
“L’ACCIÓ ANTIMICROBIANA DELS COL·LUTORIS”

Treball de Recerca

SEGON DE BATXILLERAT CIENTÍFIC

2021-2022

ALUMNA:

SOAN

Agraïments

La realització d'aquest treball va ser possible gràcies a la meva tutora, que sempre va estar pendent de la realització del treball, orientant-me i aconsellant-me. I sempre estava quan la necessitava. Moltes gràcies.

També a la meva mare per sempre donar-me suport quan m'estressava, ella sempre m'animava. Gràcies mare.

I per últim al meus amics per escoltar-me parlar del treball. Gràcies.

Resum

El control de la placa bacteriana i l'ús d'un agent químic ajuden al tractament i prevenció de les malalties bucal. A més a més, és vital per al tractament de les malalties periodontals i per la prevenció de la gingivitis.

Quan anem al supermercat triem un col·lutori a causa de diferents raons, ja sigui per la qualitat, la quantitat o el preu. L'elecció del col·lutori o esbandida bucal per complementar a la raspallada dental no és fàcil, especialment si no es tenen els coneixements adequats.

L'objectiu d'aquest treball és comparar l'acció antimicrobiana de dos col·lutoris d'ús quotidià, un de marca comercial (Listerine®) i un altre de marca blanca (Amalfi®). Per a això, es van deixar créixer els bacteris en plaques de petri que contenen medis nutritius de TSA (Thyptocasein Soy Agar) incubats a una temperatura de 37°C, per obtenir colònies que es poguessin detectar a ull nu. Si en el medi de cultiu s'introdueix un agent antimicrobià amb efecte bactericida, el creixement bacterià es detura i això es pot detectar per l'aparició de zones clares anomenades halos d'inhibició, de diferent diàmetre al voltant del lloc de contacte. Aquesta tècnica s'utilitza als hospitals per valorar la sensibilitat d'un determinat microorganisme a diferents tipus d'antibiòtics (antibiograma), abans de decidir un tractament, o bé a la indústria farmacèutica per provar noves substàncies amb activitat antimicrobiana.

Després de realitzar l'estudi s'ha observat activitat antimicrobiana en el producte de marca blanca, però no es pot confirmar quin dels dos col·lutoris és més efectiu, és a dir, quin produeix un major efecte antimicrobià.

Abstract

Bacterial plaque control and the use of a chemical agent help in the treatment and prevention of oral diseases. In addition, it is vital for the treatment of periodontal disease and for the prevention of gingivitis. When we go to the supermarket we choose a mouthwash because of different reasons, be it quality, quantity or price. Choosing mouthwash or mouthwash to complement brushing is not easy, especially if you do not have the right knowledge.

The aim of this work is to compare the antimicrobial action of two mouthwashes for everyday use, one trademark (Listerine®) and one private label (Amalfi®). To do this, the bacteria were allowed to grow in petri dishes containing nutrient media of TSA (Thyptocasein Soy Agar) incubated at a temperature of 37°C, to obtain colonies that could be detected with the naked eye. If an antimicrobial agent with bactericidal effect is introduced into the culture medium, the bacterial growth is stopped and this can be detected by the appearance of clear areas called inhibition halos of different diameter around the site of contact. This technique is used in hospitals to assess the sensitivity of a particular microorganism to different types of antibiotics (antibiogram), before deciding on a treatment, or in the pharmaceutical industry to test new substances with antimicrobial activity.

After the study, antimicrobial activity was observed in the private label product, but it is not possible to confirm which of the two mouthwashes is more effective, in other words, which one produces a greater antimicrobial effect.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	1
1.1. Justificació.....	1
2. OBJECTIUS	3
3. HIPÒTESI	3
4. MARC TEÓRIC	4
4.1. Els microorganismes.....	5
4.1.1. Els Bacteris.....	6
4.1.1.1. Estructura bacteriana.....	6
4.1.1.2. Reproducció.....	11
4.1.1.3. Nutrició.....	13
4.1.1.4. Classificació dels bacteris segons la necessitat d'oxigen.....	14
4.1.1.5. Bacteris grampositius i gramnegatius.....	14
4.1.1.6. Morfologia.....	15
4.1.1.7. Microorganismes que es troben en la boca.....	16
4.2. Medis de cultius.....	18
4.3. Antimicrobians o antibiòtics	20
4.3.1. Tipus d'antimicrobians.....	21
4.4. Tipus d'antimicrobians segons el seu mecanisme d'acció	21
4.5. Col·lutoris.....	24
4.5.1. Tipus de col·lutoris amb objectiu terapèutic.....	24
4.6. Infeccions bacterianes de la cavitat bucal.....	25
5. PART PRÀCTICA	27
5.1. Materials i mètodes.....	28
5.2. Resultats i discussió.....	32
5.3. Conclusions.....	36
5.4. Valoració personal.....	37
6. BIBLIOGRAFIA I WEB GRAFIA	39
7. ANNEXOS	43

1. Introducció

1.1. Justificació

El motiu principal pel qual he decidit fer una investigació sobre col·lutoris que ajudin a eliminar les capes bacterianes, és per la importància de tenir una bona salut bucal.

La boca a l'igual que qualsevol altra part del cos humà té milions de bacteris, que sempre es troben en constant canvi. A més a més, és una de les vies d'entrada per als microorganismes com els bacteris, virus, etc. Moltes vegades aquests bacteris són perjudicials per la salut bucal, i la resta del cos. És per aquest motiu que és important posar especial atenció en la cura de la boca. Si tenim coneixement previ sobre la importància de la salut bucal, anirem amb compte a l'hora de triar productes que ens ajudin a prevenir i combatre possibles malalties.

Durant l'elecció del meu tema d'investigació, vaig estar pensant en diferents opcions. Però des del principi, vaig tenir clar que la feina havia de tractar-se sobre microorganismes; des de sempre m'han cridat l'atenció, ja que estan molt present en les nostres vides.

Com ja tenia clar que volia estudiar microorganismes, em va ser molt més fàcil triar una opció de les propostes per la meva tutora de TR. Aquest treball d'investigació és una gran oportunitat per posar en pràctica les tècniques de laboratori que he estudiat al llarg dels meus anys d'escola, i de les noves tècniques que no coneixia fins ara.

Finalment per poder comprovar l'acció antimicrobiana dels col·lutoris d'estudi es tindrà que realitzar la tècnica de l'antibiograma, la qual consisteix en dipositar discs de paper de filtre impregnats amb els diferents antibiòtics, sobre la superfície d'agar d'una placa de petri prèviament inoculada amb el microorganisme d'interès (aquells que es troben als dents). Tan aviat el disc impregnat d'antibiòtic es posa en contacte amb la superfície humida de l'agar, el filtre l'absorbeix i l'antibiòtic difon en agar. L'antibiòtic difon radialment a través de l'espessor de l'agar a partir del disc formant-se un gradient de concentració. Transcorregudes 18-24 hores d'incubació els discs apareixen envoltats per una zona d'inhibició, la qual ens servirà per poder donar resposta al efecte que exerceixen els col·lutoris.

2. Pregunta i

objectius



3. Hipòtesi



2. *Preguntes i objectius del treball*

2.1. *Preguntes*

Algunes preguntes que m'he plantejat per la realització del treball:

- **Pregunta 1:** Potser que la boca tingui bacteris?
- **Pregunta 2:** Quina classe de bacteris trobaré en la boca?
- **Pregunta 3:** Quines malalties de la boca són causades per bacteris?
- **Pregunta 4:** Els col·lutoris que freqüentment són utilitzats, són efectius contra la placa bacteriana?
- **Pregunta 5:** Quin col·lutori és més efectiu?
- **Pregunta 6:** La marca del col·lutori influeix en la seva efectivitat?

2.2. *Objectius*

Objectius generals

- Realitzar sembra de cultius bacterians.
- Realitzar la prova de tinció de Gram.
- Comprovar la presència de bacteris grampositius i gramnegatius en la boca.

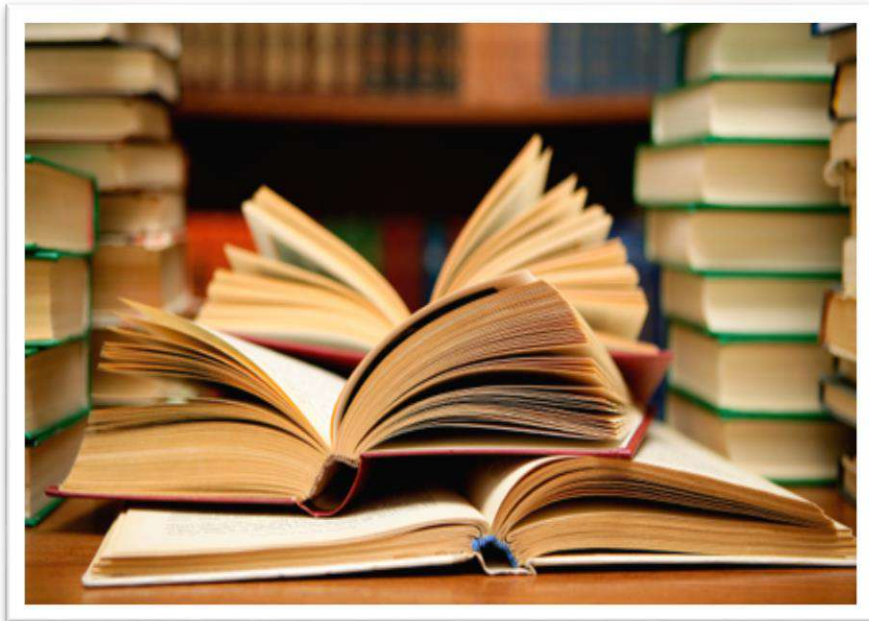
Objectius Específics

- Demostrar l'acció antimicrobiana que posseeixen els col·lutoris.
- Comprovar l'eficàcia de dos col·lutoris, de marca " Listerine[®]" i "Amalfi[®]".

3. *Hipòtesi*

Potser els col·lutoris de marca comercial ("Listerine[®]") posseeixen major efecte antimicrobià que els de marca blanca ("Amalfi[®]").

4. Marc teòric



4.1. Els Microorganismes

Els microorganismes són éssers vius de mida microscòpica que l'esser humà no pot percebre a ull nu i per observar-los es necessita d'un microscopi òptic. Aquests poden ser unicel·lulars o pluricel·lulars. D'altra banda, hi ha microorganismes capaços de produir el seu propi aliment, autòtrofs, i altres no poden produir-lo, i necessiten d'altres fonts per poder alimentar-se, heteròtrofs.

Els microorganismes es troben en els tres dominis en què actualment es divideixen els éssers vius: **Archaea**, **Bacteria** i **Eukarya** (Figura 1. Els dominis *Archaea* i *Bacteria* estan constituïts per organismes procariotes, mentre que l'*Eukarya* integra organismes eucariotes.

Els **virus** són estructures acel·lulars, no són considerats éssers vius sinó simplement matèria viva ja que no poden realitzar les funcions vitals de manera autònoma, és a dir, necessiten estar dins de la cèl·lula per poder realitzar el seu metabolisme.

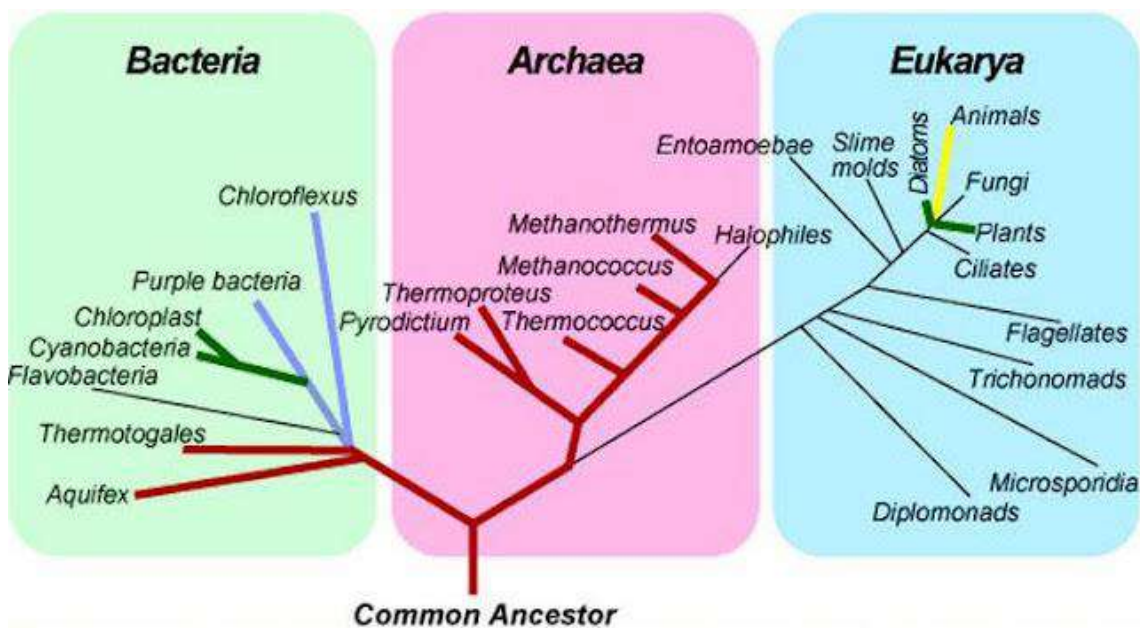


Figura 1. Arbre de la vida, els tres dominis dels éssers vius.

