



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE MEDICINA

**Departamento de Microbiología,
Parasitología e Inmunología**

Microbiología II

SEMINARIO I
Control del Desarrollo Microbiano

OBJETIVOS

- Identificar qué **métodos de esterilización y desinfección** son los más adecuados según el material de trabajo.
- Poder determinar cuál **nivel de bioseguridad** se necesita para el uso de diferentes prácticas sanitarias.
- Conocer la metodología de las **pruebas de susceptibilidad a agentes antimicrobianos**.

INACTIVACION DE LA VIDA MICROBIANA

ESTERILIZACIÓN: proceso por el que se alcanza la muerte de **todas las formas de vida** microbianas, incluyendo **bacterias** y sus formas **esporuladas** altamente resistentes. **Se realiza por métodos físicos y químicos.**

DESINFECCIÓN: es el proceso por el cual los microorganismos patógenos son destruidos a excepción de las esporas. **Se realiza por métodos físicos y químicos.**

ANTISEPSIA: es el proceso que, por su baja toxicidad, se utiliza para la destrucción de microorganismos presentes sobre la superficie cutaneomucosa. **Se realiza por métodos químicos.**

Cinética de destrucción

Factores:

- Concentración del agente
- Tiempo de exposición
- pH del medio
- Temperatura
- Presencia de materiales extraños
- Resistencia propia del microorganismo
- Número inicial de la población

Métodos de ESTERILIZACIÓN

Físicos

- Incineración
- Calor | húmedo
- | seco
- Radiación | gamma (i)
- | UV (n.i)
- Filtración

Energéticos

Mecánicos

Químicos

- Óxido de etileno
- Glutaraldehído
- Formaldehído



Métodos físicos de ESTERILIZACIÓN

MÉTODO

PRINCIPIO

INCINERACIÓN

El material se quema. Ej: eliminación de desechos infecciosos.

CALOR HÚMEDO

121°C a 1 atm. 30 min (autoclave). Ej. Desechos de peligro biológico, objetos resistentes al calor.

CALOR SECO

160 – 180°C por 1 a 3 hs (estufa). Ej: material de vidrio, aceites, etc.

MÉTODO

PRINCIPIO

FILTRACIÓN

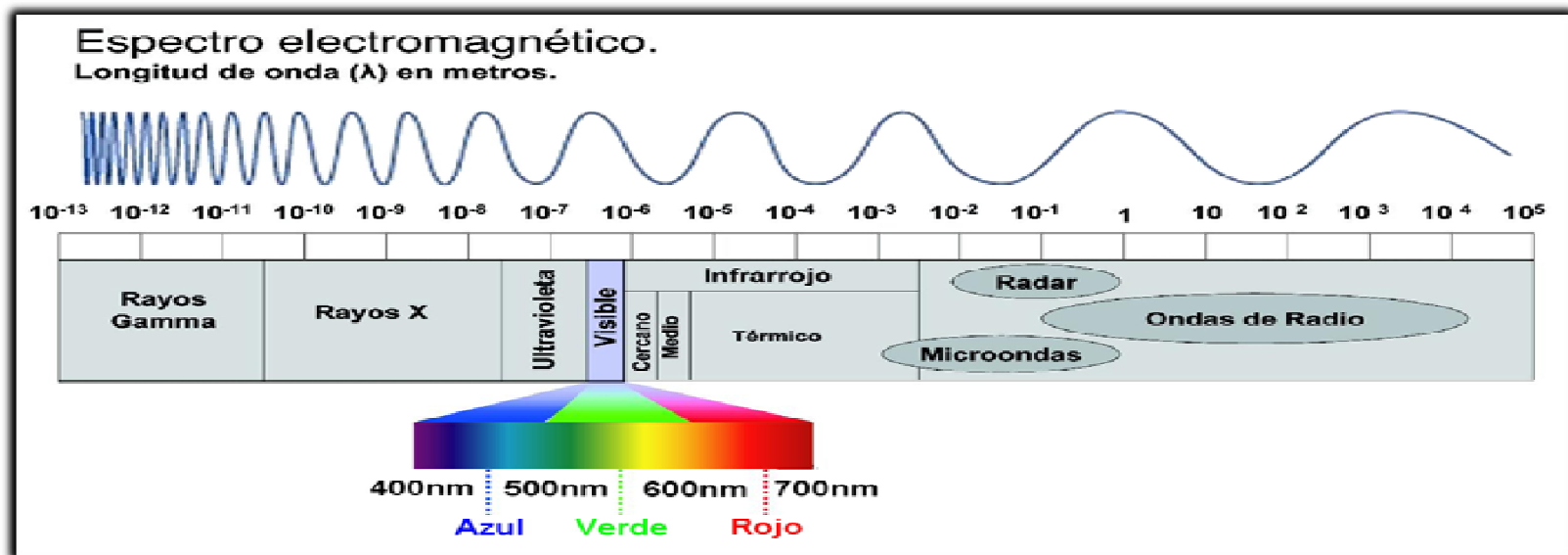
Pasaje de soluciones a través de membranas (antibióticos, químicos tóxicos, algunas vacunas).

RADIACIÓN GAMMA (i)

Radiación ionizante de corta longitud de onda y alta energía (material descartable).

RADIACIÓN UV (ni)

Radiación no ionizante de bajo poder de penetración. (aire, superficies, mesadas, volúmenes pequeños de líquidos).



Métodos **químicos** de **ESTERILIZACIÓN**

MÉTODO

PRINCIPIO

**ÓXIDO DE
ETILENO**

Gas incoloro, eficaz contra virus y esporas. Tiempo de exposición: 8-10 hs.

GLUTARALDEHÍDO

Solución bactericida de amplio espectro, eficaz contra virus y esporas. Se utiliza en una concentración al 2%.

FORMALDEHÍDO


Se usa en concentraciones del 40%, eficaz contra virus y esporas.

Métodos de DESINFECCIÓN

- Físicos

- Ebullición (100°C x 30 min)

- Pasteurización (leche)

65°C 30 min o 72°C 15 seg.  enfriamiento rápido a 10°C

- Radiación UV

- Químicos

Nivel: alto – medio - bajo



Niveles de desinfectantes y antisépticos

| <u>NIVEL</u> | <u>COMPUESTO</u> |
|--------------|---|
| ALTO | <div>Glutaraldehído Óxido de etileno Formaldehído Peroxígenos.</div> <div><ul style="list-style-type: none">• Esterilizantes• Desinfectantes estrictos (No como antisépticos).</div> |
| MEDIO | <div>Clorógenos Iodóforos Alcoholes Fenoles</div> |
| BAJO | <div>Compuestos de amonio cuaternario Compuestos anfóteros (detergentes) Compuestos mercuriales Sales de plata</div> <div><div>No en hospitales (uso doméstico)</div></div> |

Niveles de desinfectantes

| NIVEL | COMPUESTO | ELIMINA | Blanco de acción |
|-------------|---|---|--|
| ALTO | Glutaraldehído 2% Óxido de etileno Formaldehído 8% (en OH 70%) Peroxígenos | Esterilizante (destruye también esporas) | Modifican de forma irreversible grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos |

Sobre instrumentos médicos o quirúrgicos termosensibles. Si bien son de acción rápida, el tiempo de exposición es FUNDAMENTAL.

Niveles de desinfectantes

| NIVEL | COMPUESTO | ELIMINA | Blanco de acción |
|-------|--|--|--|
| MEDIO | Clorógenos (hipoclorito de Na^{2+} o Ca^{2+} , clorhexidina) Iodóforos (Iodo y alcohol iodado) | Elimina <i>M. tuberculosis</i> , hongos y virus no lipídicos. No elimina esporas | Oxidantes: actúan a nivel de proteínas y ácidos nucleicos actúan a nivel de m. p. |
| | Alcoholes Fenoles | | |

Iodo: **desinfectante**: termómetros clínicos, ampollas de dosis múltiples, sobre superficies, etc. pero **sobre todo como** **antisépticos**: preparación preoperatoria, antisepsia quirúrgica de manos, piel previo a inyecciones, parto, transfusiones, extracción de sangre, etc.

