



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

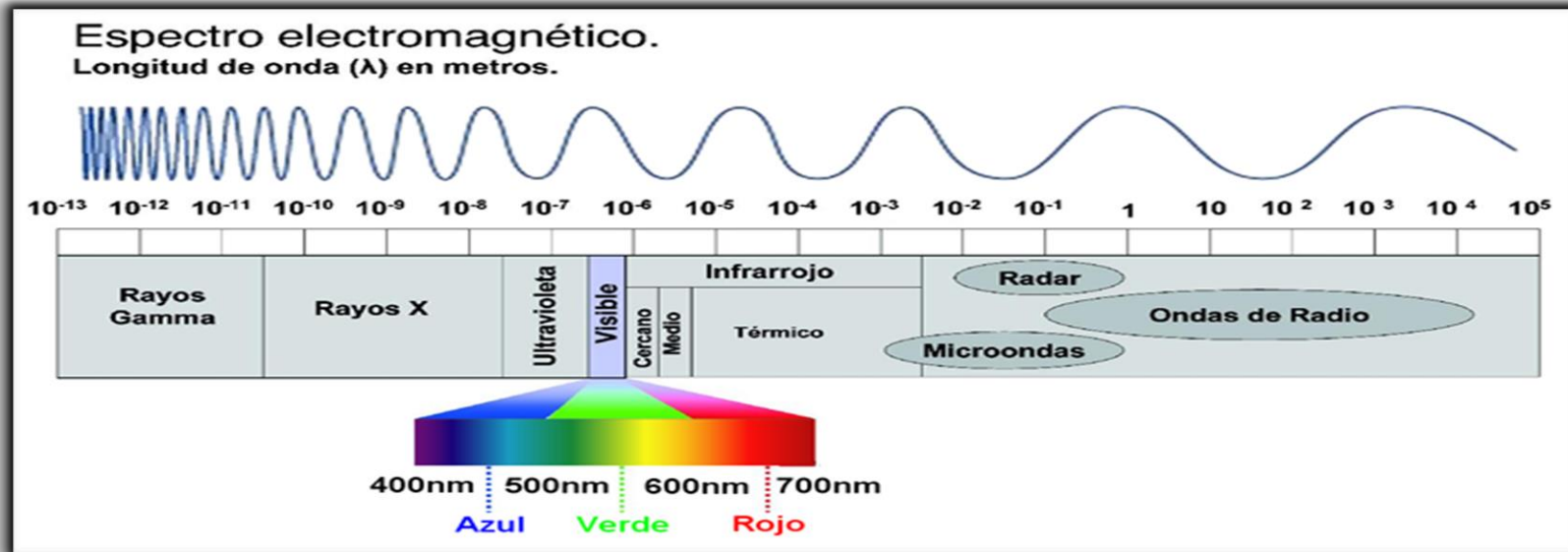
Pasaje de soluciones a través de membranas (antibióticos, químicos tóxicos, algunas vacunas).

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

<u>MÉTODO</u>	<u>PRINCIPIO</u>
---------------	------------------

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 antisepticos

NIVEL

COMPUESTO

ALTO

Glutaraldehído
Óxido de etileno
Formaldehído
Peroxígenos.

- Esterilizantes
- Desinfectantes estrictos (No como antisépticos).

MEDIO

Clorógenos
Iodóforos
Alcoholes
Fenoles

BAJO

Compuestos de amonio cuaternario
Compuestos anfóteros (detergentes)
Compuestos mercuriales
Sales de plata

No en hospitales
(uso doméstico)

