

# Microbis centenaris: golafres o esquifits

Escrit per

Mercè Berlanga,<sup>1</sup>  
Ricard Guerrero,<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departament de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries, UB

<sup>2</sup> Departament de Microbiologia, UB

**Celebrem enguany el Centenari de la Societat Catalana de Biologia, fundada l'any 1912 amb el nom de Societat de Biologia de Barcelona. El 1912, la jove ciència de la microbiologia havia aconseguit vèncer moltes malalties infeccioses i reduir considerablement les morts causades per les infeccions microbianes. La microbiologia, a l'inici, era una ciència que intentava donar respostes i solucions a grans problemes de la salut humana, especialment en l'àmbit clínic. Des dels descobriments pioners de Pasteur i Koch durant les últimes dècades del segle XIX, s'havien fet esforços enormes per cultivar els microorganismes causants de les principals malalties infeccioses, millorar les tècniques de diagnòstic i buscar teràpies efectives per intentar controlar aquests microorganismes patògens.**



Dibuix M. Berlanga

**A** la darrerria del segle XIX, a Barcelona es van fer grans esforços en la lluita contra les malalties infeccioses, els quals van donar uns resultats excel·lents. Tant el Laboratori Microbiològic Municipal de Barcelona (creat el 1887), com els primers anys de la revista *Treballs de la Societat de Biologia* (iniciada el 1913), són testimonis d'una gran activitat en molts dels camps pioners de la microbiologia i la immunologia durant aquesta primera etapa. Aquests treballs reflecteixen la preocupació de la comunitat científica i, per extensió, de la societat de controlar algunes malalties q tenen una especial importància social, principalment la tuberculosi, però també altres malalties, com ara la sífilis (taula 1).

Una gran part del coneixement del món microbià (especialment dels bacteris), de la seva genètica i de la seva fisiologia, s'ha basat fins fa poc en el creixement axènic dels microorga-

nismes. I aquest mètode encara continua sent imprescindible per a la microbiologia clínica i d'aliments, per obtenir productes microbianos, etc. Per afavorir el creixement d'un grup determinat de microorganismes es poden fer servir diversos medis de cultiu. Els microorganismes exigents (microbis golafres) són difícils de cultivar en els medis de cultiu habituals i requereixen medis molt rics i períodes d'incubació llargs. Dins d'aquesta categoria de microorganismes s'inclouen molts patògens, com ara *Legionella* (legionel·losi), *Neisseria* (algunes meningitis, gonorrea), *Haemophilus* (infeccions de l'aparell respiratori, meningitis infantils), *Mycobacterium* (tuberculosi), *Mycoplasma* (infeccions genitals), *Helicobacter* (úlcera gastroduodenal) i d'altres. A l'altre extrem, podríem triar un medi mínim que contingues únicament sals inorgàniques i glucosa com a font de carboni, com és el cas dels microorganismes aïllats de l'ambient, generalment no patògens (microbis esquifits).

Tema	Articles sobre aquest tema (%)	Exemple d'article, autors i any
Tuberculosi ( <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	24	Atenuació del bacil. de Koch en el brou de patata d'Holanda; Ramon Turró i Darder i José Alomar (1914)  Nota contributiva al estudio de la influencia de la menstruación sobre la tuberculosis pulmonar; Remigi Dargallo (1916)
Malalties relacionades amb espiroquetes (p. ex., sífilis [ <i>Treponema pallidum</i> ])	9,5	Diagnòstic serològic de la sífilis; Josep M. Peyrí (1914)
Febre de Malta o brucel·losi ( <i>Brucella melitensis</i> ) i altres brucel·les	6	Estudis sobre la febre de Malta; Pere Domingo i Sanjuán i López Gaietà (1924)
Altres malalties bacterianes (carboncle, tètanus, pneumococ, etc.)	16,5	Contribució a la patogènia del tètanus; Josep Vidal (1931)  La flora aeròbia de les apendicitis cròniques; E. Ribas i Ribas i Ramon Cullell Reig (1932)
Virus (bacteriòfags i virus animals)	12	Recerques sobre un estafilococ resistent al bacteriòfag; Francesc Duran-Reynals (1928)  Propietats de l'agent causal d'un tumor del pollastre; Francesc Duran-Reynals i James B. Murphy (1930)
Tècniques microbiològiques de cultiu, estructura, activitat d'alguns enzims bacterians, desinfecció, etc.	32	Un medi de cultiu per a la conservació del bacil diftèric; Pere Domingo i Sanjuán (1929)  Influència de les sals alcalines dels àcids salicilic i benzoic i els èsters de l'àcid paraoxibenzoic sobre els microorganismes; César Pi-Sunyer (1929)