Niveles de desinfectantes

| NIVEL | COMPUESTO | ELIMINA | Blanco de acción |
|-------------|--|--|---|
| BAJO | <ul style="list-style-type: none"> - de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio, Rocal, Zephiran, Tritón k12, etc.)* - Anfóteros (detergentes) - Mercuriales (Mertiolate, Mercuriocromo, Metafen, etc.)** - Sales de Ag | No eliminan esporas ni <i>M. tuberculosis</i> , ni hongos ni virus no lipídicos. | <p>*agentes catiónicos. Sobre m. p.</p> <p>**Inhiben la actividad enzimática por unión del Hg con los grupos sulfhidrilo de las mismas.</p> |
| | | Desinfecta ítems no críticos y Limpieza doméstica | |

La **selección del agente desinfectante** depende del tipo de objeto a **desinfectar**

- **CRÍTICOS** - catéteres, agujas hipodérmicas, equipos de hemodiálisis
- **SEMICRÍTICOS** - termómetros (de uso rectal y oral), fibroscopios, tubos endotraqueales, broncoscopios
- **NO CRÍTICOS** - Estetoscopios, máscaras faciales y humidificadores

Antisépticos en uso

- Alcohol 70%
- Clorhexidina 2%
- Povidona Yodada 10%
- Triclosan 0,5%



¿Cuándo se usan?

Un antiséptico se recomienda para:

- **Disminuir la colonización por gérmenes**
- **Preparar la piel para procedimientos invasivos**
- **Atender pacientes inmunosuprimidos**
- **Lavado quirúrgico de manos**
- **Preparación pre-quirúrgica de la piel**
- **Luego de manipular material contaminado**
- **Prevenir infecciones intrahospitalarias (IIH)**



Bioseguridad (biosafety)

Es la aplicación de conocimientos, técnicas y equipamientos para proteger a personas, laboratorios, áreas hospitalarias y medio ambiente de la exposición a agentes potencialmente infecciosos o considerados de riesgo biológico.

Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

GRUPO 1: riesgo individual y poblacional
escaso o nulo

Bacillus cereus,

E. coli K12,

Lactobacillus acidophilus,

Virus Distemper (moquillo) canino.

Pocas probabilidades de provocar
enfermedades en el hombre

Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

GRUPO 2: riesgo individual moderado,
riesgo poblacional bajo

Clostridium spp.,

Listeria monocytogenes,

virus sarampión,

virus hepatitis,

Salmonella typhi.

Enfermedades del hombre, de **bajo** riesgo para el personal de laboratorio, en las que existe medidas terapéuticas y preventivas eficaces

Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

GRUPO 3: *M. tuberculosis*,
 Brucella spp.,
 Rickettsia spp.,
 Virus rabia.

Riesgo individual **elevado**, riesgo poblacional bajo existen medidas terapéuticas y preventivas eficaces

Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

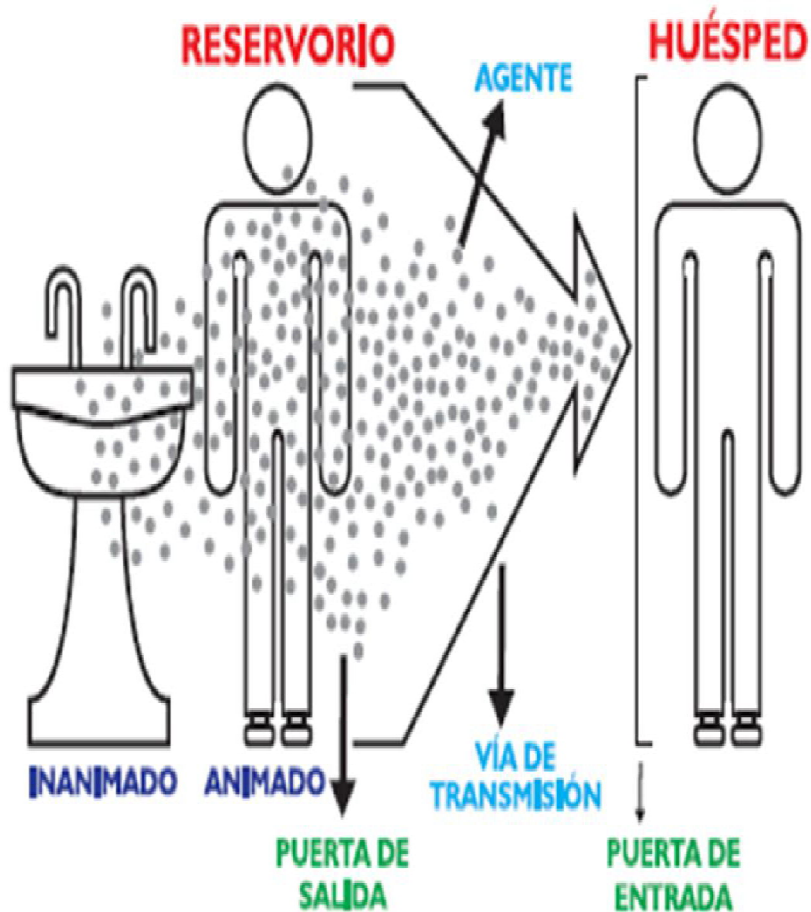
GRUPO 4: virus Junín,
virus Lassa,
virus de la fiebre aftosa,
virus Machupo.

Riesgo individual y poblacional **elevado**, **no existen medidas terapéuticas ni preventivas eficaces**

Principios de bioseguridad

- **Universalidad**
- **Lavado de manos**
- **Uso de barreras**
- **Medios de eliminación de residuos biopatogénicos**
- **Código de Ética**

Cadena epidemiológica de transmisión



Transmisión por contacto



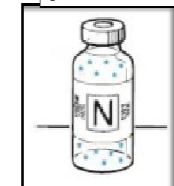
Transmisión por gotas



Transmisión aérea



Transmisión por vehículos



PRECAUCIONES ESTANDAR

Manejo de sangre, fluidos corporales y secreciones.

Cuándo ?

A quiénes ?

Dónde ?