4.1.1. Els bacteris

Els bacteris són microorganismes formats per una sola cèl·lula. A causa que no posseeixen nucli s'anomenen procariotes. Són presents en tots els racons de la planeta, i l'ésser humà alberga milions de bacteris en tot el cos. La majoria dels bacteris que viuen en el cos humà són beneficioses i només hi ha una quantitat petita d'espècies que causen malalties, al contrari del que moltes persones creuen ^[1]

4.1.1.1. Estructura bacteriana

L'estructura de les cèl·lules procariotes que es presenta en la Figura 2, és l'estructura bàsica per la que estan constituïts els bacteris. L'estructura interna dels bacteris és molt més simple que la de les cèl·lules eucariotes, però en canvi l'estructura superficial és més complexa^[2]. Els components estructurals més importants dels bacteris són:

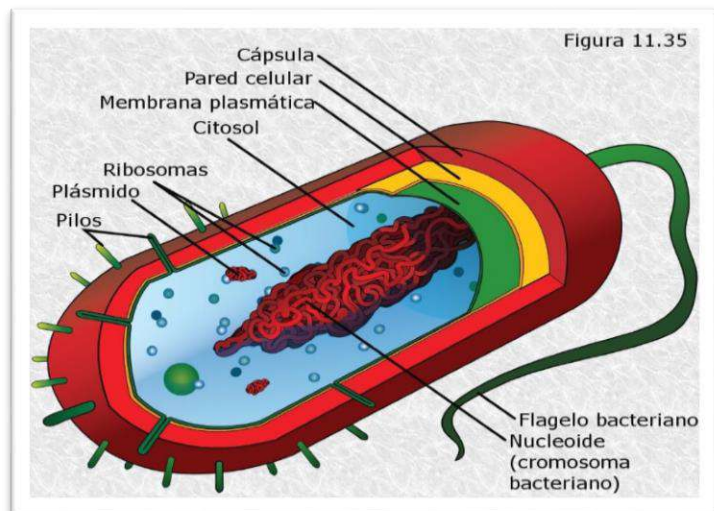


Figura 2. Estructura de la cèl·lula procariota.

- La càpsula bacteriana, que pot faltar.
- La paret bacteriana.
- La membrana plasmàtica.
- El citoplasma i el morfoplasma.
- El cromosoma bacterià.

Les cèl·lules procariotes i eucariotes tenen característiques que les diferencien, i en la Taula 1 les podem trobar.

Taula 1: Característiques de cèl·lules procariotes i eucariotes.

Característiques	Procariotes	Eucariotes
Coberta	Sense coberta. No tenen nucli i no fan la mitosi.	Amb embolcall. Tenen nucli i fan la mitosi.
Orgànuls	Només ribosomes i mesosomes.	Mitocondris, vacúols, plasts, ribosomes, etc.
DNA	Una sola molècula; no forma cromosomes.	Algunes o moltes molècules; formen cromosomes.
Moviment	Flagels de mida microscòpica i d'estructura fibril·lar simple.	Cilis o flagels microscòpics d'estructura fibril·lar complexa.
Paret cel·lular	Prima i de peptidoglicà.	De cel·lulosa(algues) o de quitina(fongs); no en tenen(protozous).

Encara que els procariotes no posseeixen estructures tan complexes com les cèl·lules eucariotes, compten amb elements obligatoris per la seva constitució (Figura 3).

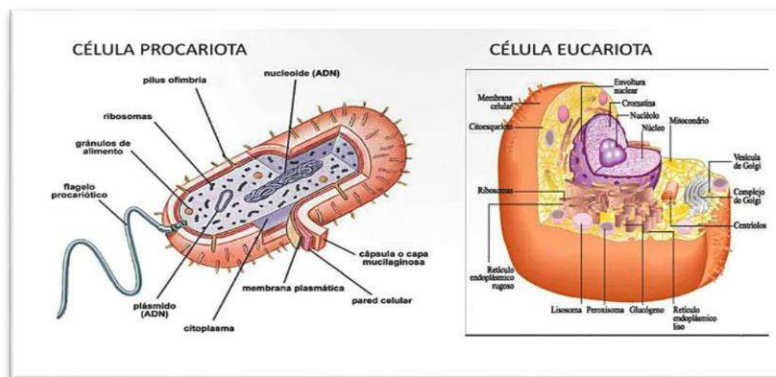


Figura 3. Estructura de les cèl·lules procariota i eucariota.

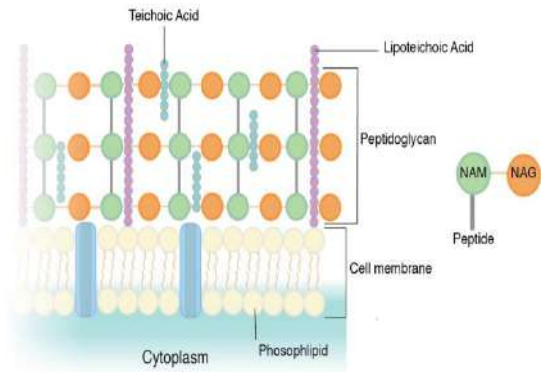
L'estructura de les cèl·lules procariotes consta de dues parts: estructura externa i estructura interna.

Estructura externa, la qual consta de:

- **Paret cel·lular:** és una estructura rígida que dona forma als bacteris a excepció del gènere *Mycoplasma* i algunes arquees com a *Thermoplasma sp.* Les funcions principals de la paret cel·lular són: protegir el bacteri front a canvis externs, permetre el pas selectiu d'algunes substàncies i proporcionar a bacteri

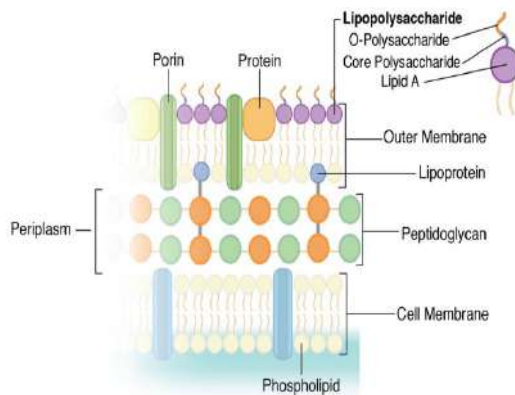
resistència als antibiòtics. Segons la composició de la paret dels bacteris, es classifica en funció del seu comportament front a la tinció de Gram en: grampositius i gramnegatius.

- **La paret cel·lular dels grampositius (Gram +)** que es mostra en la Figura 4, està composta per polisacàrids, proteïnes mureïna i àcids teïcoics. Però està composta principalment per peptidoglicà que representa el 50% del pes sec d'alguns bacteris. El peptidoglicà també anomenat mureïna, està composta per cadenes d'àcid N-acetil muràmic (NAM) i àcid N-acetil glucosamina (NAG) que estan units mitjançant punts peptídics.



Gram Positive Bacteria Cell Wall

Figura 4. Paret de bacteris grampositius.



Gram Negative Bacteria Cell Wall

Figura 5. Paret de bacteris Gramnegatius.

- **La paret cel·lular dels gramnegatius (Gram-)** a diferència de les Gram + , el peptidoglicà està present en poca quantitat, i no tenen àcids teïcoics. És una estructura biestratificada; és a dir està composta per dues capes com es mostra en la Figura 5. Una prima capa de mureïna i una membrana externa amb lipopolisacàrids, i proteïnes.

- **Membrana cel·lular:** capa que delimita el citoplasma i permet l'entrada i la sortida d'algunes substàncies gràcies a la permeabilitat selectiva. Està constituïda per fosfolípids i proteïnes i també tenen glicolípid. En alguns bacteris es troben pigments i enzims implicats en la fotosíntesi.

- **Mesosoma:** son plegaments de la membrana plasmàtica. Dirigeixen la duplicació de l'ADN bacterià i subjecten el material genètic bacterià. No existeix en les cèl·lules eucariotes.
- **Càpsula:** és una capa rígida que envolta la paret cel·lular d'alguns bacteris. Està constituïda per polímers glúcids y polipèptids. La càpsula s'encarrega de regular l'intercanvi d'aigua, ions i nutrients, i li serveix de defensa front a anticossos, i cèl·lules fagocítiques.
- **Flagels:** Són prolongacions proteiques que participen en la locomoció i la mobilitat de la bactèria. Existeixen diferents tipus de bacteris segons els seus flagels.
 - a) Monòtrica: té un sol flagel a l'extrem del bacteri.
 - b) Lofòtriques: tenen dos o més flagels en un extrem de la cèl·lula.
 - c) Amfítrics: tenen dos grups de flagels, un grup a cada extrem del bacteri.
 - d) Perítrics: tenen flagels distribuïts en tota la cèl·lula.
- **Fímbríes o pèls:** són elements tubulars rígids constituïts per proteïnes. Les fímbríes es troben en els bacteris Gram + i Gram-, encara que és més freqüent trobar-les en les Gram- que en les Gram +. Tenen capacitat de fixació a superfícies, i també serveixen com un sistema d'intercanvi d'informació genètica per conjugació.

Estructura interna, que consta de:

- **Nucleoide:** zona on es troba de manera concentrada el material genètic dels bacteris. Aquest ADN és bicatenari circular i conte la informació genètica necessària per portar a terme les funcions del microorganisme. Perquè aquestes funcions es duen a terme es necessiten proteïnes, enzims (que són catalitzadors biològics) i ARN. Tots aquests elements es troben dins el nucleoide.
- **Citoplasma:** és tot allò que es troba limitat per la membrana plasmàtica. Està compost per aigua, enzims, ions i substàncies dissoltes. En el citoplasma, hi ha:

- I. **Inclusions:** no tenen una estructura uniforme. S'utilitzen com a dipòsit de reserva, i intervenen en funcions de regulacions de la cèl·lula. Existeixen dos tipus: Grànuls de reserva i vacuoles (Figura 6).

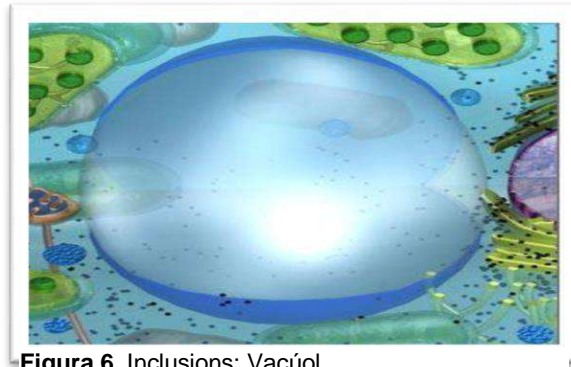


Figura 6. Inclusions: Vacúol.

- II. **Ribosomes:** són partícules globulars que es troben en gran nombre lliures en el citoplasma bacterià o formant llargues cadenes anomenades poliribosomes (Figura 7). La composició dels ribosomes és RNA i proteïnes. Igual que en les cèl·lules eucariotes, els ribosomes bacterians fan la síntesi de proteïnes.

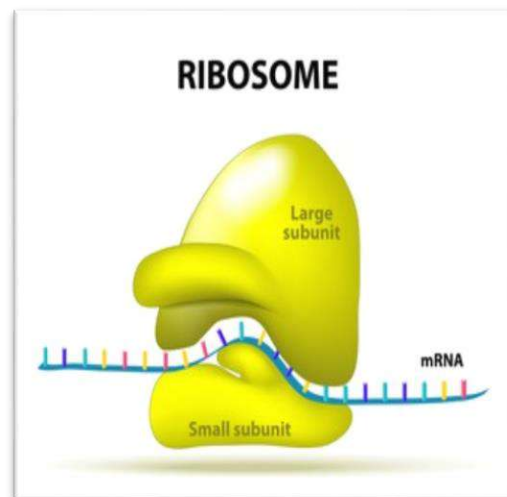


Figura 7. Ribosoma.

