer de propilè
Lo-2-1-m	Regne Unit	níquel-llautó i cuproníquel
Lo-1-1-m	Regne Unit	níquel-llautó i aliatge de plata i níquel
Cat-5-1-b	Espanya	paper
Cat-5-2-b	Espanya	fibres de cotó, "paper" de cotó
Ay-20-2-b	Tailàndia	paper
Ay-5-1-m	Tailàndia	cuproníquel
Ay-1-1-m	Tailàndia	llautó niquelat
Ay-1-2-m	Tailàndia	llautó niquelat
Ay-20-1-b	Tailàndia	paper
Ko-100-1-b	Tailàndia	paper
Ko-10-1-m	Tailàndia	cuproníquel i bronze d'alumini
Be-2000-1-b	Benín	paper
Be-500-1-m	Benín	cuproníquel i llautó

(Aquest apartat s'havia d'utilitzar amb l'objectiu inicial: <<estudiar la relació entre el material de les monedes i la quantitat de microorganismes>>, però es va veure frustrat arran dels canvis produïts).