PRECAUCIONES ESTANDAR

PARA LOS FLUIDOS CORPORALES DE TODOS LOS PACIENTES

Lavado de manos



Guantes



Camisolín/
Delantal



Barbijo y
Protección ocular



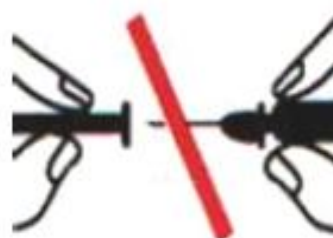
Resucitador



Descartador de
punzantes



No encapuchar
aguja



Ropa y basura

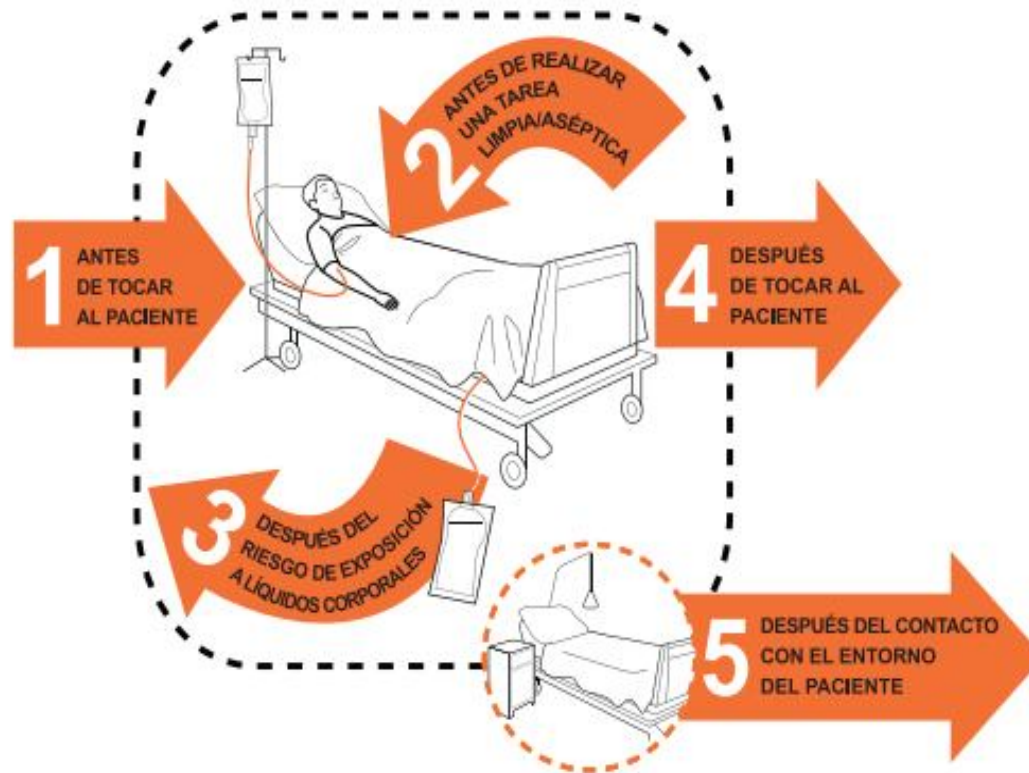


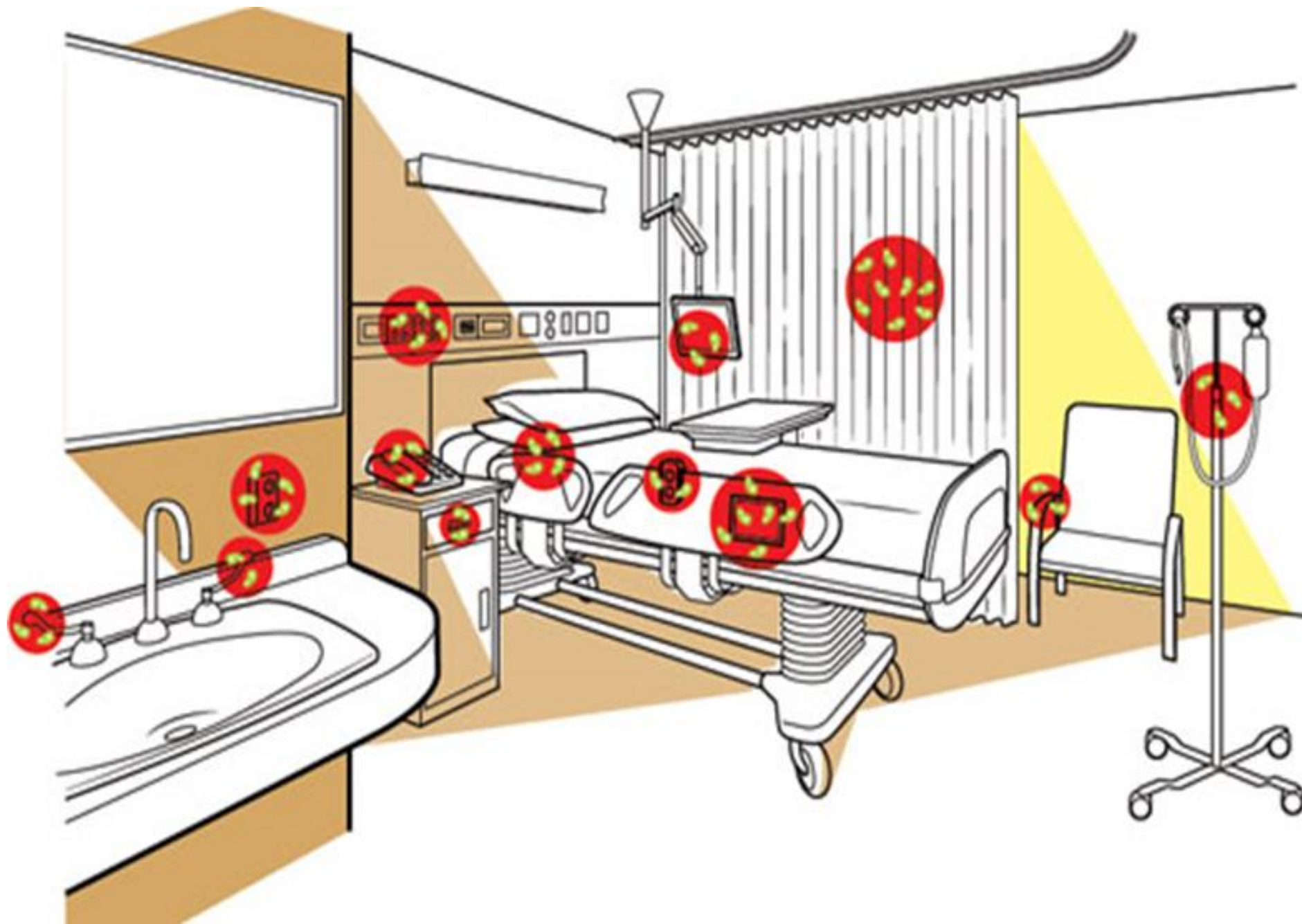
Lavado de Manos

Primer Desafío Global de Seguridad del Paciente
de la Comunidad e Internado
«Una atención limpia es una atención segura» (OMS).



Sus 5 Momentos para la Higiene de Manos





¿Cómo desinfectarse las manos?

¡Desinfectese las manos por higiene! Lávese las manos solo cuando estén visiblemente sucias.

 Duración de todo el procedimiento: 20-30 segundos



Deposite en la palma de la mano una dosis de producto suficiente para cubrir todas las superficies;



Frótese las palmas de las manos entre sí;



Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;



Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;



Frótese el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos;



Frótese con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;



Frótese la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa;



Una vez secas, sus manos son seguras.

InfectionControl.tips

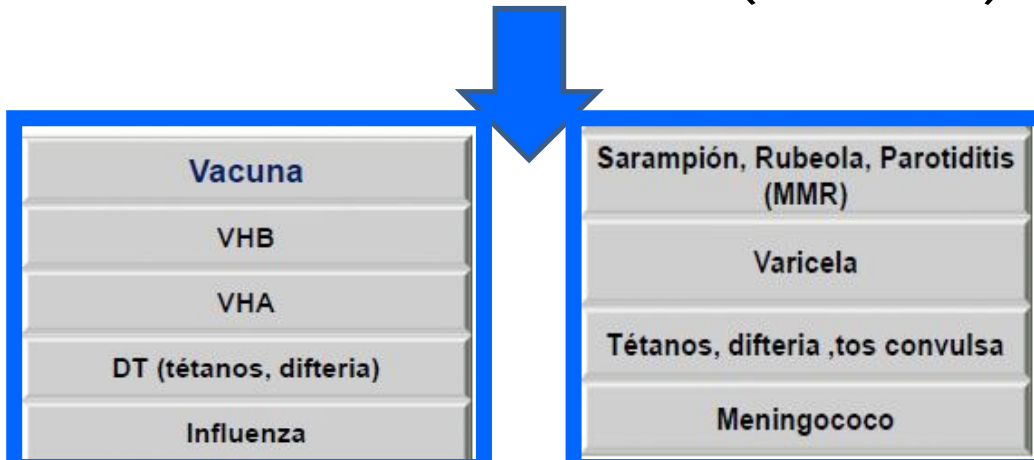


Uso de Barreras

Son los elementos que protegen al personal de salud de la transmisión de infecciones.

Se clasifican en:

- Uso de barreras físicas
- Inmunización activa (vacunas)



Eliminación de los residuos biopatogénicos (RBP)

Establece la manera de eliminar los elementos de riesgo patológico con el fin de proteger a los individuos y al medioambiente

Los elementos a descartar comprenden:

- Objetos cortopunzantes
- Objetos no cortopunzantes

Objetos cortopunzantes

En el medio hospitalario son eliminados en dispositivos rígidos.

- Se deben descartar agujas, hojas de bisturí y ampollas de vidrio.
- Las agujas deben ser eliminadas, NO deben ser dobladas, rotas o reencapsuladas.



Objetos no cortopunzantes (desechos)

- Residuos comunes: Bolsa **NEGRA**
- Residuos biocontaminados: Bolsa **ROJA**
- Residuos químicos: Bolsa **AMARILLA**



Adopción de «códigos de ética»

En el campo de la **Microbiología** es la aplicación de conocimientos y estrategias para prevenir la **mala utilización** (adrede o inadvertida) de microorganismos para causar daño al hombre, cultivos agrícolas, animales de importancia económica y al medio ambiente en general. La IUMS se esfuerza en promover la conducta ética en la investigación y el entrenamiento en las áreas de bioseguridad de manera tal de prevenir el uso de microorganismos como armas biológicas y así proteger la salud pública y proteger la paz mundial.

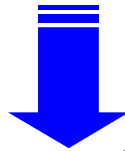
RESUMEN Y CONCLUSIONES

La bioseguridad y sus normas deben ser respetadas por TODOS en pos de la PROTECCIÓN del paciente y del profesional de la Salud a fin de INTERRUMPIR la cadena de transmisión del agente infeccioso y de la enfermedad misma.