- III. **Plasmidi:** és una petita molècula d'ADN circular que sovint es troba en bacteris i altres cèl·lules. Els plasmidis són separats del cromosoma bacterià i es repliquen independentment del mateix. En general, tenen només un nombre petit de gens, alguns d'ells associats amb resistència als antibiòtics. Els plasmidis es poden transmetre entre les diferents cèl·lules bacterianes (Figura 8)^[3].

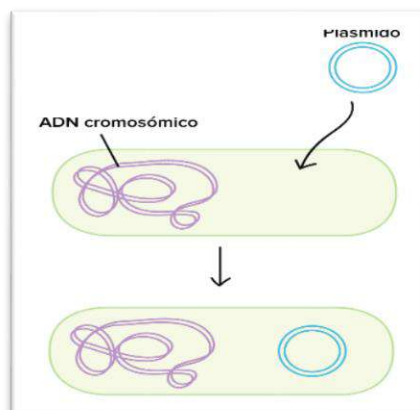


Figura 8. Plasmidi.

4.1.1.2 Reproducció

La reproducció dels bacteris és asexual, el que li permet reproduir-se més ràpid, ja que es requereix d'un sol individu per crear dues cèl·lules filles exactament iguals a les del seu progenitor (fissió binària o bipartició).

Mitjançant el procés de fissió binària^[4] els cromosomes es copien a si mateixos, i formen dues còpies genèticament idèntiques. Una vegada que es completa el procés de copiat la cèl·lula augmenta de mida i es divideix en dos donant com a resultat dues cèl·lules filles idèntiques genèticament. En condicions normals, un bacteri pot reproduir-se cada una hora i mitja, aproximadament.

El procés es mostra en la Figura 9, i consisteix en els següent passos:

1. Bacteri abans de la fissió binària amb ADN empaquetat.
2. L'ADN és duplicat
3. L'ADN va cap als pols del bacteri mentre aquesta augmenta de mida preparant-se per la divisió.
4. Una nova paret cel·lular comença a créixer.
5. La nova paret cel·lular s'ha desenvolupat.
6. Es dona lloc a les dues cèl·lules filles genèticament idèntiques a la inicial.

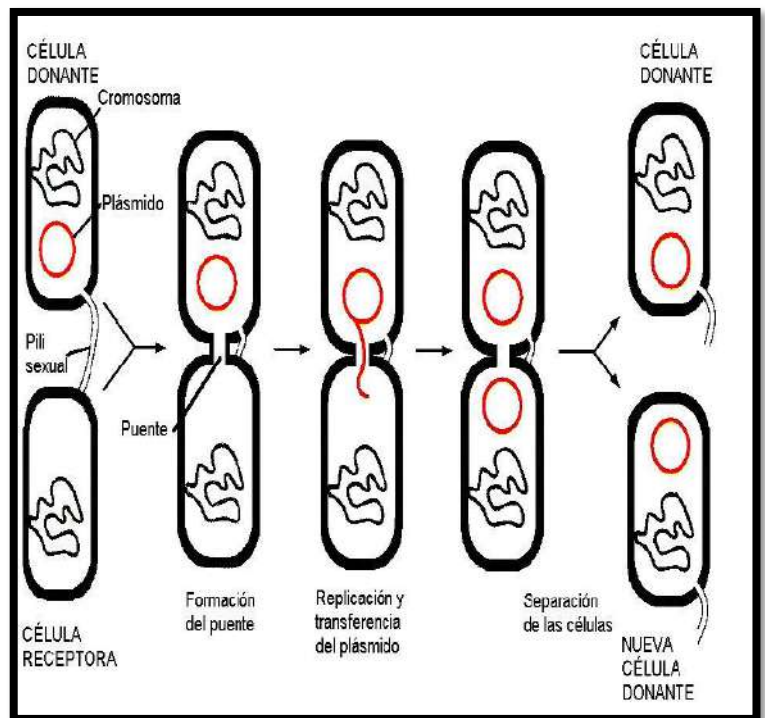


Figura 9. Fissió binària.

Encara que se sap que el procés de fissió binària dona com a resultat dos cèl·lules genèticament iguals, els bacteris tenen mecanismes para-sexuals, que els permeten l'intercanvi d'informació genètica amb altres bacteris. Els mecanismes para-sexuals^[5] són:

L'acció antimicrobiana dels col·lutoris

-Transducció. En la Figura 10 es mostra de forma detallada la transducció; que consisteix en la introducció de gens al cromosoma bacterià per mitja d'un virus bacteriòfag, que conte material genètic del bacteri que ha infectat prèviament.

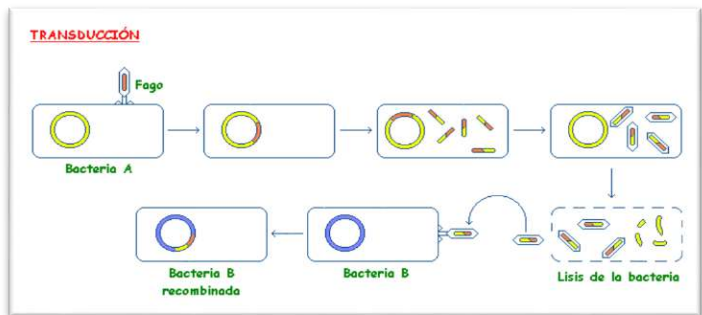


Figura 10. Procés de transducció.

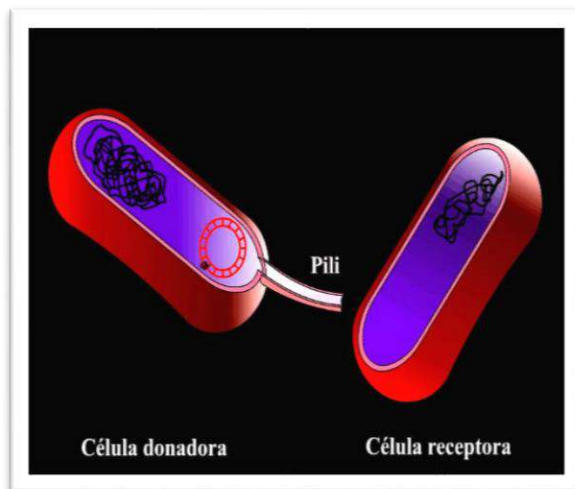


Figura 11. Procés de conjugació

nous metabòlits.

-Conjugació. consisteix en 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 11). Generalment durant aquest procés la informació genètica transferida beneficia el receptor, alguns dels beneficis són: resistència antibiòtica, tolerància xenobiòtics o la capacitat d'utilitzar

-Transformació. es un procés pel qual un bacteri introdueix al seu interior fragments d'ADN, que apareixen lliures en el medi procedents de la lisi d'altres bacteris (Figura 12). Generalment, el material genètic inserit és conegut com a plasmidi (ADN circular), però poden inserir altres formes de material genètic, com a ADN o RNA.

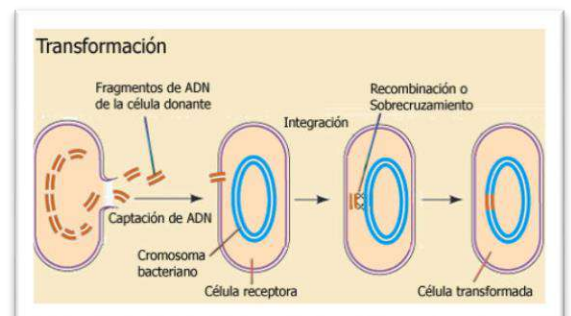


Figura 12. Procés de Transformació.

4.1.1.3 Nutrició

Els bacteris poden dur a terme tots el tipus de metabolisme que hi ha, però necessiten nutrients. Entre els nutrients bàsics que es troben en els microorganismes hi ha uns pocs elements químics: carboni, oxigen, hidrogen, nitrogen, sofre, fòsfor, potassi, calci, magnesi i ferro, els quals constitueixen el 95% del seu pes. Aquests elements químics reben el nom de macronutrients.

Els bacteris necessiten obtenir energia i substàncies per a la síntesi del seu cos. És per això, que segons la font d'obtenció d'energia es classifiquen en: Fotòtrofs i Quimiòtrofs.

La capacitat que tenen alguns bacteris per a la síntesi del seu cos es classifiquen en dos grups: autòtrofs i heteròtrofs^[6].

Taula 2. Principals tipus nutricionals de microorganismes.

Tipus d'organismes segons el seu metabolisme	Origen de l'energia	Origen del carboni	Exemples
Fotolitòtrofs	Llum	CO ₂	Cianobacteris, bacteris porprats del sofre i bacteris verds del sofre (Figura 13)
Fotoorganòtrofs	Llum	Orgànic	Bacteris porprats no sulfuris, bacteris vermells(Figura 14)
Quimiolitòtrofs	Reaccions químiques	CO ₂	Bacteris nitrificants i bacteris incolors del sofre
Quimioorganòtrofs	Reaccions químiques	Orgànic	Molts bacteris, <i>Escherichia coli</i> (Figura 15)

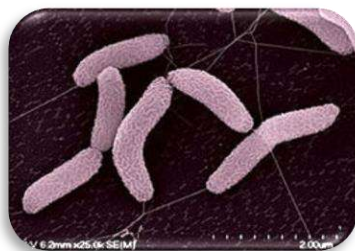


Figura 13. Bacteris del sofre.

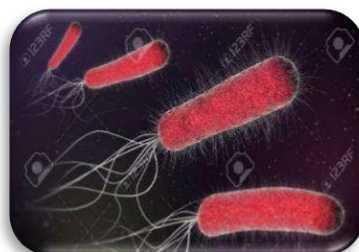


Figura 14. Bacteris vermells.



Figura 15. Bacteris *Escherichia coli*.

4.1.1.4. Classificació dels bacteris segons la necessitat d'oxigen

Els bacteris depenent de les condicions d'oxigen es poden classificar en els següents tipus:

Bacteris anaeròbics

La paraula anaerobi significa "sense oxigen". Partint d'aquesta definició sabem que els bacteris anaeròbics són microorganismes capaços de multiplicar-se en ambients que no tenen oxigen. Però la sensibilitat davant de l'oxigen pot variar depenent de l'espècie. Els bacteris anaerobis estan present en tot el cos humà, però es troben en major quantitat en la flora de les membranes mucoses sobretot a la boca, vagina i el tracte gastrointestinal inferior^[7].

Bacteris aeròbics

Els bacteris aeròbics a diferència dels anaeròbics, sí necessiten oxigen per viure i multiplicar-se. Hi ha microorganismes que necessiten una major quantitat d'oxigen que d'altres, però això varia segons la seva espècie^[8], podent parlar de:

1. **Anaerobis facultatius:** poden emprar oxigen però també tenen la capacitat de produir energia per mitjans anaeròbics.
2. **Microaeròfils:** emprenen oxigen però en quantitats molt baixes.
3. **Aerotolerants:** poden sobreviure en presència d'oxigen, però no ho fan servir, ja que són anaeròbics.

4.1.1.5. Bacteris grampositius i gramnegatius

Els bacteris també es poden classificar en grampositius i gramnegatius, pel color que adquireixen després d'aplicar-los un procés químic anomenat tinció de Gram.


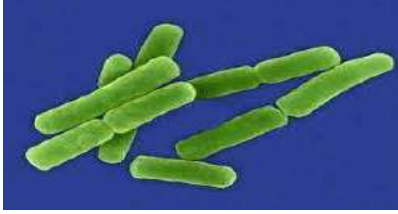


Bacteris gramnegatius: són un conjunt de bacteris que adquireixen una coloració rosada, després de realitzar la tinció.

Bacteris grampositius: aquest conjunt de bacteris a l'igual que les gramnegatius, es tenyeixen, però adquireixen un color morat. Els bacteris gramnegatius i grampositius es tenyeixen de diferent color a causa de que les seves parets cel·lulars són distintes. Els bacteris grampositius tenen una capa gruixuda de peptidoglicà i no tenen una membrana lipídica externa, mentre que els bacteris gramnegatius tenen una capa prima de peptidoglicà i tenen una membrana lipídica externa ^[9].