Els medis de cultiu comercialitzats reben diferents noms, com ara, *agar sang* (medi de color roig sang, que a més conté un 5 % de sang ovina) o *agar xocolata* (s'ha de dir que el nom no li ve per contenir cacau sinó per la hidròlisi dels glòbuls vermells de la sang a 56 °C, que dóna un color marró fosc). Altres medis reben noms de les persones que els van dissenyar, com ara *Lowenstein-Jensen* (utilitzat per al cultiu *in vitro* de micobacteris), *MacConkey* (per a enterobacteris), etc. O bé s'anomenen per sigles com ara *SS* (medi *Salmonella-Shigella*), *LB*, etc. Del medi *LB*, molt utilitzat en estudis de fisiologia o biologia molecular, s'ha dit que el nom procedia de Luria Broth, Lennox Broth o medi Luria-Bertani. Però el mateix Giuseppe Bertani (un dels dissenyadors del medi) va haver de dir que l'abreviació únicament feia referència a *lysogeny broth* (brou de lisogènia).

### El cultiu axènic: una tècnica imprescindible (?) en microbiologia

El cultiu axènic (o *pur*) és la tècnica microbiològica que permet obtenir colònies separades d'un microorganisme sobre un medi sòlid, de tal manera que podem pensar que tenim aquest

microorganisme *aïllat*, és a dir, que no està contaminat amb cap altre organisme. El cultiu axènic, en el sentit que coneixem avui dia, no va ser obtingut per Louis Pasteur (1822-1895). Pasteur feia créixer els bacteris en medi líquid; quan el medi de cultiu es feia tèrbol, n'inoculava una petita quantitat en un altre medi *fresc* (sense bacteris), i així successivament. Fent aquesta sèrie de transferències, Pasteur suposava que tenia un cultiu axènic. Però, amb aquest mètode, l'obtenció d'un cultiu axènic és totalment fortuïta i poc reproduïble. Joseph Lister (1827-1912) va utilitzar el mètode de la dilució seriada fins que suposava que a l'últim tub de la sèrie quedava un únic microorganisme. Però, com el cas de Pasteur, el mètode era complicat i sovint poc fiable. Els qui van resoldre definitivament el problema, en utilitzar un medi sòlid, van ser Robert Koch (1843-1910) i els seus col·laboradors.

La base de la tècnica per aïllar bacteris en medis sòlids o semisòlids va ser proposada el 1875 per Joseph Schroeter (1835-1894), un col·laborador de Ferdinand Cohn (1828-1898), que utilitzava talls de patata bullida dins de recipients esterilitzats. Koch estava familiaritzat

.....  
**▲Taula 1.** Alguns articles de *Treballs de la Societat de Biologia* (1913-1934) dedicats a temes de microbiologia o immunologia  
 .....