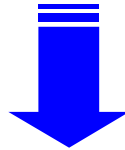
Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos

Diagnóstico microbiológico directo

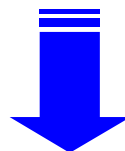
Muestra



Aislamiento
- Identificación-

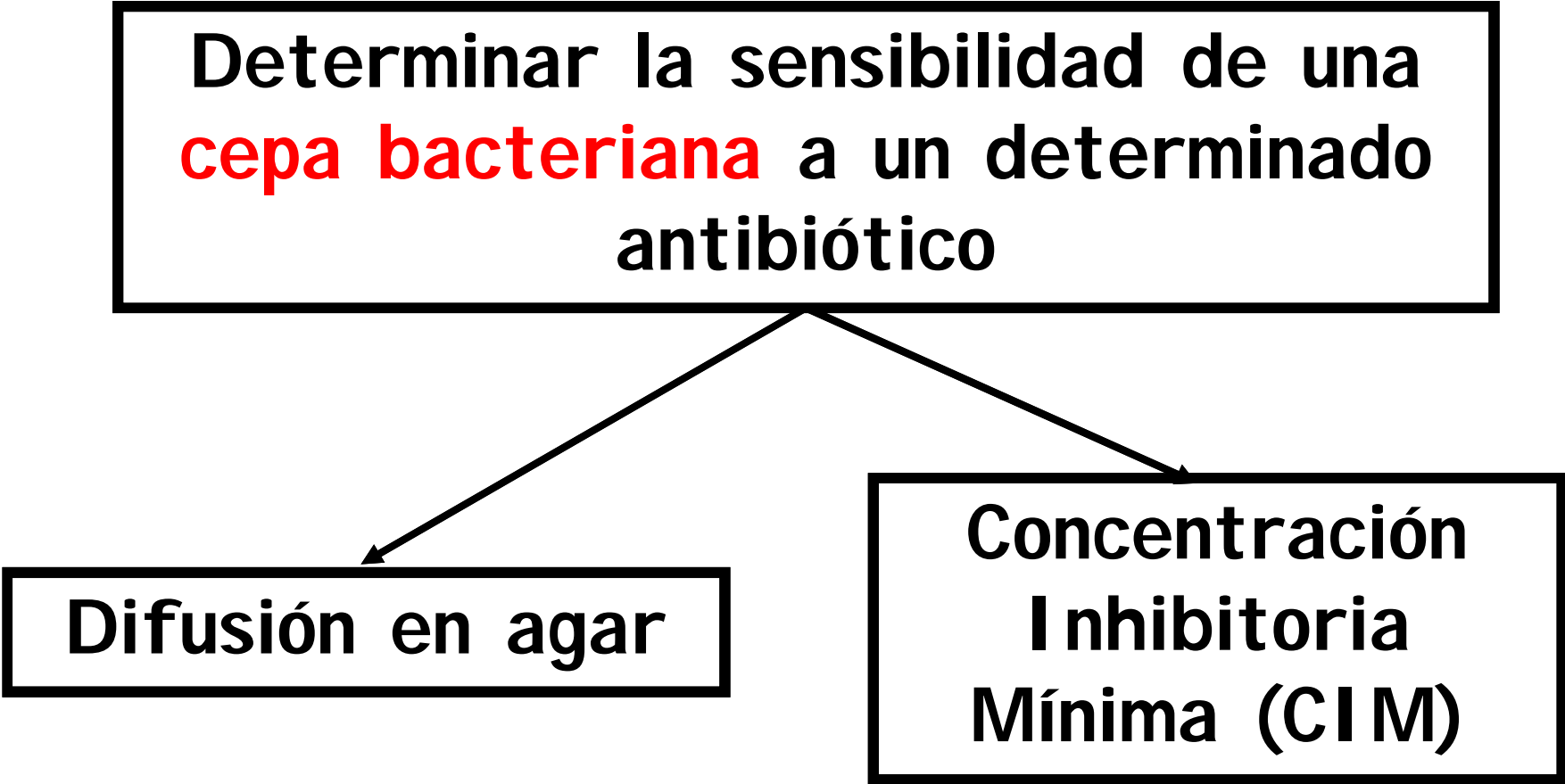


Microorganismo patógeno



Pruebas de susceptibilidad antibiótica

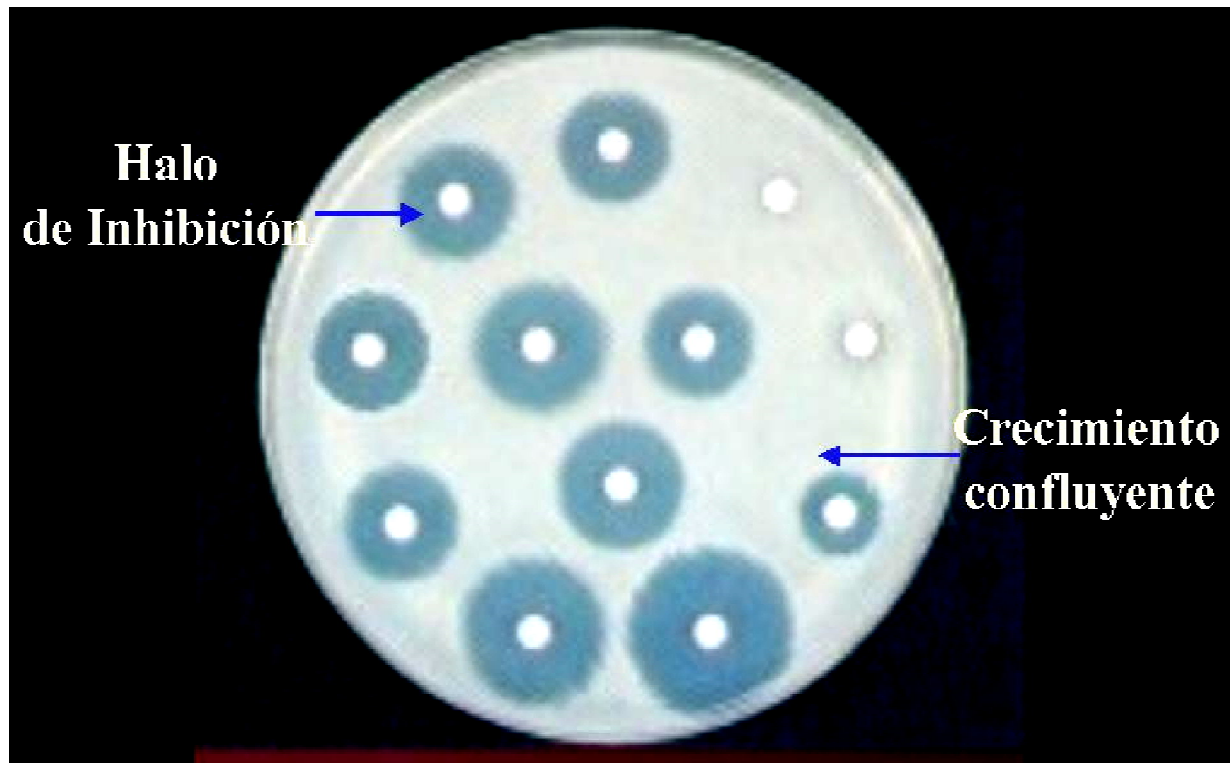
**Determinar la sensibilidad de una
cepa bacteriana a un determinado
antibiótico**



```
graph TD; A[Determinar la sensibilidad de una cepa bacteriana a un determinado antibiótico] --> B[Difusión en agar]; A --> C[Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)];
```

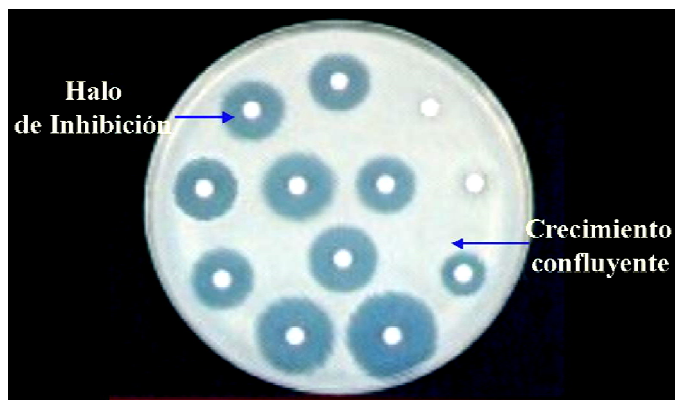
Difusión en agar

**Concentración
Inhibitoria
Mínima (CIM)**



Antibiograma de difusión o método de Kirby & Bauer





| Antibiótico | Diámetro de la zona de inhibición (mm) | | |
|----------------|--|------------|------------|
| | Sensible | Intermedio | Resistente |
| Ampicilina | ≥ 14 | 12-13 | ≤ 11 |
| Eritromicina | ≥ 18 | 14-17 | ≤ 13 |
| Penicilina G | ≥ 29 | 21-28 | ≤ 20 |
| Estreptomicina | ≥ 15 | 12-14 | ≤ 11 |
| Tetraciclina | ≥ 19 | 15-18 | ≤ 14 |

Significado clínico de la prueba de Kirby & Bauer

Bacterias sensibles: son inhibidas por las concentraciones que el antibiótico alcanza en suero a dosis habituales y por cualquier vía de administración, inclusive la vía oral.