4.1.1.6. Morfologia

Quan es parla de morfologia en microbiologia es fa referència a la forma de les cèl·lules. En els bacteris es poden distingir les següents formes (Taula 3).

Taula 3. Morfologia de les microorganismes.

Tipus i forma	Exemples
Coc: estructura esfèrica	 <p data-bbox="815 703 1214 824">Figura 16. Exemple de cocs.</p>
Bacil: forma allargada	 <p data-bbox="815 1055 1214 1178">Figura 17. Exemple de bacils.</p>
Espiril: estructura helicoïdal	 <p data-bbox="815 1402 1161 1525">Figura 18. Exemple d'espiril.</p>
Vibrió: forma de coma	 <p data-bbox="815 1727 1166 1852">Figura 19. Exemple de vibrió.</p>

4.1.1.7. Microorganismes que es troben en la boca

Els bacteris i altres microorganismes que es troben a la boca se'ls coneix com a microbiota oral^[10]. La qual no és fixa ja que constantment canvia a causa de totes les accions que realitzem amb la boca com besar, menjar, badallar o rentar-nos les dents.

La composició i concentració dels bacteris de la boca depèn de diversos factors com la temperatura, la concentració d'oxigen, dels nutrients, de les característiques anatòmiques i de l'exposició a factors immunològics.

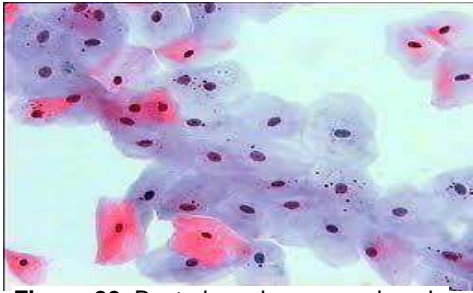
A continuació es detallen els microorganismes que podem trobar de manera específica a la mucosa bucal, la llengua i a les genives:

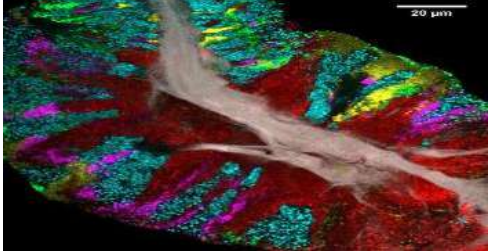

Mucosa bucal: en aquesta àrea predominen els bacteris *Firmicutes*, com els *Streptococcus* i *Veillonellas*; i proteobacteris com la *Neisseria*.

Llengua: Els bacteris que es troben en la llengua són cocs grampositius que representen el 45% dels bacteris de la llengua principalment els *Streptococcus Salivarius*, seguit pels *streptococcus Mitis*, *Milleri* i *Mucilaginoses*. També es poden trobar cocs gramnegatius anaeròbics.

Genives: Quan la boca té malalties es troben bacteris com els *Streptococcus*, *Granulicatella* i *Gemella*. Però cal tenir en compte que els bacteris sempre estan present a la boca, i quan aquesta no te cap malaltia es poden trobar *proteobacteris* de gènere *Acinetobacter*, *Haemophilus* i *Moraxella*. Com s'esmenta al principi hi ha diversos factors que poden alterar la concentració de bacteris i les malalties bucal no són l'excepció.

Taula 4. Microorganismes en la cavitat bucal.

Àrea de la boca	Bacteris freqüents	Exemple
Mucosa bucal	- <i>Firmicutes</i> . <i>Streptococcus</i> i <i>Veillonellas</i> - <i>Neisseria</i> - <i>Prevotella</i> - <i>Micrococcineae</i> .	 Figura 20. Bacteris en la mucosa bucal

<p>Llengua</p>	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Streptococcus salivarius</i> -<i>Streptococcus mitis</i> - <i>Estreptococs de el grup milleri</i> -<i>Streptococcus mucilaginosus.</i> -<i>Lactobacillus</i> -<i>Neisseria</i> -<i>Fusobacterium</i> -<i>Haemophilus.</i> -<i>Fusobacterium nucleatum</i> -<i>Porphyromonas gingivalis</i> -<i>Tannerella Forsythia.</i> 	 <p>Figura 21. Bacteris de la llengua</p>
<p>Genives</p>	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Gammaproteobacteria:</i> <i>Acinetobacter,</i> <i>Haemophilus</i> <i>Moraxella</i> <i>Streptococcus</i> -<i>Granulicatella</i> -<i>Gemella.</i> 	 <p>Figura 22. Bacteris de les genives.</p>

La cavitat bucal forma un complex ecosistema compost per més de 500 espècies bacterianes^[11]. Globalment, els gèneres *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* i *Actinomyces* representen més de l'80% de tota la flora cultivable^[12]. En l'etiologia de les malalties periodontals cal destacar per la seva freqüència i la importància de les seves complicacions, una sèrie d'espècies com són: *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermèdia* i *Tannerella forsythensis*. Els bacils gramnegatius són rars en adults sans, són més freqüents en pacients amb malalties greus, hospitalitzats i ancians^[13].

4.2. *Medis de Cultius*

Els medis de cultiu bacterians són dissolucions aquoses que tenen sals minerals i nutrients orgànics (monosacàrids, àcids grassos, aminoàcids, àcids orgànics i bases nitrogenades, entre d'altres) que satisfan els requeriments d'elements químics que necessiten els bacteris per desenvolupar el metabolisme, créixer i reproduir-se^[14]. Aquest cultius es preparen en medi líquid en tubs d'assaig, als quals s'afegeix la mostra de bacteri que es vol cultivar. També s'utilitzen medis de cultiu en estat de gel, semisòlid, que s'obtenen quan s'afegeixen al medi de cultiu líquid una substància gelificant com ara l'agar-agar. Si els bacteris es cultiven en plaques de petri amb medis nutritius incubats a una temperatura entre 25° C i 37°C, es poden obtenir diferents colònies. Una colònia és pot definir com una agrupació de bacteris formada sobre un medi; encara que varia de mida, generalment és visible a simple vista. Aquesta pot ser un únic microorganisme o bé un grup de microorganismes d'una mateixa espècie.

Taula 5. Tipus de medis de cultiu.

Estad Físic	Composició Química	Tipus funcional
Líquid	Definit (sintètic)	General (de manteniment)
Semi sòlid	Complex	Enriquits
Sòlid		Selectiu
		Diferencials

Els medis de cultiu segons el seu ús o utilització es poden classificar en:

- **Medis per aïllament:** s'utilitzen per a l'obtenció de colònies aïllades. Segons la seva composició es divideixen en: enriquits, selectius i diferencials.

A) **Medis enriquits:** Són medis de cultiu que a més de tenir els components bàsics se'ls agrega altres tipus de nutrients com: caseïna soja, triptòfan, sèrum, sang, etc., El que ajuda a el creixement de cert tipus de microorganismes que generalment necessiten altres substàncies per créixer (Figura 23).



Figura 23. Medi enriquit.

B) **Medis selectius:** s'utilitzen per al creixement d'un sol tipus de bacteris per mitjà de components que impedeixin el creixement d'altres microorganismes (Figura 24).

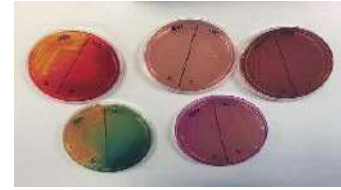


Figura 24. Medi selectiu.

C) **Medis diferencials:** permeten identificar el creixement de bacteris per mitjà d'un component que permet o no el creixement d'aquests bacteris. Aquests tipus de medis, tenen les mateixes propietats que els selectius (Figura 25).



Figura 25. Medi diferenciat.

- **Medis per creixement en general:** són medis sòlids o líquids que serveixen per al cultiu de la majoria dels bacteris. La seva composició correspon a una font de carboni, nitrògens, sals i aigua.
- **Medis d'identificació:** s'utilitza per comprovar alguna qualitat específica que pot servir-nos per reconèixer la identitat d'un microorganisme; utilitzant o no substàncies específiques.
- **Medis de manteniment de soques:** s'utilitzen per mantenir vives les soques per un període de temps, i que generalment es mantenen a temperatures baixes per impedir el creixement de les soques bacterianes.

4.3. *Antimicrobians o Antibiótics*

Són substàncies químiques produïdes per certs microorganismes que tenen la capacitat d'impedir o dificultar la vida d'altres. De vegades, se sol pensar que els antimicrobians i els antibacterians són el mateix, però no és així. Els antimicrobians s'utilitzen contra els bacteris, fongs, floridura i virus; en canvi els antibiòtics, només es fan servir contra els bacteris i també contra alguns fongs i protozous^[15].

Diferència entre un antibiòtic amb efecte bacteriostàtic i bactericida

Per poder diferenciar entre un agent bactericida i un agent bacteriostàtic; primer hem de conèixer cada un dels termes.

Bacteriostàtic

1. El prefix "*Bacter*", que fa referència a la paraula bacteri.
2. La terminació "*stàtic*" prové del terme grec "*stasis*" que significa detenció, o la característica de no poder canviar de posició.

Els agents bacteriostàtics, tenen com a funció aturar el metabolisme dels bacteris, és a dir, impedeix el creixement i la reproducció dels bacteris, però sense provocar la seva mort.

Bactericida

1. El prefix "*Bacter*" que, de nou, fa referència a la paraula bacteri.
2. La terminació "da" prové del llatí clàssic, concretament del verb "*caedo*" que significa matar.

Els agents bactericides són substàncies que produeixen la mort dels bacteris, inhibint els enzims que són un element important de la cèl·lula.

Coneixent els dos termes podem concloure que: un bacteriostàtic no mata els bacteris, però si atura el seu creixement. A diferència de l'anterior, un bactericida provoca la mort dels bacteris de manera irreversible.

4.3.1. Tipus d'antimicrobians

Existeixen diferents tipus d'antimicrobians segons la seva funció, com els desinfectants els antisèptics i els antimicrobians d'ús clinicoterapèutic.

1. Desinfectants: Són substàncies utilitzades en sistemes inanimats, la seva funció principal és eliminar la viabilitat microbiana^[11]. L'exemple de desinfectant es mostra en la Figura 26.



Figura 26. Desinfectant.



Figura 27. Antisèptic.

2. Antisèptics: aquestes substàncies s'utilitzen per a la reducció i control de microorganismes que tenen potencial per ser patògens (Figura 27).

3. Antimicrobians d'ús clinicoterapèutic: són substàncies que són capaces de reduir o controlar microorganismes que han envaït els teixits d'un individu (Figura 28).



Figura 28. Antimicrobià.

4.4 Tipus d'antibiòtics segons el seu mecanisme d'acció

Els antibiòtics presenten diferents mecanismes d'acció que es resumeixen a la Figura 29.

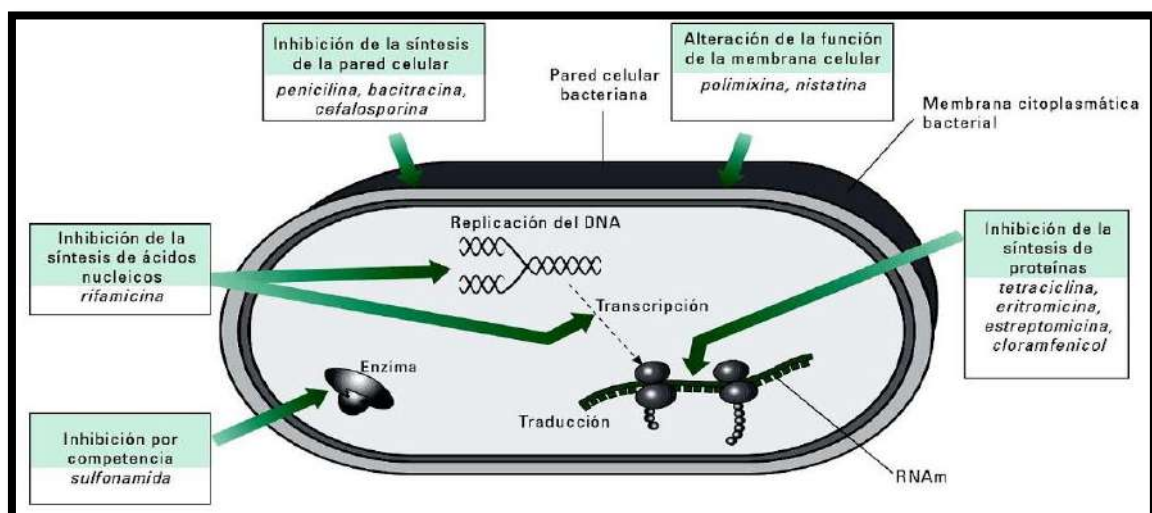


Figura 29. Mecanismes d'acció d'antibiòtics.