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

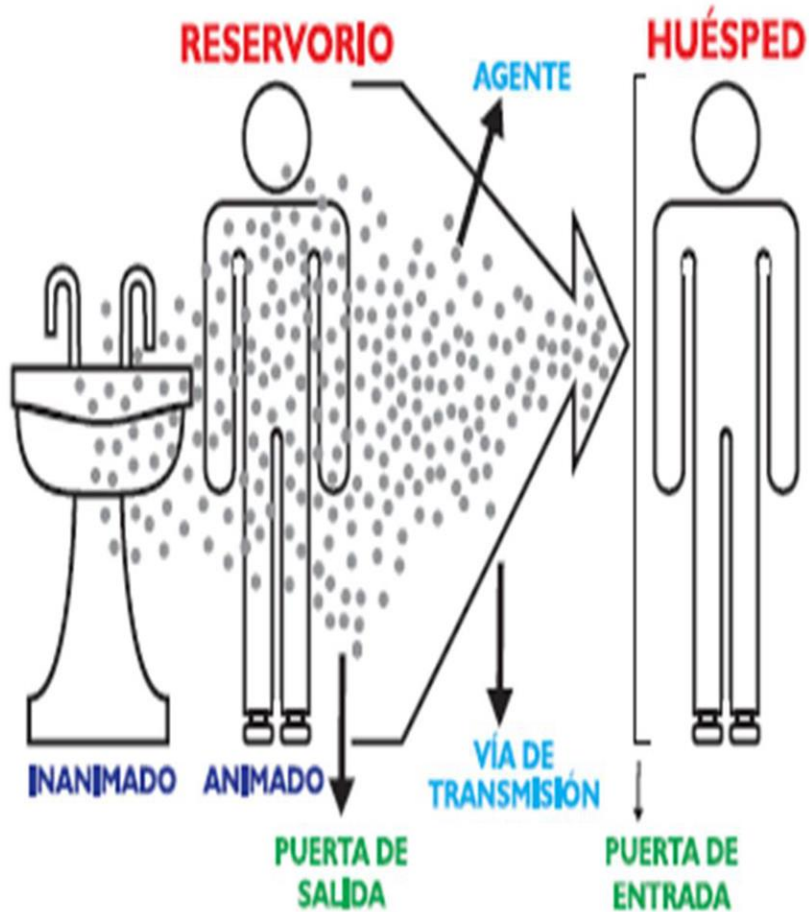
GRUPO 4: virus Junín,
virus Lassa,
virus de la fiebre aftosa,
virus Machupo.