Bacterias de susceptibilidad intermedia: son inhibidas "in vivo" cuando se administra el antibiótico a dosis más altas que las habituales.

Bacterias resistentes: son inhibidas por concentraciones del antibiótico que nunca son alcanzados "in vivo".

¿CUÁNDO USO LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER? **DE RUTINA**

¿EN QUÉ ESPECIES BACTERIANAS?

Bacterias de crecimiento rápido

Enterobacterias,

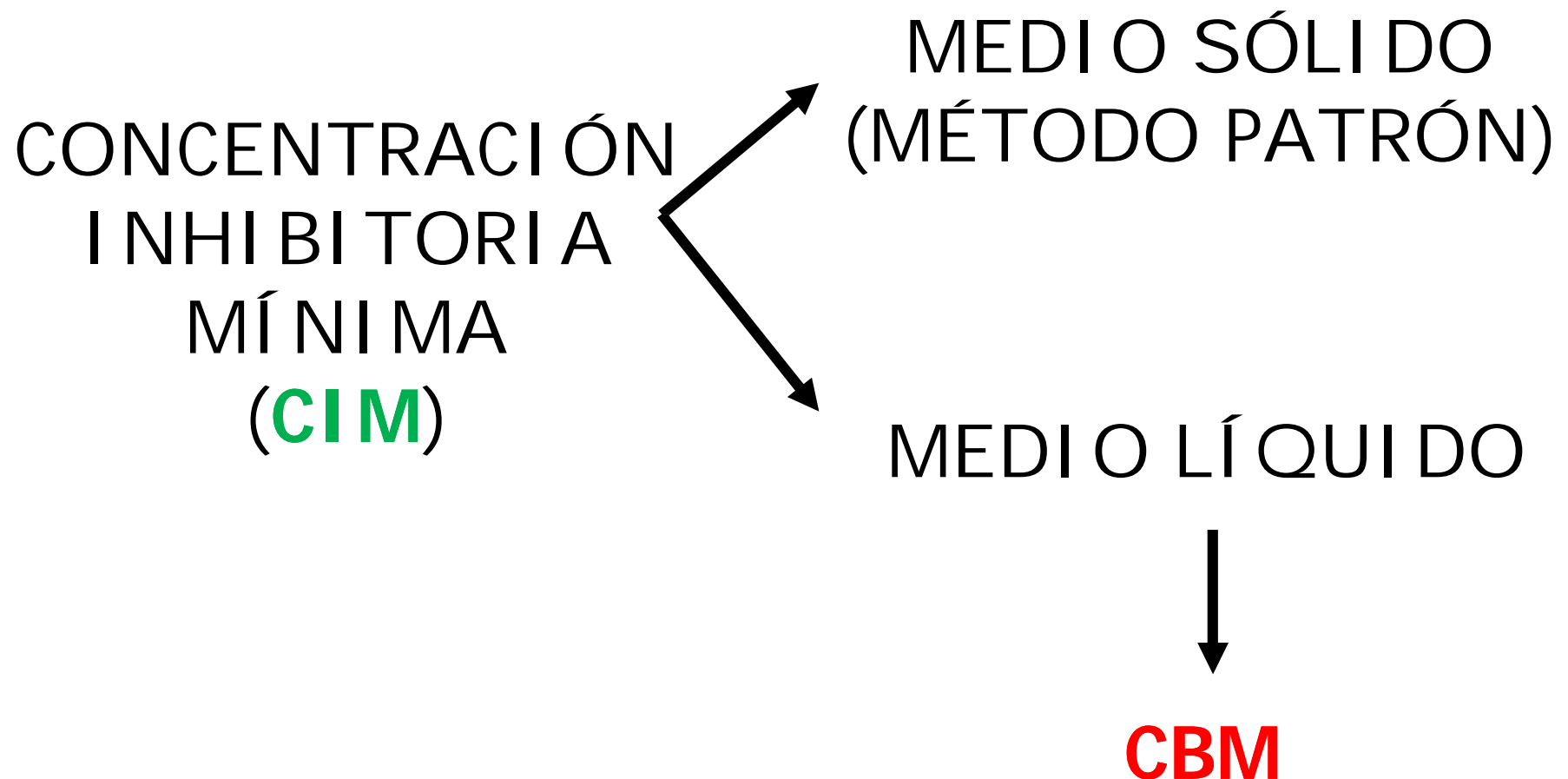
Staphylococcus spp.

Pseudomonas aeruginosa

Bacterias fastidiosas

Neisseria gonorrhoeae frente a penicilina G,
Streptococcus pneumoniae frente a oxacilina
Haemophilus influenzae b frente a ampicilina.

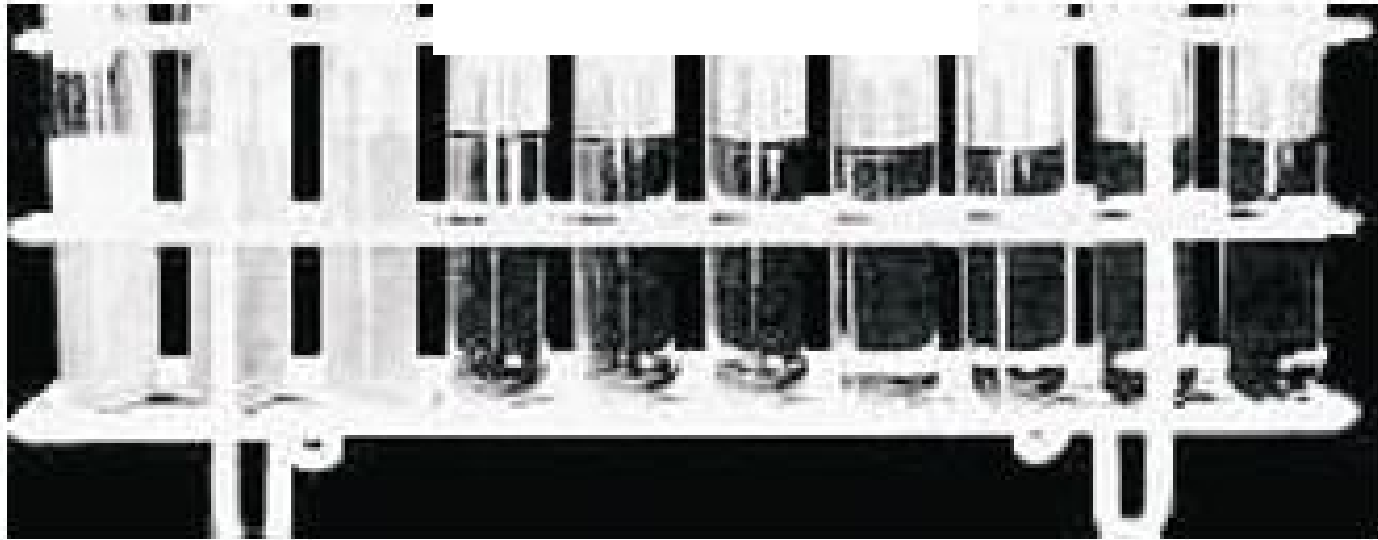
Pruebas para medir sensibilidad de una cepa bacteriana a un determinado antibiótico



Fundamento de la CIM

= [bact]

[Ab] 0.5 1 2 64 128 256



CIM sólido/difusión: considerado el método patrón. Medio puede suplementarse con requerimiento nutricional para determinar la CIM de cualquier especie bacteriana sin variar el punto final de la prueba.