Inhibició de la síntesi de proteïnes

Els antibiòtics que inhibeixen la síntesi de proteïnes actuen amb el ribosoma i alteren la traducció. Les interaccions que es donen en aquest procés implica la unió a l'rRNA. Per exemple: l'estreptomicina és un tipus d'antibiòtic que actua a nivell de ribosoma inhibint la síntesi proteica de manera que impedeix que es formi el complex de iniciació de la mateixa^[16].

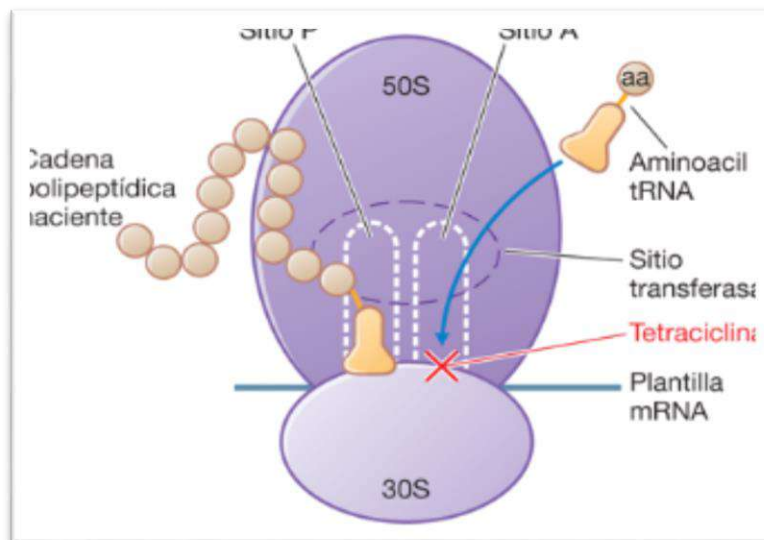


Figura 30. Inhibició de la síntesi de proteïnes.

Inhibició de la síntesi de metabòlits essencials

En el procés de la síntesi de la proteïna intervenen diferents tipus d'enzims i de substrat, i també l'ADN motlle que integren dianes per l'acció de antibiòtics.

Algunes dels antibiòtics que estan dins d'aquest grup són les rifamicines i les quinolines, que procedeixen d'enzims que intervenen en els processos de transcripció i replicació, i els nitroimidazoles i nitrofurans danyen directament a l'ADN^[17].

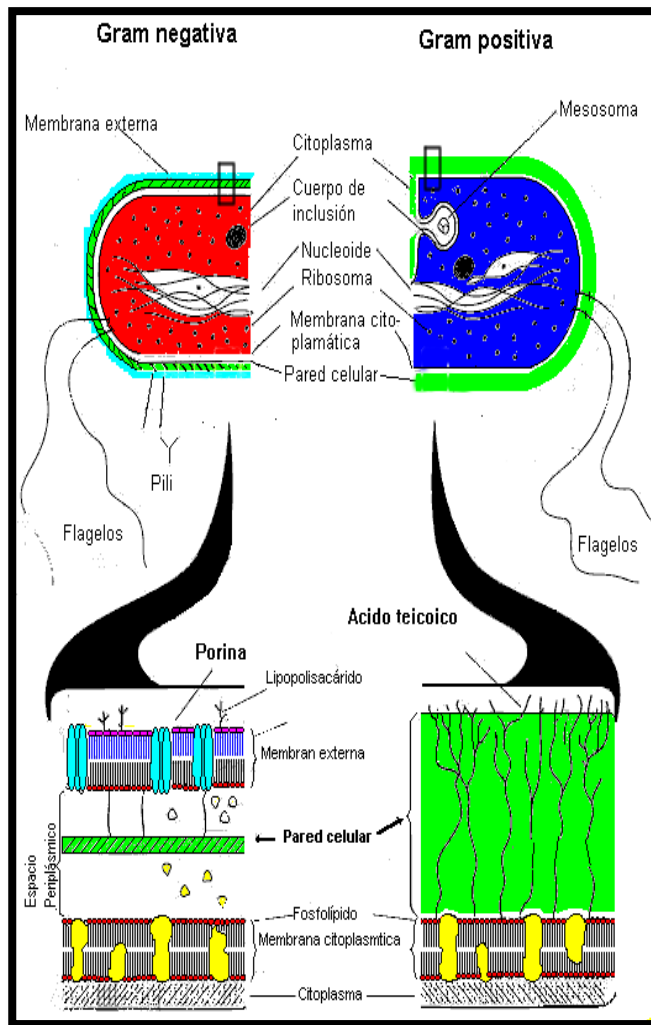


Figura 31. Inhibició de la paret cel·lular.

Inhibició de la síntesi de la paret cel·lular

Els bacteris posseeixen una paret cel·lular semipermeable que és l'encarregada de relacionar la cèl·lula amb el medi (Figura 31). Aquesta paret està composta per una xarxa macromolecular que es denomina peptidoglicà. Els antibiòtics impedeixen la síntesi del peptidoglicà donant com a resultat a una paret cel·lular dèbil i, per tant la cèl·lula queda totalment afeblida, així és com funcionen molts dels fàrmacs que s'utilitzen actualment. Un exemple clar d'això és la penicil·lina, un antibiòtic que ataca la paret cel·lular.^[18]

ataca la paret cel·lular.^[18]

Alteració de la membrana plasmàtica

La membrana plasmàtica té moltes funcions importants en les cèl·lules que permet la vida d'aquesta. Una de les funcions de la membrana plasmàtica és que funciona com a barrera de permeabilitat selectiva, controlant d'aquesta manera la composició del medi intern cel·lular, els antibiòtics provoquen canvis en la permeabilitat de la membrana plasmàtica que està relacionada amb la pèrdua del metabòlits que són importants per la cèl·lula microbiana.

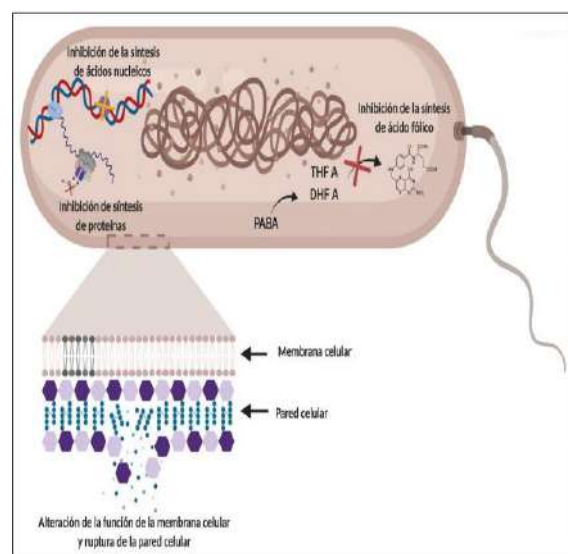


Figura 32. Inhibició de la membrana plasmàtica.

4.5. Col·lutoris

Un col·lutori és un líquid d'esbandida bucal, que s'utilitza per a la desinfecció de dents i genives i per tractar malalties com l'estomatitis gingivitis i piorrea estomatitis.

Segons la Societat Espanyola de Periodòncia (SEPA) «una esbandida bucal és un vehicle de transport d'un determinat producte que pot produir sensació de frescor a la boca, treure taques, reforçar l'esmalt, controlar la placa, reduir la sensibilitat dental o eliminar les bacteris presents a la boca responsables de les malalties periodontals, càries i mal alè.

4.5.1. Tipus de col·lutoris amb objectiu terapèutic

- **«Fluorats.** Pretenen la reducció de càries i de la sensibilitat dental. Els més comuns són els de fluorur sòdic a l'0,05% per a ús diari al 0,2% per a ús setmanal. També hi ha, entre d'altres, de monofluorofosfat de sodi, fluorur d'estany, fluorur d'Amina ^[19].



Figura 33. Fluorats.



Figura 34. Col·lutori dessensibilitzant.

- **Amb agents dessensibilitzats dentals.** Poden actuar dins el túbul dentinari, modificant la transmissió neural, o sobre la superfície dental, ocloent l'entrada al túbul. Els més freqüentment usats tenen nitrat potàssic, clorur d'estronci, oxalats i fluor.

- **Amb agents antiplaca i antigingivitis.** Pretenen reduir la placa o biofilm dental que es troba sobre les dents i reduir la inflamació de les genives. El compost fins avui més efectiu és la clorhexidina, al 0,12%, encara que a aquesta concentració no es recomana el seu ús a llarg termini per la seva capacitat de tinció dental, provocant canvis en els gustos (reversibles).



Figura 35. Antiinflamatori.



Figura 36. Col·lutori contra el mal alè.

- **Amb acció contra el mal alè.** En general sorgeix com a conseqüència de l'activitat de certs bacteris capaços de crear compostos volàtils sulfurats. Solen contenir clorhexidina, clorur de cetilpiridini, lactat de zinc.

4.6. Infeccions bacterianes de la cavitat bucal

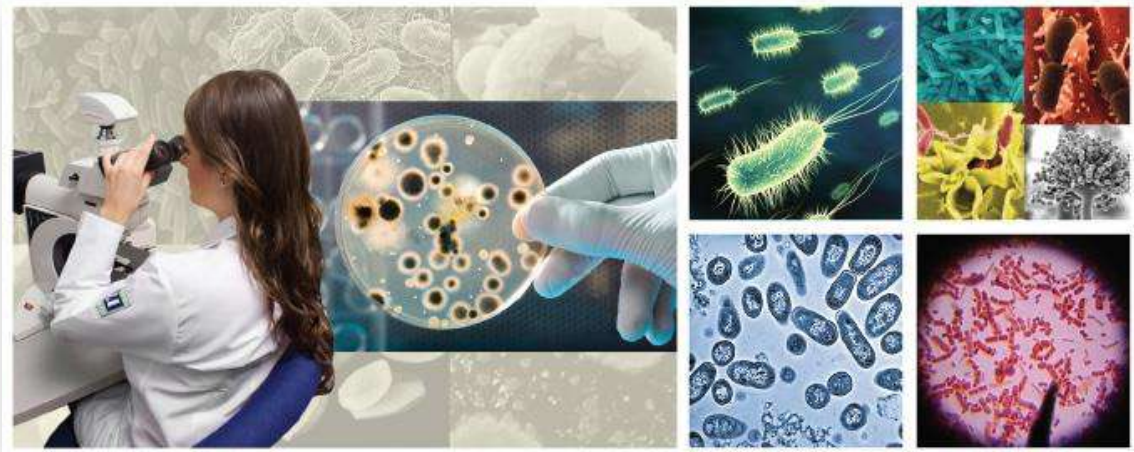
Els microbis infecciosos que es propaguen a través de la saliva ho fan adherint-se a la superfície interna de les galtes, la llengua o les dents. El bacteri de l'estreptococ pot causar una gran varietat d'infeccions bucals, com la malaltia de les genives^[20]. A continuació, s'esmenta algunes de les malalties de la cavitat bucal més comunes i els microorganismes que les produeixen.

Taula 6. Infeccions bacterianes de la cavitat bucal.

Procés infecciós	Bacteris predominants
Càries	- <i>Streptococcus mutans</i> - <i>Actinomyces spp</i> - <i>Lactobacillus spp</i>
Gingivitis	- <i>Campylobacter rectus</i> - <i>Actinomyces spp</i> - <i>Prevotella intermèdia</i> - <i>Streptococcus anginosus</i>
Periodontitis	- <i>Porphyromonas gingivalis</i> - <i>Bacteroides forsythus</i> - <i>Actinobacillus actinomycentemcomitans</i> - <i>Prevotella intermèdia</i> - <i>Fusobacterium nucleatum</i>
Abscés perí apical	- <i>Peptostreptococcus micros</i> - <i>Prevotella oralis</i> - <i>Prevotella melaninogenica</i> - <i>Streptococcus anginosus</i> - <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Pericoronitis	- <i>Peptostreptococcus micros</i> - <i>Porphyromonas gingivalis</i> - <i>Fusobacterium spp</i>
Periimplantitis	- <i>Peptostreptococcus micros</i>

L'acció antimicrobiana dels col·lutoris

	<ul style="list-style-type: none">-<i>Fusobacterium nucleatum</i>-<i>Prevotella intermèdia</i><i>Pseudomonas aeruginosa</i><i>Staphylococcus spp</i>
Endodontitis (pulpitis)	<ul style="list-style-type: none">-<i>Peptostreptococcus micros</i>-<i>Porphyromonas endodontalis</i>-<i>Prevotella intermèdia</i>-<i>Prevotella melaninogenica</i>-<i>Fusobacterium nucleatum</i>



5. Part experimental



5.1 Materials i mètodes

Materials

- ❖ Placa petri estèril amb agar TSA (*Trypto-casein Soy Agar*).
- ❖ Nansa de sembra.
- ❖ Suspensió líquida de microorganismes en medi LB (*Luria-Bertani*).
- ❖ Estufa de cultius.
- ❖ Fogonet d'alcohol.
- ❖ Aigua destil·lada.
- ❖ Retolador.
- ❖ Pincas.
- ❖ Tisores.
- ❖ Cinta adhesiva.
- ❖ Paper de filtre.
- ❖ Guants de làtex.
- ❖ Gradeta metàl·lica.
- ❖ Col·lutoris.