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

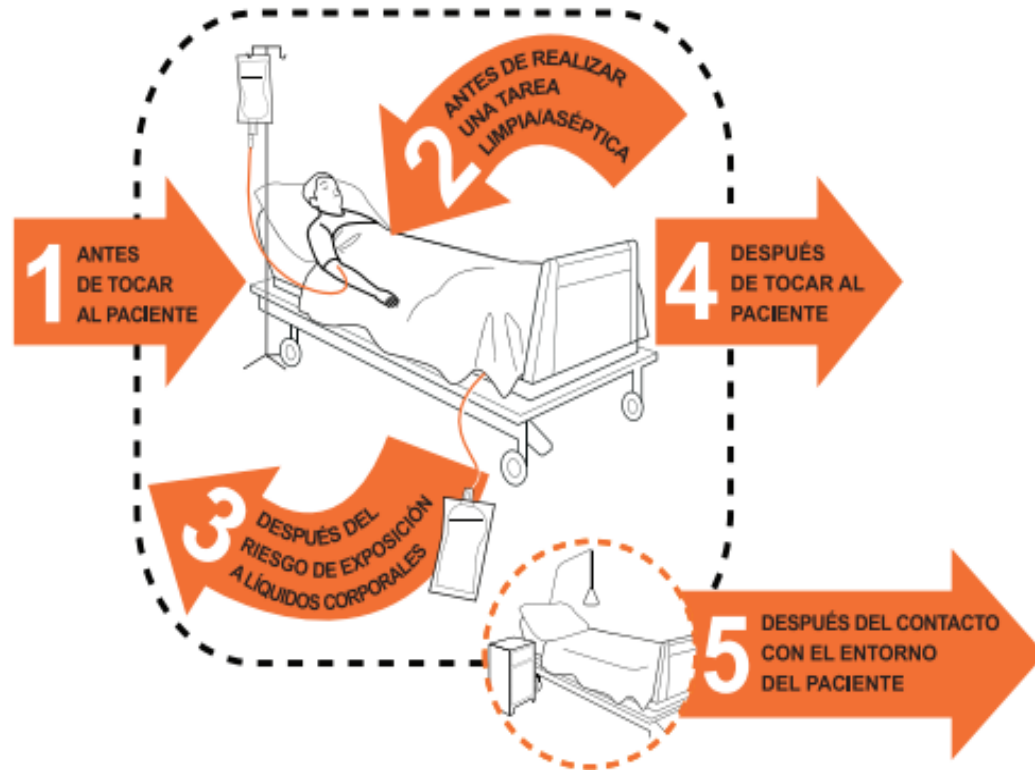


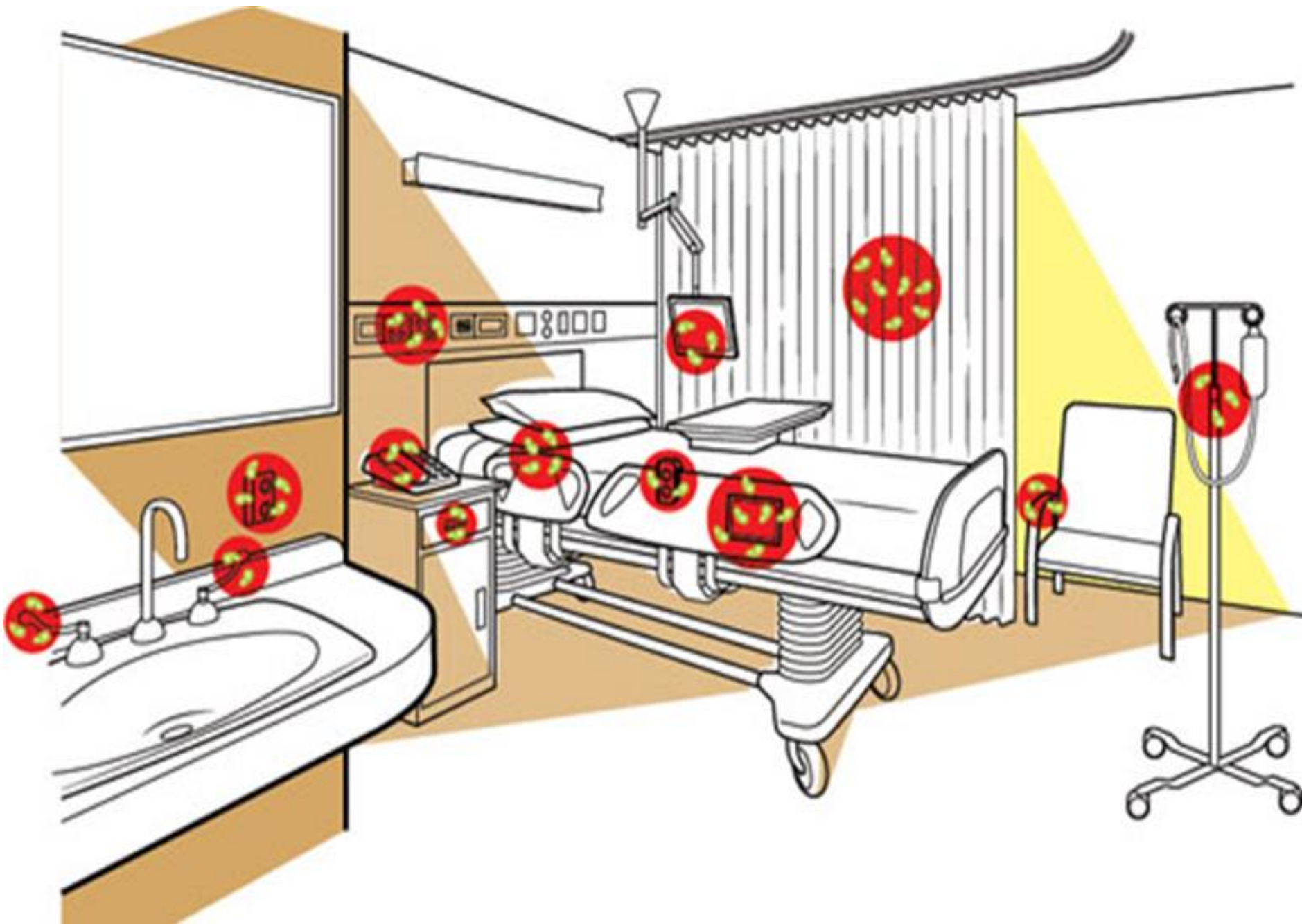
Lavado de Manos

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





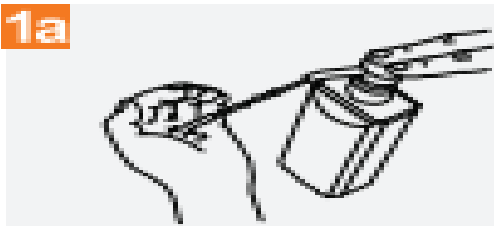
¿Cómo desinfectarse las manos?