Any	Malaltia o afecció	Microorganisme (nom actual)	Descobridor
1877	carboncle	<i>Bacillus anthracis</i>	R. Koch
1878	supuració	<i>Staphylococcus</i> spp.	R. Koch
1879	gonorrea	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	A. L. S. Neisser
1880	febre tifoide	<i>Salmonella typhi</i>	C. J. Eberth
1881	supuració	<i>Streptococcus</i> spp.	A. Ogston
1882	tuberculosi	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	R. Koch
1883	còlera	<i>Vibrio cholerae</i>	R. Koch
1883	diftèria	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	T. A. E. Klebs, F. Loeffler
1884	tètanus	<i>Clostridium tetani</i>	A. Nicholaier
1885	diarrea	<i>Escherichia coli</i>	T. Escherich
1886	pneumònia	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	A. Fraenkel
1887	meningitis	<i>Neisseria meningitidis</i>	A. Weischselbaum
1888	infecció alimentària	<i>Salmonella enteritidis</i>	A. A. H. Gaertner
1892	gangrena gasosa	<i>Clostridium perfringens</i>	W. H. Welch
1894	pesta bubònica	<i>Yersinia pestis</i>	S. Kitasato, A. J. E. Yersin (independentment)
1896	botulisme	<i>Clostridium botulinum</i>	E. M. P. van Ermengem
1898	disenteria bacil·lar	<i>Shigella dysenteriae</i>	K. Shiga
1903	sífilis	<i>Treponema pallidum</i>	F. R. Schaudinn, E. Hoffmann
1906	tos ferina (catarro)	<i>Bordetella pertussis</i>	J. Bordet, O. Gengou
1909	tifus	<i>Rickettsia prowazekii</i>	H. T. Ricketts, S. von Prowazek (independentment)
1976	legionel·losi	<i>Legionella pneumophila</i>	un grup de metges
1982	gastritis, úlcera	<i>Helicobacter pylori</i>	B. J. Marshall, J. R. Warren
1982	malaltia de lyme	<i>Borrelia burgdorferi</i>	W. Burgdorfer

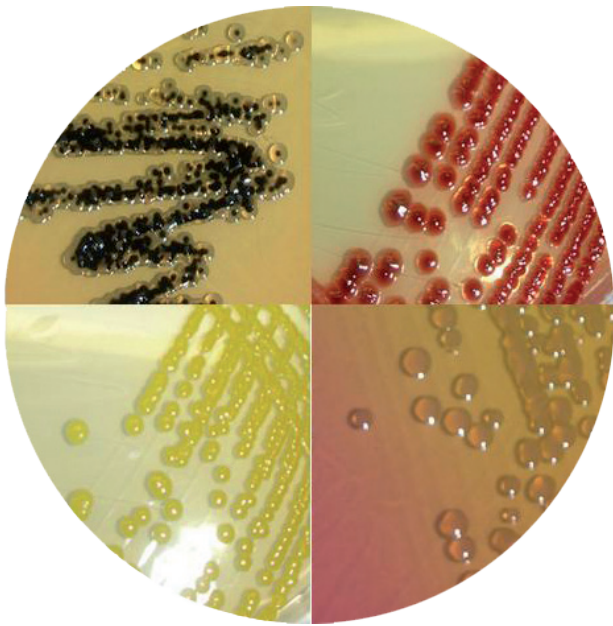
▲ **Taula 2.** Descobriments dels principals patògens bacterians humans

amb els treballs de Schroeter, ja que visitava freqüentment el laboratori de Cohn. No obstant això, Koch no el va citar en els seus treballs. La patata bullida servia de medi de suport i nutritiu per als microorganismes, però molts microorganismes patògens no hi podien créixer. A més, la patata regalimava, cosa que feia que els microorganismes creïessin i es dispersessin per la superfície, i que diferents colònies s'ajuntessin o es toquessin; Koch volia trobar uns medis que poguessin suportar el creixement dels microorganismes patògens, sense tocar-se, sobre una superfície sòlida (taula 2).

Koch va utilitzar primer la gelatina com a agent per solidificar els diferents medis líquids (brous) que feia servir per al creixement dels microorganismes patògens. Cobria aquest medi sòlid amb una campana de vidre per evitar la contaminació amb els microorganismes existents en l'ambient. Els brous amb gelatina eren un bon medi de cultiu per aïllar microorganismes, però presentaven un inconvenient important: la gelatina no es manté sòlida a 37 °C, que és la temperatura òptima de creixement

de la majoria dels microorganismes patògens humans. Calia un altre agent solidificant més resistent a la digestió per microorganismes. Un col·laborador de Koch, Walter Hesse (1846-1911), per suggeriment de la seva esposa i ajudant, Fanny Angelina Eilshemius Hesse (1850-1934, nascuda als Estats Units), va suggerir introduir als medis de cultius una substància que ella usava a la cuina. Es deia *agar-agar*. L'agar és un polisacàrid complex procedent de les algues roges (rodòfits), que s'utilitzava com agent gelificant de pastissos i postres, especialment a les zones tropicals. Walter Hesse es va incorporar al laboratori de Koch principalment per fer estudis d'higiene ambiental, com ara la contaminació microbiana de l'aire, de les aigües de distribució urbanes i de les aigües residuals. Fanny treballava com a tècnica al mateix laboratori, i a més era una magnífica dibuixant d'imatges microscòpiques de microorganismes.