Figura 37. Materials.

Mètodes

- Se sembra la mostra de dents / llengua en placa de medi TSA.
- És deixa créixer 48 hores a 37 ° C.
- Després s'agafa una colònia i es passa a medi líquid.
- S'agafa el tub que conté el cultiu de microorganismes i s'acosta a la flama.
- Es pren 1mL amb una xeringa i es sembra una placa de petri estèril que conté medi TSA. És tapa ràpidament el tub d'assaig i la placa per evitar contaminacions.
- Se realitza la tècnica de l'antibiograma (Figura 38). Es retallen discs de paper de filtre de 0,5 cm de diàmetre aproximadament.
- Es passa per la flama durant 2 o 3 segons la punta d'unes pincas i s'impregnin els discs de paper de filtre amb els diferents productes líquids que és volen estudiar.

L'acció antimicrobiana dels col·lutoris

- Es dipositin els discs de paper mullats amb precaució sobre el medi del cultiu.
- S'incuba la placa a l'estufa de cultius a 30°C durant 48 hores.
- Passat les 48 hores s'observa si s'han format zones clares o "halos" al voltant dels llocs d'implantació dels productes, tot això sense obrir la placa.
- Durant tot el treball experimental es treballa a prop d'un fogonet d'alcohol perquè la seva calor impedeix que creixin microorganismes al seu voltant i així aquesta zona esdevé "asèptica".
- Les plaques de Petri en medi de cultiu estèril s'han d'obrir el menys possible i aixecant la tapa formant un cert angle, mai del tot per evitar contaminacions innecessàries.

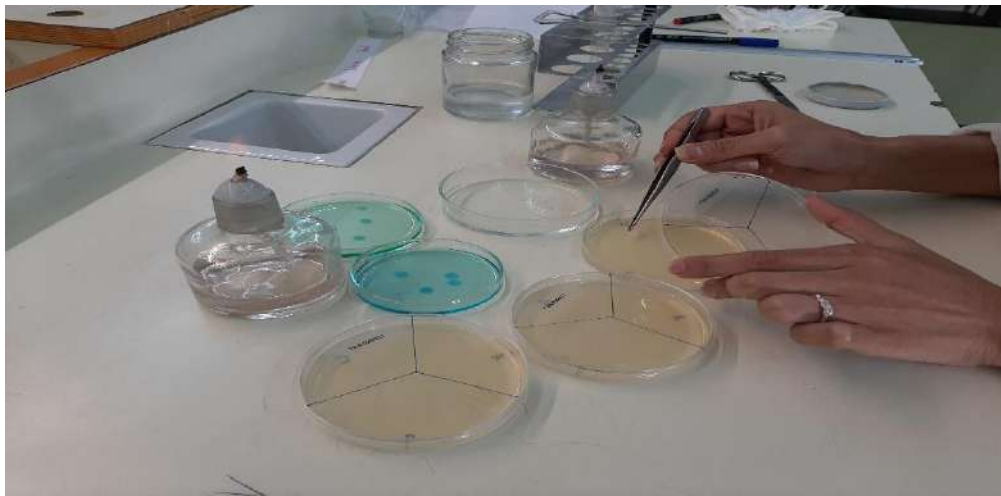


Figura 38. Procediment experimental, antibiograma.

Observació del bacteris

Tinció de Gram

Materials:

- ❖ Portaobjectes.
- ❖ Nansa de sembra.
- ❖ Lugol.
- ❖ Safranina.
- ❖ Violeta cristall.
- ❖ Alcohol absolut.
- ❖ Aigua destil·lada.
- ❖ Fogonet d'alcohol.
- ❖ Pinces de fusta.
- ❖ Microscopi òptic.

Mètode:

1. Fixació:

- Dipositar sobre un porta ben net una gota d'aigua destil·lada.
- Amb la nansa de sembra es pren la mostra de bacteris a estudi.
- Estendre aquesta mostra en la gota d'aigua sobre un portaobjectes i deixar-la assecar passant-la sobre la flama (Figura 39).

2. Tinció:

- Aplicar unes gotes de violeta cristall sobre el portaobjectes i esperar-ne 1 minut.
- Esbandir la mostra amb aigua destil·lada per eliminar l'excés de colorant.
- Afegir unes gotes de lugol i es deixa tenyir durant 1 minut.
- Rentar amb aigua destil·lada.
- Aplicar sobre la preparació unes gotes d'alcohol absolut durant uns 30 segons.
- Esbandir amb aigua destil·lada.
- Afegir unes gotes de safranina (colorant de contrast) i es deixa actuar durant 1 minut.
- Rentar amb aigua destil·lada i s'asseca amb paper de filtre.

L'acció antimicrobiana dels col·lutoris

3. Observació microscòpica:

- Col·locar sobre la preparació totalment seca una gota d'oli d'immersió.
- Enfocar amb el micromètric a 1000 augments.



Figura 39. Mètode de fixació previ a la tinció de Gram.

Anàlisi de la composició química dels col·lutoris

S'ha utilitzat la base de dades **CosIng** (*Cosmetic Ingredients*) per obtenir les funcions INCI (*International Nomenclature Cosmetic Ingredient*), les quals serveixen per conèixer l'acció dels diferents components dels productes cosmètics^[21].

5.2. Resultats i discussió

Cultiu bacterià

Com es pot observar en la Figura 40, la sembra d'un cultiu microbià de les dents va ser efectiva i es van obtenir els resultats esperats, ja que després de 24 hores els bacteris van tenir un bon desenvolupament dins del cultiu bacterià. Després d'obtenir la mostra de microorganismes en medi líquid i sembrar-la amb els diferents col·lutoris no es va observar creixement en cap de les plaques amb medi amb TSA. Això podria ser degut a que el medi líquid era en medi LB i al sembrar el cultiu de microorganismes en medi sòlid TSA els bacteris no aconsegueixen créixer.

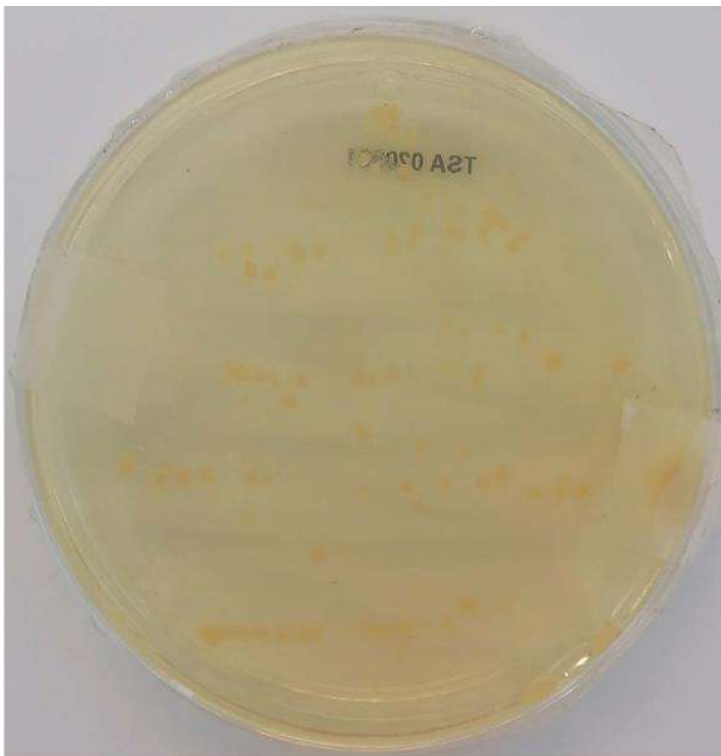


Figura 40. Cultiu de microorganismes de les dents.

Tinció de Gram

En la Figura 41 es mostra els resultats obtinguts amb la prova de la tinció de Gram , on es pot veure els bacteris grampositius les quals queden tenyides amb color blau i les gramnegatius que queden tenyides de color vermell. Per tant es confirma la presència de bacteris grampositius i gramnegatius en les dents.

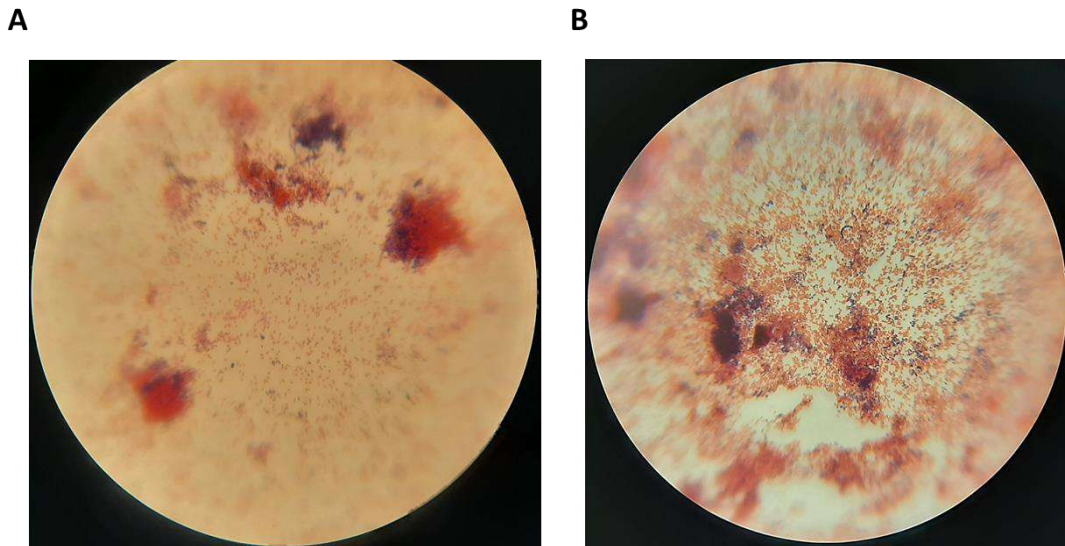


Figura 41. Tinció de Gram de la mostra de les dents. **A i B** : S'observen els bacteris grampositius i gramnegatius.

Experiment amb col·lutoris

En la Figura 42A i 42B, es mostra que al aplicar el control (aigua destil·lada) hi ha creixement bacterià al voltant del disc de paper de filtre, ja que l'aigua no té efecte antimicrobià. En canvi, al aplicar el col·lutori de marca blanca (Amalfi®) s'observa l'halo d'inhibició amb un diàmetre de 8 mil·límetres (Figura 42B), per la qual cosa es pot dir que aquest col·lutori té efecte antimicrobià. Pel que fa al col·lutori de marca comercial (Listerine®) s'observa creixement bacterià (Figura 42A) mentre que en la Figura 42B sembla que no hi ha, ja que no es pot apreciar un halo inhibitori. Això pot ser degut a un error a l'hora de sembrar la placa o bé, que sigui per falta d'acció antimicrobiana del Listerine®. Per confirmar els resultats obtinguts s'hauria de repetir l'experiment, ja que aquests no són conclouents. La qual cosa no s'ha pogut fer per falta de material.