Bacterias de crecimiento rápido,
Bacterias fastidiosas y anaeróbicas

Relevancia clínica de la CIM

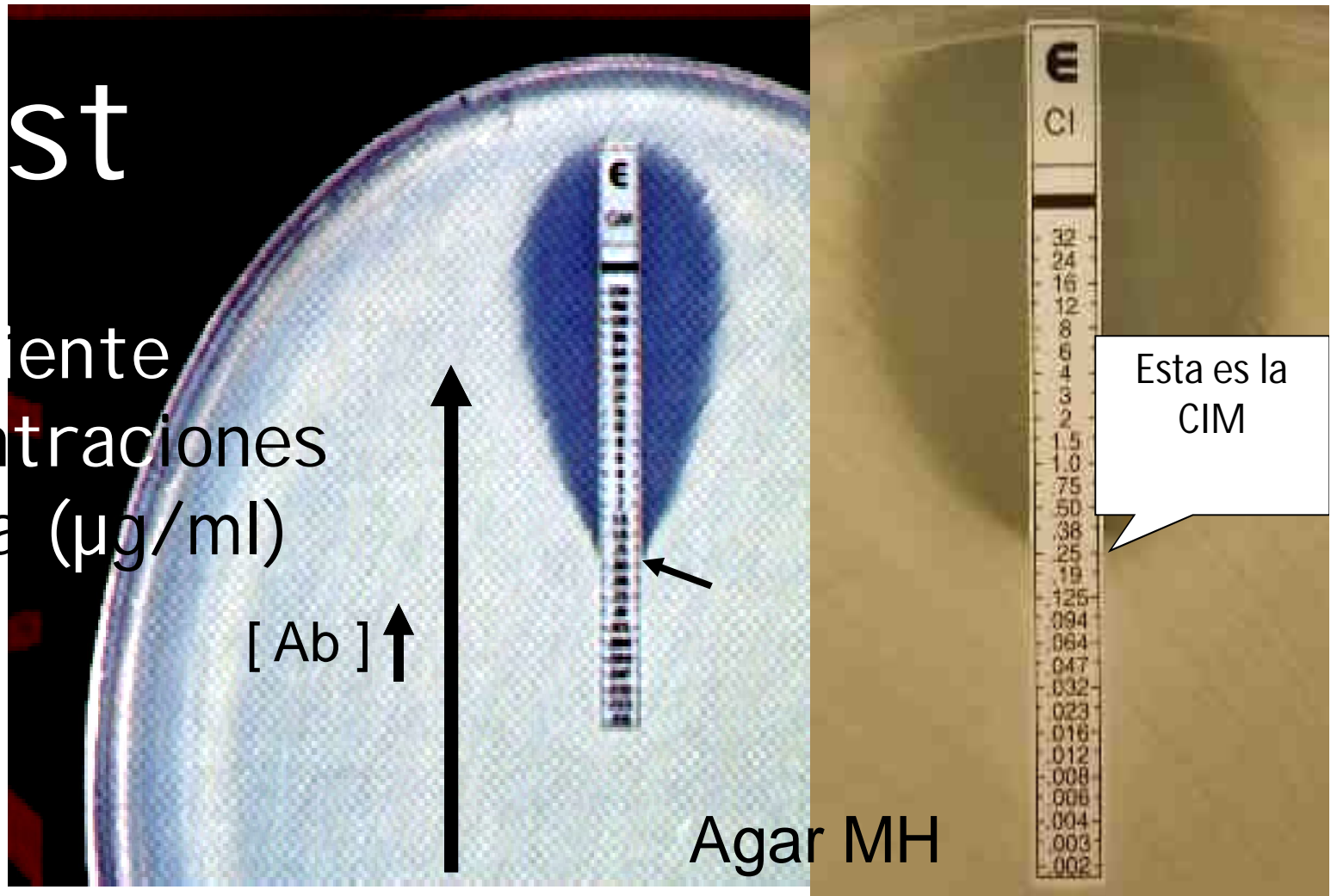
Para el tratamiento de las infecciones sistémicas la dosis del antibiótico en suero debe ser ***3 a 5 veces el valor de la CIM***

Otra manera de determinar la
CIM es mediante el **E-test**...

E-Test

Gradiente
de concentraciones
en la tira ($\mu\text{g/ml}$)

[Ab] ↑



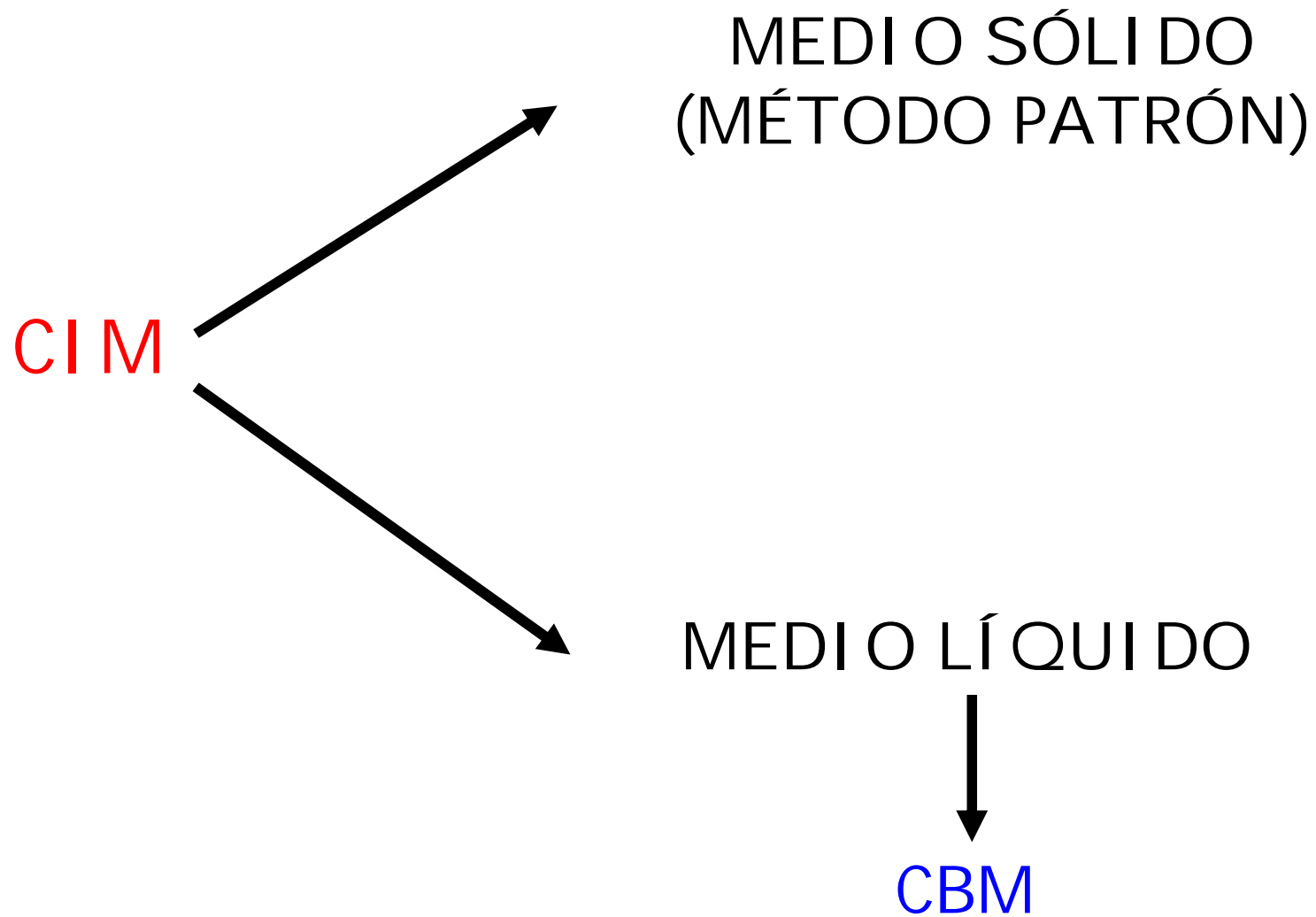
La diferencia con el disco, es que el disco
contiene una única
concentración del antibiótico