L'agar va aportar molts avantatges respecte de la gelatina: era sòlid a 37 °C, resistent a la degradació enzimàtica i es podia emmagatzemar durant força temps. Observant els resultats,



Koch va afegir immediatament l'agar en un nou medi destinat al cultiu del bacil de la tuberculosi.

El 1887, Richard Petri (1852-1921), també del laboratori de Koch, va escriure un petit article on descrivia la utilització d'unes capsetes circulars de vidre, que van rebre el seu nom. Les plaques o càpsules de Petri es podien esterilitzar i emmagatzemar independentment del medi. A la part inferior de la capsa es posava el medi de cultiu fos i es podia tancar amb una placa d'una mida un xic més gran per evitar les contaminacions. Les plaques de Petri encara s'utilitzen avui, ja siguin de vidre reutilitzables o de plàstic, i constitueixen un material imprescindible en un laboratori de microbiologia, biologia cel·lular, embriologia, etc. (fig. 1).

### Postludi i perspectiva

Estem en temps de grans canvis. Les ciències microbiològiques han experimentat variacions profundes els darrers trenta anys. Els mitjans de comunicació, especialment la premsa, denuncien contínuament casos d'infeccions, l'aparició de «noves» malalties o els perills del bioterrorisme. De les dues cares que tenen els microorganismes, la favorable, la gran majoria, i la patògena, una minoria, la societat només percep la que produeix destrucció o mort. Gran error. La situació i el desenvolupament de la microbiologia actual ens permet avançar que serà una de les principals ciències biomèdiques al segle XXI. La recerca mèdica i farmacèutica està descobrint, per mitjà dels microorganismes, nous fàrmacs i noves maneres de produir-los

o d'optimitzar-los. Els microorganismes s'utilitzen en nous processos industrials, i són una estratègia barata i efectiva en la bioremediació.

Com impacta la ciència en la societat no solament depèn dels descobriments científics, sinó també de la manera que la societat percep aquesta ciència i de les polítiques nacionals que planifiquen els programes de recerca i les activitats per promoure'n l'aplicació. L'educació científica és clau per adquirir i difondre el coneixement i la cultura contemporanis. El foment de la ciència i la tecnologia és imprescindible per al desenvolupament de la societat, i precisament en temps de crisi és quan ha de rebre més suport econòmic. Ben al contrari de com veiem la situació avui, hauríem de considerar una nova perspectiva, hauríem de veure com afrontem «la crisi en temps de ciència», seguint la recent frase afortunada de Joan Massagué. |

◀ **Figura 1.** Cultius axènics de diferents tipus de microorganismes. A dalt, a l'esquerra, cultiu de *Salmonella* en medi SS (*Salmonella-Shigella*); a dalt, a la dreta, cultiu de *Serratia* en TSA (triptona soia agar); a baix, a l'esquerra, cultiu de *Micrococcus* en TSA; a baix, a la dreta, cultiu de *Shigella* en SS. Fotografia Núria Rius.

### Per Saber-ne més.....

- BERTANI, G. (2004). «Lysogeny at mid-twentieth century: P1, P2, and other experimental systems». *J. Bacteriol.*, vol. 186, p. 595-600.
- GUERRERO, R.; BERLANGA, M. (2009). «The evolution of microbial life: paradigm changes in microbiology». *Contribution Sci.*, vol. 5, p. 55-61.
- GUERRERO, R.; BERLANGA, M.; MASSANA, R. (2012). «Les microbiologies i els canvis de paradigmes». A: Treballs de la SCB, vol 63: *La Biologia d'ahir i d'avui. Reflexions amb motiu del centenari de la Societat Catalana de Biologia* PIFERRER, F. (ed.), p. 161-181.
- MALLOY, S.; SCHAECHTER, M. (2006). «The era of microbiology: a Golden Phoenix». *Int. Microbiol.*, vol. 9, p. 1-7.