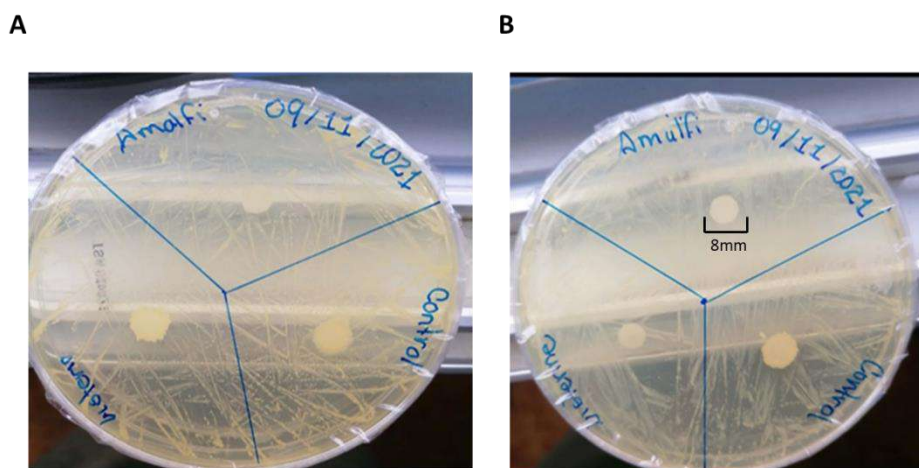


Figura 42. Cultius de microorganismes amb col·lutoris. **A i B:** rèpliques de l'experiment amb la tècnica de l'antibiograma.

Per poder analitzar els resultats obtinguts se necessita fer l'anàlisi de la composició química de cadascun dels col·lutoris (Taula 7). Al tractar-se de productes cosmètics, la composició dels diferents components dels col·lutoris ve desglossada de major a menor concentració, al contrari que en els medicaments, en els quals s'especifica la concentració del principi actiu^[21]. Abans de començar l'anàlisi, s'ha de saber que "la composició completa d'un col·lutori influeix de manera rellevant en la seva efectivitat, independentment del producte actiu"^[22].

Taula 7: Comparació dels diferents components en els col·lutoris estudiats.

Listerine®	Amalfi®
Aigua	Aigua
Alcohol	PEG 40 oli de ricí hidrogenat
Sorbitol	Levulinat de sodi
Poloxamer 407	Benzoat de sodi
Àcid benzoic	Aromes
Sacarina sòdica	Mentol
Eucaliptol	Sacarina sòdica
Metilsalicilat	Fluorur sòdic
Timol	Àcid làctic
Benzoat de sodi	Alcohol diclorobencil
Mentol	Lauril sulfat de sodi
Aromes	Digluconat de clorhexidina

La Taula 7 mostra que el col·lutori Amalfi® conté tres components amb efecte antimicrobià que són els següents: mentol, fluorur sòdic, alcohol diclorobencil i digluconat de clorhexidina. Pel que fa al fluorur sòdic, es pot dir que s'encarrega de controlar la càries dental i ajuda a protegir contra la formació de la placa dental^[23]. L'alcohol diclorobencil exerceix un efecte antimicrobià i el digluconat de clorhexidina presenta activitat antimicrobiana i a més a més, disminueix la formació de la placa

dental^[24]. A altes concentracions es comporta com a bactericida, alterant la permeabilitat de la membrana plasmàtica, mentre que a baixes concentracions és bacteriostàtic, interferint el mecanisme de transport fosfoenolpiruvat fosfotransferasa. Pel que fa al mentol, es tracta d'un oli essencial que presenta activitat antimicrobiana sent també efectiu per controlar la placa dental i la gingivitis^[25].

Per una altra part, el col·lutori Listerine[®] (Taula 7) conté com a component principal amb funció antimicrobiana l'alcohol, i després en menor concentració l'eucaliptol, el mentol, i el timol. És el col·lutori més conegut amb olis essencials que està associat amb metilsalicilat i amb alcohol^[26].

A partir d'aquest anàlisi químic, es mostra que el col·lutori de marca blanca Amalfi[®], tindrà un major efecte antimicrobià sobre el control de la placa dental. Això es degut a que conté digluconat de clorhexidina en presència d'alcohol i olis essencials, els quals potencien l'efectivitat del producte^[27]. A més a més, la composició del col·lutori s'ajusta al resultat obtingut en la Figura 42B, on s'observa l'halo d'inhibició.

Però els resultats no són concloents, ja que després d'estudiar la composició del col·lutori de marca Listerine[®], es pot afirmar que al contenir principalment alcohol associat amb olis essencials i metilsalicilat, en la tècnica d'antibiograma es tindria que observar una zona d'inhibició, la qual no s'ha obtingut. Es per això, que no es pot contestar a la hipòtesi de quin col·lutori és més efectiu, el de marca blanca o Listerine[®]. Per conèixer la seva efectivitat hauríem de repetir l'experiment amb més rèpliques però utilitzant també com a control, a més de l'aigua destil·lada, diferents concentracions d'alcohol.

Malgrat que Listerine[®] és un dels col·lutoris més coneguts, els resultats obtinguts suggereixen major acció antimicrobiana per part del col·lutori de marca blanca Amalfi.

5.3. Conclusions

Després de obtenir els resultats es pot arribar a les conclusions que permet donar respostes a les preguntes i a la hipòtesi que s'han plantejat al principi del treball.

Es comprova que, efectivament la boca conté bacteris, responent així a la primera pregunta **“Potser que la boca tingui bacteris?”**. Al realitzar el cultiu es va comprovar que la boca sí té bacteris, perquè ha hagut creixement de colònies en la placa.

La segona pregunta **“Qui classe de bacteris es trobarà en la boca?”** Es va poder respondre de dues maneres: per una banda, per la part teòrica es va poder conèixer els diferents bacteris que es van trobar en la boca (punt 4.1.1.7), i per altra banda, per la prova de tinció de Gram que es va a realitzar en el treball (punt 5.2).

La tercera pregunta **“Quines malalties de la boca son causades per bacteris?”** Es respon en la part teòrica (punt 4.6). on es va arribar a conèixer moltes de les preguntes que es plantejaven a l'inici del TR.

La quarta pregunta **“Els col·lutoris que freqüentment són utilitzats, són efectius contra la placa bacteriana?”** Es va poder respondre quan es va fer un anàlisi químic de la composició del col·lutori (Taula 7) i es va a saber que l'efectivitat dependrà de la composició completa del col·lutori.

La quinta pregunta **“Quin col·lutori és més efectiu?”** Segons els resultats obtinguts en aquest treball és més efectiu el de marca blanca Amalfi[®], encara que no són concloents, perquè amb Listerine[®] no s'observa l'halo d'inhibició, de manera que no es va poder fer la comparació dels diàmetres de les zones inhibidores, per poder confirmar quin dels col·lutoris era més efectiu (diàmetre de major longitud).

La sexta pregunta: **“La marca del col·lutori influeix en la seva efectivitat?”** Encara que els resultats no són concloents com s'ha mencionat anteriorment, sembla que sí que hi ha diferències entre els dos col·lutoris comparats, ja que l'important seria la composició completa del producte en lloc de la marca del mateix.

Per tant amb els resultats obtinguts es va poder arribar a la conclusió que el col·lutori de marca blanca Amalfi[®], presenta una major activitat antimicrobiana que el de marca comercial Listerine[®]. Però no es pot contestar a la hipòtesi inicial, en la qual es partia de que el producte de marca comercial seria més efectiu que el de marca blanca. Per la qual cosa, la **hipòtesi** **“Potser els col·lutoris de marca comercial (Listerine[®]) posseeixen major efecte antimicrobià que els de marca blanca (Amalfi[®])”** es va a rebutjar.

5.4. *valoració final*

Durant aquests 8-9 mesos de treball, m'he dedicat a treballar el TR, i encara que durant el procés vaig tenir alguns contratemps finalment he acabat la feina.

El treball es va realitzar amb molta dedicació per part meva, encara que m'hagués agradat tenir millors condicions perquè m'hagués agradat aprofundir més en la investigació, però es necessitaven més mostres i un equip de laboratori apropiat. En les proves van sorgir interrogants que la meva investigació no podia respondre, i encara tenia curiositat per certs aspectes que es presentaven en els experiments als quals no podia donar respostes. Aquest fet m'incentiva a que si en un futur es presenta l'oportunitat de realitzar el treball, l'orientaria a un estudi més específic, i tenint en compte diferents aspectes que en aquest treball no vaig considerar.

Tanmateix, aquest estudi m'ha aportat molt, tant a nivell acadèmic, científic-pràctic, i personal, ja que durant la realització del treball vaig haver de passar per moltes situacions i circumstàncies que al final van aportar moltes coses al treball.

-A l'àmbit acadèmic, m'ha aportat coneixement més profund sobre els microorganismes i especialment dels bacteris.

-En l'àmbit científic-pràctic, he après diverses tècniques de laboratori i també a utilitzar correctament algunes de les eines del laboratori. Les proves i els experiments que es van fer em van donar una visió més propera a la feina d'un laboratori.

-Personalment, he après que per realitzar pràctiques de laboratori s'ha de tenir molta paciència, ja que de vegades els resultats de les proves no donen els resultats esperats, i cal fer la prova més d'una vegada. Jo tenia coneixement sobre el treball de laboratori, però tot de manera teòrica o amb pràctiques senzilles que donaven resultats ràpids. Sempre he sabut que el treball de laboratori requereix molt de temps i paciència, però no és el mateix saber-ho que experimentar-ho i aquest treball m'ho ha demostrat.

Si tornés a realitzar un altre treball sobre els col·lutoris l'orientaria cap a una investigació més específica, ja que durant l'estudi em van sorgir algunes preguntes com per exemple **"Els col·lutoris ajuden a disminuir els riscos de malalties amb la gingivitis?"**.

Si compto amb més temps, mitjans i recursos, estudiaria el que he esmentat anteriorment i arreglaria moltes mostres de diferents persones en un rang d'edat establert. D'aquesta manera, obtindria resultats i respostes millor recolzades que les respostes obtingudes en aquest estudi.

L'acció antimicrobiana dels col·lutoris

Aquest treball ho vaig fer amb totes les ganes de poder continuar-lo ja sigui per mi o per altres que estiguin interessats en aquest tema, i si algú està interessat en seguir aquest treball espero que aquesta investigació li serveixi com a orientació.



6. *Bibliografia*



- [1] Granados R, Villaverde, Maria Carmen Peris, Microbiologia tomo II, 2a edició, Madrid, 1997. p.11. [Visitada 24/07/2021]
- [2] Granados R, Villaverde, Maria Carmen Peris, Microbiologia tomo II, 2a edició, Madrid, 1997. pàgs.12,13.[visitada 24/07/2021]
- [3] PRESCOTT et al. "Microbiología. 5ª Edición. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana. 2004.pàgs.57-64.[visitada 26/07/2021]
- [4] Raven, P. H., Johnson, G. B., Mason, K. A., Losos, J. B., y Singer, S. R. (2014). How cells divide (¿Cómo se dividen las células?). En *Biology (Biología)* (10a ed., AP ed., pàgs. 187-206). Nueva York, NY: McGraw-Hill.[26/07/2021]
- [5] Forns, N., Baños, R. C., Balsalobre, C., Juárez, A., Madrid, C. (2005) Temperature dependent conjugative transfer of R27: Role of chromosome- and plasmid encoded Hha and H-NS proteins. *J. Bacteriol.* Pàgs.187, 3950–3959.[27/07/2021]
- [6] Prescott, Harley i Klein, "Microbiologia", 7ª edicion, Mc Graw Hill Interamericana, 2009, p.101.[30/07/2021]
- [7] PRESCOTT et al. "Microbiología. 5ª Edición. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana. 2004.pàg.100.[01/08/2021]
- [8] Alves J, Peres S, Gonçalves E, Mansinho K. Bactérias Anaeróbias com Relevância Clínica: Classificação Taxonómica e Morfológica, Presença na Microbiota Humana e Diagnóstico Microbiológico [Anaerobic Bacteria with Clinical Relevance: Morphologic and Taxonomic Classification, Distribution among Human Microbiota and Microbiologic Diagnosis]. *Acta Med Port.* 2017 May 31;30(5):409-417. Portuguese. doi: 10.20344/amp.8098. Epub 2017 May 31. PMID: 28865506.[visitada 05/08/2021]
- [9] MADIGAN et al. "Brock: Biología de los microorganismos." 10ª Edición. Editorial Pearson/Prentice Hall. 2004.[visitado 05/08/2021]
- [10] Madigan M.T, Martinko J.M., Dunlap P.V. and Clark D.P., Brock Biología de los microorganismos, 12a edició, UK, Pearson Education, 2009. P. 893-894.[visitada 07/08/2021]
- [11] Vall Rodríguez JL, Gómez-LusCentelles ML, Prieto Prieto J, Liébana Ureña J. Composició i ecologia de la microbiota oral. En: Liébana Ureña J. eds. Microbiologia oral. Madrid: Interamericana McGraw-Hill; 1995. p. 402-7.[visitada 07/08/2021]

[12] Chow AW. Infections of the oral cavity, neck, and head. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 689-701. .[visitada 07/08/2021]

[13] Valenti WM, Trudell RG, Bentley DW. Factors predisposing to oropharyngeal Colonization with gramnegative bacilli in the aged. N Engl J Med 1978; 298: 1108.[visitada 07/08/2021]

[14]] Granados.R, Villaverde M.Carmen Peris, Microbiologia tomo II, 2a edicion, Madrid, 2003.[10/08/2021]

[15] Servicio Antimicrobianos (LRR)- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas- Administración Nacional de Laboratorios e Institutos (INEI-ANLIS) “Dr. Carlos G. Malbrán” (INEI ANLIS) “Dr. Carlos G. Malbrán. Desafíos en los métodos de evaluación de la sensibilidad a las polimixinas (colistina/polimixina B). Boletín Informativo No. 30-setiembre 2017. [visitada 11/08/2021]

Link:[<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Boletin-PCC-LAT-Nro.30-Metodos-de-Evaluacion-Sensibilidad-a-POLIMIXINAS-Sep-20171.pdf>. [Google Scholar]]

[16] Madigan M.T, Martinko J.M., Dunlap P.V. and Clark D.P. Brock Biología de los microorganismos, 12a edición, UK, Pearson Education, 2009. P.883. [visitada 11/08/2021]

[17] H. Nikaido. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev, 67 (2003), pp. 593-656.[visitada 11/08/2021]

Link:[<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-mecanismos-accion-antimicrobianos-S0213005X08000177>].