CBM

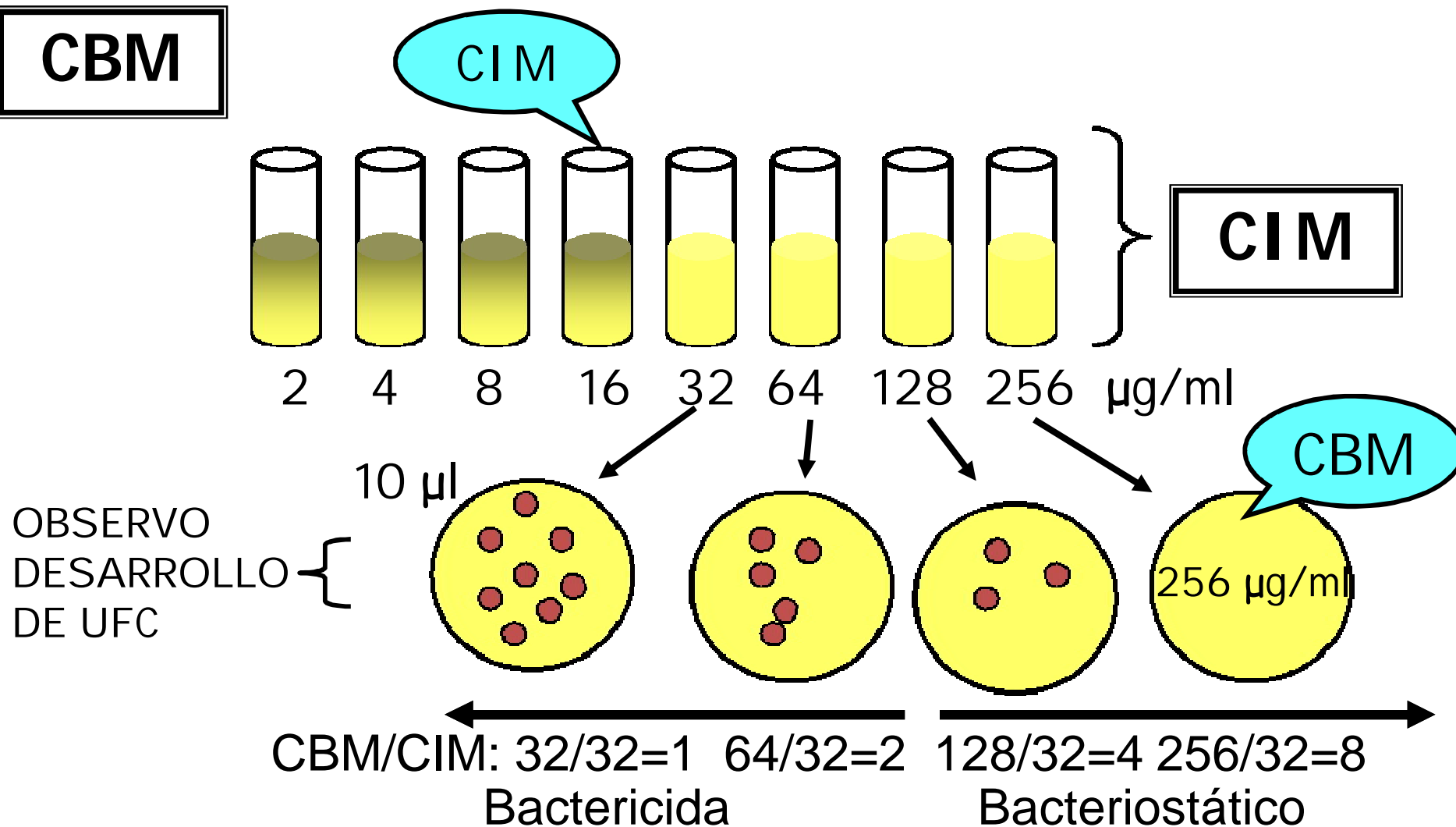
CONCENTRACIÓN BACTERICIDA

MINIMA Se define como la más baja concentración del antibiótico que elimina el 99,9% del inóculo bacteriano inicial, luego de 24 h de incubación.

Dicho de otra manera, es la dilución del antibiótico que deja un 0.1% de bacterias viables del inóculo inicial.

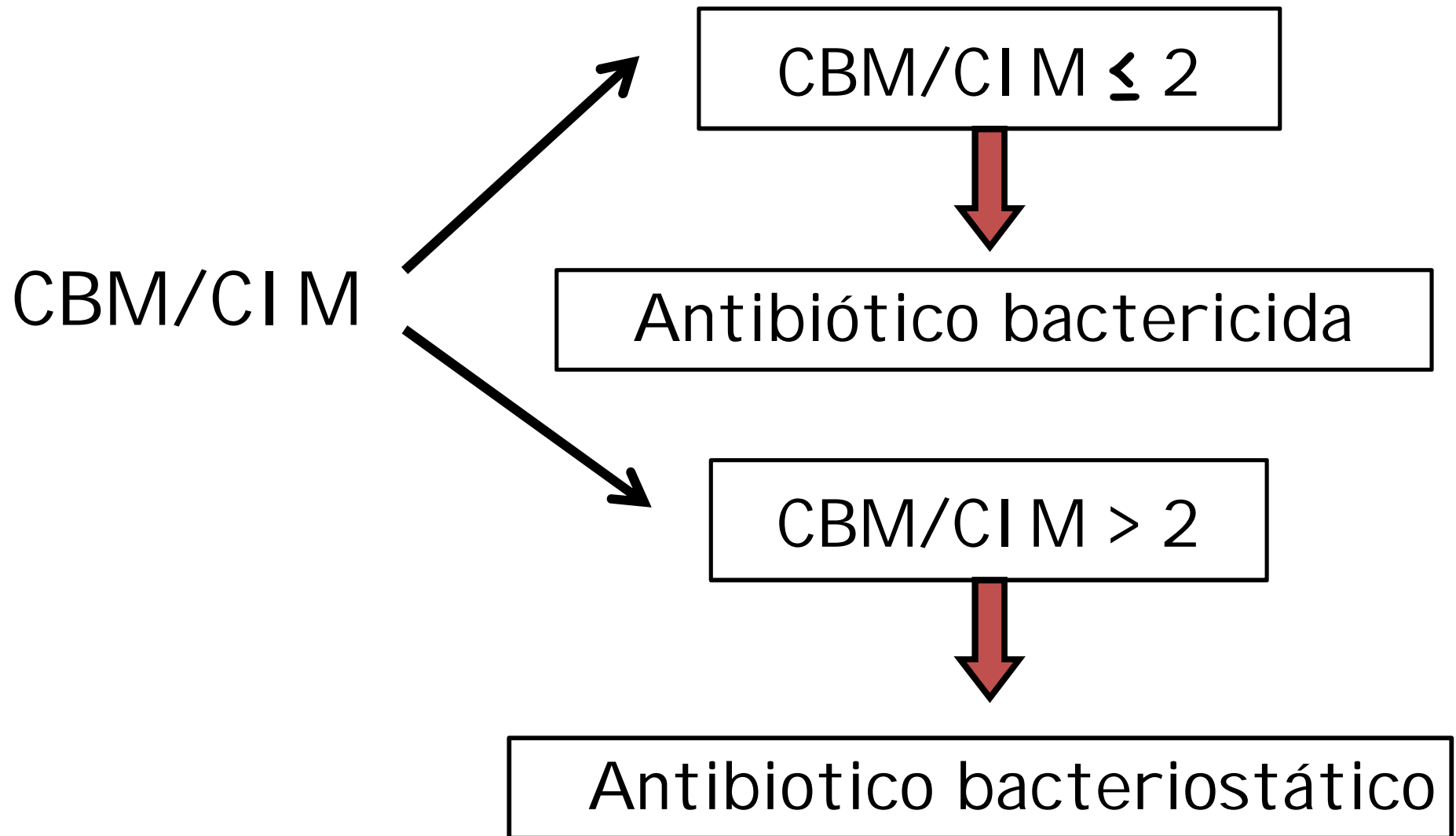


CBM



Se considera que el Ab tiene actividad bactericida si la supervivencia es $\leq 0.1\%$ en la misma dilución que la CIM o en hasta dos diluciones <s.

¿Qué información obtengo con los valores de CIM y CBM?



Curvas de muerte

Permite evaluar Terapias combinadas (efecto aditivo y ↓toxicidad) para **prevenir**:

Ej. **Emergencia de mutantes resistentes**

ej. Imipenem + aminoglucósidos para
Pseudomonas spp.

Ej. **Ejercer una actividad sinérgica**

ej. Betalactámico + aminoglucósido
Enterococcus spp.; *Pseudomonas* spp

Ej. **Terapia dirigida contra múltiples patógenos**

potenciales aumentar el espectro de cobertura en las infecciones polimicrobianas

ej. infección intrabdominal,

ej. absceso cerebral,

ej. infección de miembros en diabéticos con enfermedad microvascular

¿SE DETERMINA DE RUTINA?

NO

¿PARA QUE SE REALIZA?

**PARA TENER UNA ESTIMACIÓN MÁS
DINÁMICA DE LA ACCIÓN
BACTERICIDA DE UN ANTIBIÓTICO**

¿Qué
información
obtengo de
una curva de
muerte?



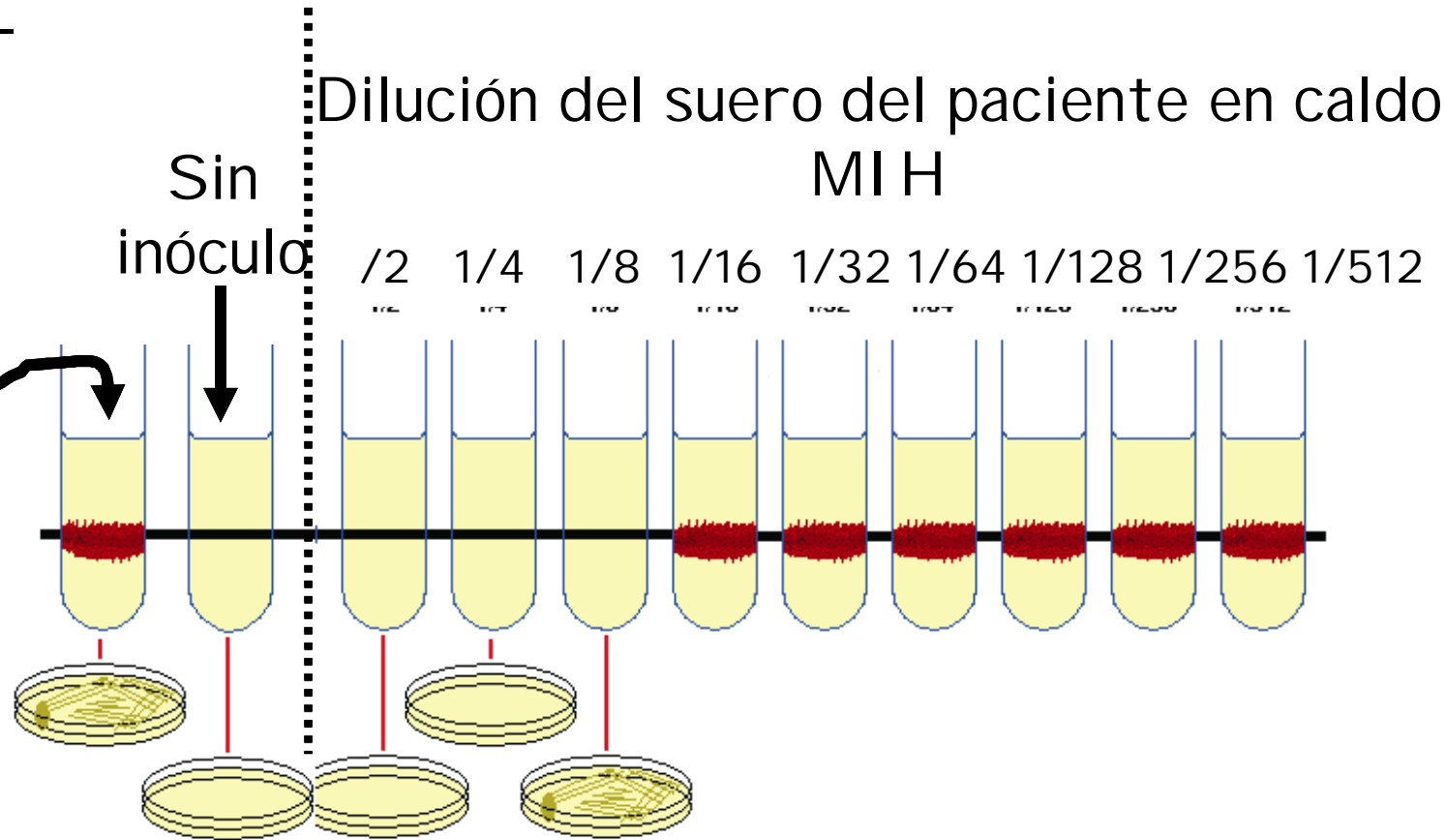
SI USO 2

ANTIBIOTICOS:

- Efecto sinérgico
- Efecto antagonista
- Indiferencia

Inóculo
estandarizado:
 10^5
UFC/ml

Poder Bactericida del Suero (PBS)



Mediante esta prueba, además de la sensibilidad de la bacteria al antibiótico "in vivo", se considera el efecto de absorción, unión a proteínas séricas, y eliminación del antimicrobiano. UTILIDAD DEL PBS: AJUSTAR DOSIS.

PBS

**SE NECESITAN 2 MUESTRAS DE
SUERO**

**Para calcular la
concentración máxima
del antibiótico**

**Para calcular la
concentración mínima
del antibiótico**

IV: 30-45 min
IM: 60 min
VO: 90 min

PICO

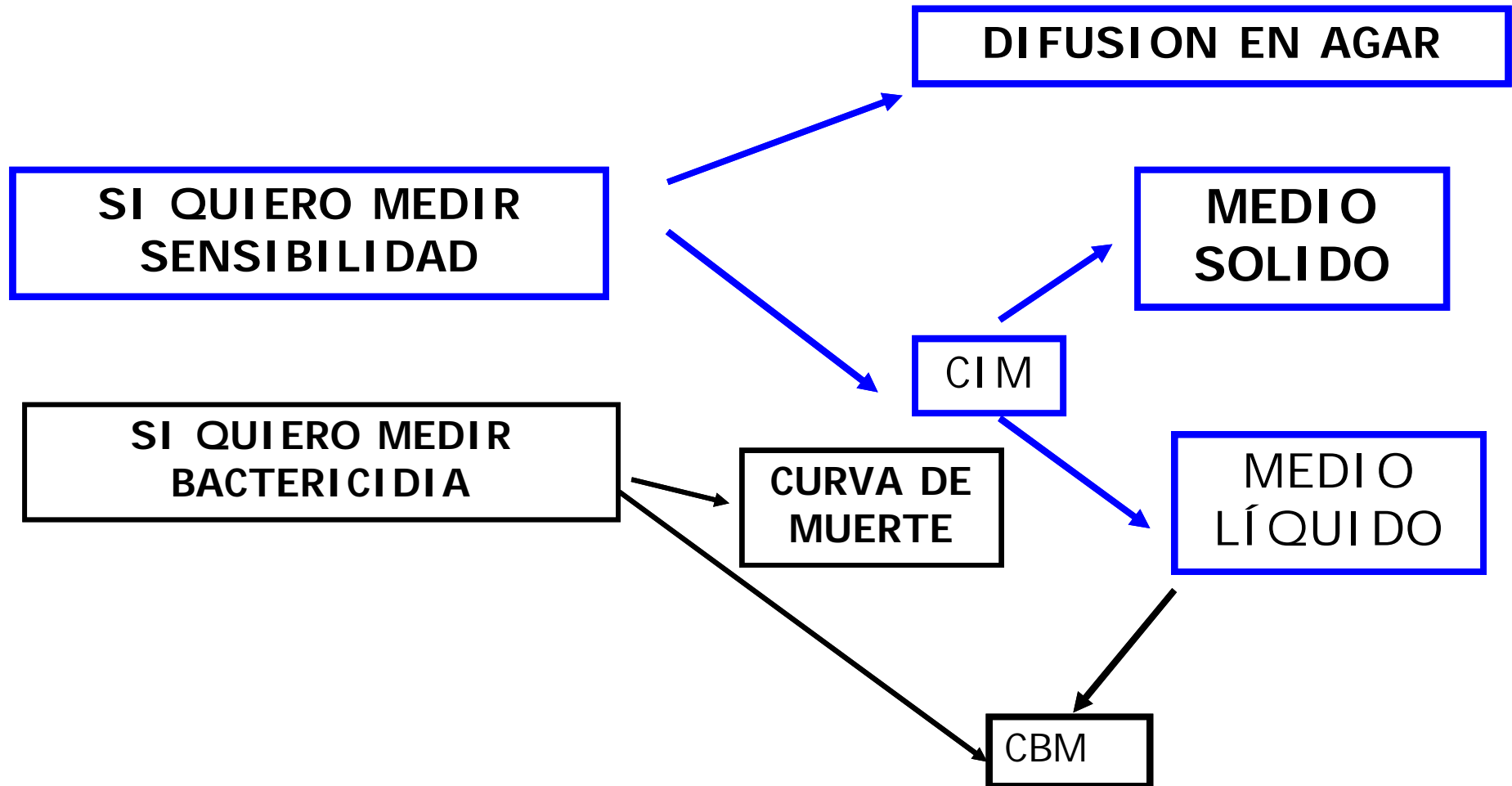
VALLE

$1/64 - 1/32$

$1/16 - 1/4$

**100%
CURACIÓN**

RESUMEN Y CONCLUSIONES





UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES FACULTAD DE MEDICINA

**Departamento de Microbiología,
Parasitología e Inmunología**

Microbiología II - General

Muchas gracias!