[18] Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. Introducción a la Microbiología, 12a edición, -Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Médica Panamericana,2017. P. 551.[visitada 11/08/2021]

[19] Dr. Nuria Vallcorba Best Quality Dental Centers. [visitada 11/08/2021]

Link:[<https://bqdentalceneters.es/odontologia-general/colutorio/>]

[20] Prieto J, Maestre JR. Tratamiento de las infecciones de etiología mixta. En: Bascones A, Perea EJ, eds. Infecciones orofaciales. Volumen 2. Madrid: Dentisnet; 2003.[visitada 12/08/2021]

[21]Pàgina web: [\[https://farmacicalvorojo.com/significa-inci-aprende-interpretar-etiquetado-cosmeticos/\]](https://farmacicalvorojo.com/significa-inci-aprende-interpretar-etiquetado-cosmeticos/)

[22] Actividad antimicrobiana en saliva de cuatro colutorios con clorhexidina. Periodoncia 2001; 11 (Nº 3) Fasc. 5:193-202

[23] BORDONI N, ESCOBAR A, CASTILLO R. Odontología pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual. 2010. Ed. médica Panamericana.

[24] Enrile de Rojas FJ, Santos-Aleman A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. RCOE 2005;10(4):445-452

[25] López Jornet P, Henarejos Hernández JL, Saura Pérez M, Camacho Alonso F Efectos de los diferentes colutorios para el tratamiento de la halitosis oral. AVANCES EN ODONTOESTOMATOLOGÍA Vol. 19 - Núm. 6 - 2003

[26] [tfg] Pacho León Ignacio. Eficacia, seguridad y efectos adversos de los agentes químicos antiplaca. Facultad de farmàcia Universidad Complense.2015

[27] Actividad antimicrobiana en saliva de cuatro colutorios con clorhexidina. Periodoncia 2001; 11 (Nº 3) Fasc. 5:193-202

7. Annexos

Índex de les figures

Figura 1. Arbre de la vida, els tres dominis dels éssers vius.....	5
Figura 2. Estructura de la cèl·lula procariota.....	6
https://www.hidden-nature.com/dodociencia/1o-eso/biologia-y-geologia/la-biodiversidad-en-el-planeta-tierra/caracteristicas-celulas-procariotas-partes-tipos/	
Figura 3. Estructura de les cèl·lules procariota i eucariota.....	7
https://tomi.digital/en/50799/la-celula-y-sus-estructuras?utm_source=google&utm_medium=seo	
Figura 4. Paret de bacteris grampositius.....	8
https://open.oregonstate.edu/app/uploads/sites/54/2019/08/G-Bacteria-Cell-Wall-fixed-v1-1024x741.png	
Figura 5. Paret de bacteris gramnegatiu.....	8
https://open.oregonstate.edu/app/uploads/sites/54/2019/08/Gram-Negative-Bacteria-Cell-Wall-fixed-v1-1024x741.png	
Figura 6. Inclusions: Vacúol.....	10
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.thinqlink.com%2Fscene%2F574262787514040322&psig=AOvVaw3th3J6FMaYkQvyk1TLk0K7&ust=1630940188451000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsQjRxqFwoTCLi62OmL6PIbCFQAAAAAdAAAAABAD	
Figura 7. Ribosoma.....	10
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.shutterstock.com%2Fes%2Fsearch%2Fribosoma&psig=AOvVaw0TT638pFxbD4vlb-ty9Mhh&ust=1630940057652000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsQjRxqFwoTCJjilbKL6PICFQAAAAAdAAAAABAD	
Figura 8. Plasmidi.....	10

<https://cdn.kastatic.org/ka-perseus-images/746a5e1e201e4b41f1c5ae97b80ce2d9c87543dd.png>

Figura 9. Fissions binaria.....11

<https://www.blogdebiologia.com/bacterias.html>

Figura 10. Procés de transducció.....12

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.escuelapedia.com%2FLa-transduccion-bacteriana%2F&psig=AOvVaw1g02kjd2mNyhO5CYV5PSAi&ust=1630940927757000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsQjRxqFwoTCMCFic2O6PICFQAAAAAdAAAAABAc>

Figura 11. Procés de conjugació.....12

<https://www.youtube.com/watch?v=KY1ZYxx9yw8>

Figura 12. Procés de transformació.....12

<https://www.escuelapedia.com/wp-content/uploads/La-transformaci%C3%B3n-bacteriana.jpg>

Figura 13. Bacteri de sofre.....13

https://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria_reductora_de_sulfato#/media/Archivo:Desulfovibrionio_desulfuricans.jpg

Figura 14. Bacteri vermella.....13

https://es.123rf.com/photo_87594546_ilustraci%C3%B3n-3d-de-bacterias-rojas-o-microorganismos-de-c%C3%A9lulas-individuales.html

Figura 15. Bacteris *Escherichia Coli*.....13

<https://hospital.vallhebron.com/es/enfermedades/infeccion-por-escherichia-coli>

Figura 16. Exemple de Cocs15

<https://i0.wp.com/mariairanzobiotec.com/wp-content/uploads/2016/09/COCOS.jpg>

Figura 17. Exemple de Bacils.....15

<https://elsplaersdelanatura.wordpress.com/2012/06/06/regne-monera-bacteris/>

Figura 18. Exemple de Espiril.....

<https://www.ecologiaverde.com/tipos-de-bacterias-2633.html>

Figura 19. Exemple de Vibrió.....15

<https://www.istockphoto.com/es/foto/vibrio-cholerae-bacteria-gm1040469298-278540725>

Figura 20. Bacteris en la mucosa bucal16

https://www.ecured.cu/Mucosa_bucal

Figura 21. Bacteris de la llengua.....17

<https://www.xataka.com/medicina-y-salud/esta-imagen-muestra-que-tu-lengua-autentica-fiesta-bacterias>

Figura 22. Bacteris de les genives.....17

Figura 23. Mitjan Enriquit.....18

<https://www.lifeder.com/medio-de-cultivo-enriquecido/>

Figura 24. Mitjan Selectiu.....19

<https://www.lifeder.com/medios-de-cultivos-selectivos/>

Figura 25. Mitjan Diferenciat.....19

<https://microbiologiaparahumanos.wordpress.com/medios-de-cultivo/>

Figura 26. Desinfectant.....21

<https://www.proyectotesis.com/wp/portfolio-view/lejia-conejo/>

Figura 27. Antisèptic.....21

<https://cristalmina.es/>

Figura 28. Antimicrobian.....21

<https://diariodeunahigieni.wixsite.com/website/post/tretaciclina>

Figura 29. Mecanismes de acció d'antibiòtics.....21

<https://www.blogdebiologia.com/antibioticos.html>

Figura 30. Inhibició de la síntesi de proteïnes.....22

[Conan MacDougall; Henry F. Chambers, capítol 55](#)

Figura 31. Inhibició de la paret cel·lular.....	23
http://www.biologia.edu.ar/bacterias/antibioticos/antimicrobianos2.htm	
Figura 32. Inhibició de la membrana plasmàtica.....	23
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/18Modificaciones_25423.pdf	
Figura 33. Fluorats.....	24
Figura 34. Col·lutori dessensibilitzant.....	24
https://www.promofarma.com/es/desensin-repair-colutorio-500ml/p-12898?tch	
Figura 35. Antiinflamatori.....	24
https://www.lafarmacoteca.es/Higiene/bucal/Colutorios/	
Figura 36. Col·lutori contra el mal alè	24
Figura 37. Materials	28
Figura 38. Procediment experimental, antibiograma.....	29
Figura 39. Mètode de fixació previ a la tinció de Gram.....	31
Figura 40. Cultiu de microorganismes de les dents.....	32
Figura 41. Tinció de la mostra de les dents. A i B: S'observen els bacteri gram positius i gramnegatius.	33
Figura 42. Cultius de microorganismes amb col·lutoris A i B: rèpliques de l'experiment amb la tècnica de l'antibiograma.....	34

Índex de les taules.

Taula 1. Característiques de procariotes i eucariotes.....	7
Taula 2. Principals tipus nutricionals de microorganismes.....	13
Taula 3. Morfologia de les microorganismes.....	15
Taula 4. Microorganismes en la cavitat bucal.....	16
Taula 5. Tipus de mitjans de cultiu.....	18
Taula 6. Infeccions bacterianes de la cavitat bucal.....	25
Taula 7. Comparació dels diferents components en els col·lutoris estudiats.....	34

Glossari

- 1. Col·lutori:** És una solució que s'utilitza habitualment, després del raspallat per complementar la higiene bucal i així eliminar els bacteris i microorganismes causants de càries i / o mal alè.
- 2. Enzims:** Són substàncies orgàniques, gairebé sempre de natura proteica, que acceleren reaccions químiques. Els enzims interaccionen amb molècules de partida (substrats) i catalitzen la seva Transformació en Altres de diferents (productes). Intervenen amb 1 paper important en gairebé Tots els processos cel·lulars.
- 3. Fagocitosi:** procés pel qual un fagòcit (tipus de glòbul blanc) envolta i destrueix substàncies estranyes (com bacteris) i elimina les cèl·lules mortes.
- 4. Inhibir:** Suspendre transitòriament una funció o activitat de l'organisme mitjançant l'acció d'un estímul adequat.
- 5. Microbiota:** Conjunt de microorganismes que es troben generalment associats a teixits sans (pell, mucoses, etc.) de el cos humà. Els microorganismes resideixen en aquests llocs de manera més o menys permanent i en alguns casos realitzen funcions específiques.
- 6. Morfologia:** Part de la biologia que estudia la forma i les transformacions dels éssers vius.
- 7. Mycoplasma:** És un gènere de bacteris que no tenen paret cel·lular. Sense aquesta paret cel·lular, no estan afectats per molts antibiòtics com la penicil·lina o altres que tenen l'objectiu d'atacar la paret cel·lular. Els *Mycoplasmes* poden ser paràsits o sapròfits.
- 8. NIH:** Organisme federal dels Estats Units que realitza investigació biomèdica en els seus propis laboratoris, dona suport a les investigacions de científics que no formen part de Govern Federal, en universitats, escoles de medicina, hospitals i institucions de recerca d'arreu del país i l'exterior; ajuda en la capacitació dels investigadors i promou la comunicació d'informació mèdica.
- 9. Peptidoglicans:** Polímer format per aminoàcids i monosacàrids. Forma part de la paret cel·lular.
- 10. Polisacàrids:** Són carbohidrats relativament complexos. Són polímers formats per molts monosacàrids units mitjançant enllaços glicosídics. Per això són macromolècules molt grans sovint ramificades.

11. Teixit epitelial: Està format per un conjunt de cèl·lules que es superposen unes amb les altres per donar vida a les capes internes de diferents òrgans i externes d'altres estructures de el cos.

12. Terapèutic: Relatiu o pertanyent al tractament de les Malalties.

13. Thermoplasma: És un gènere d'arqueobacteris que és distingeix de la resta dels Archea per no tenir paret cel·lular.