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



Duración de todo el procedimiento: 20-30 segundos

1a



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

1b

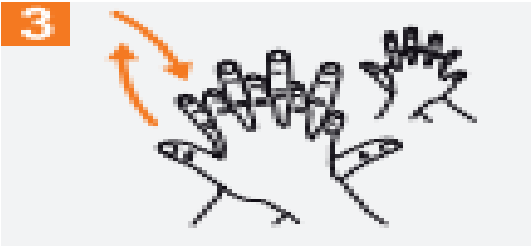


2



Frótese las palmas de las manos entre sí;

3



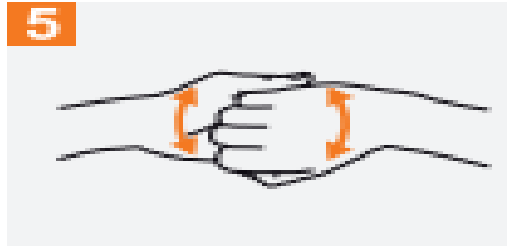
Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;

4



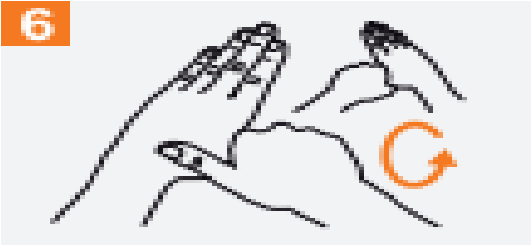
Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;

5



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

6



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

7



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

8



Una vez secas, sus manos son seguras.

InfectionControl.tips

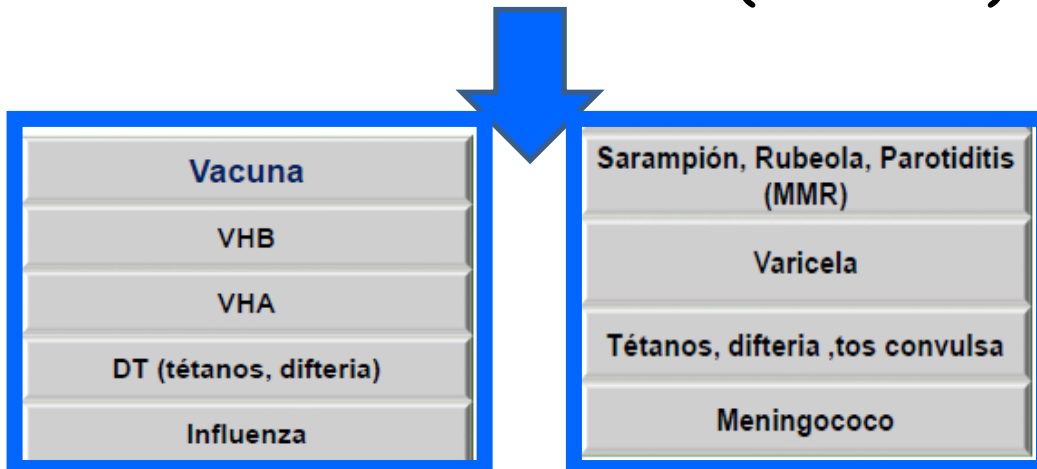


Uso de Barreras

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.

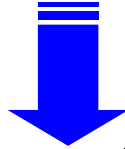
RESUMEN Y CONCLUSIONES

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.

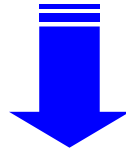
Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos

Diagnóstico microbiológico directo

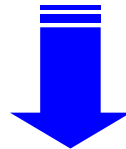
Muestra



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

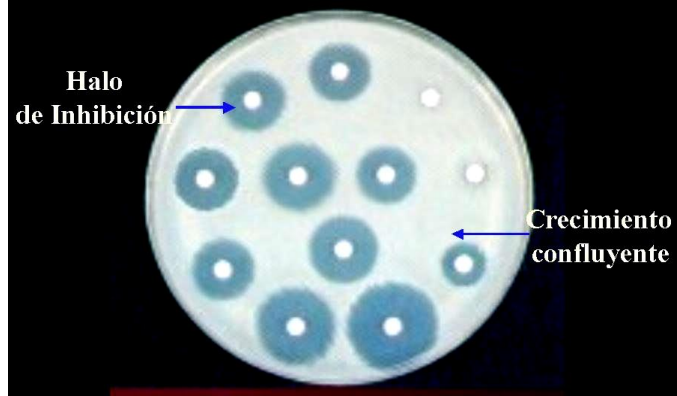
Concentración
Inhibitoria
Mínima (CIM)

Halo de
inhibición



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

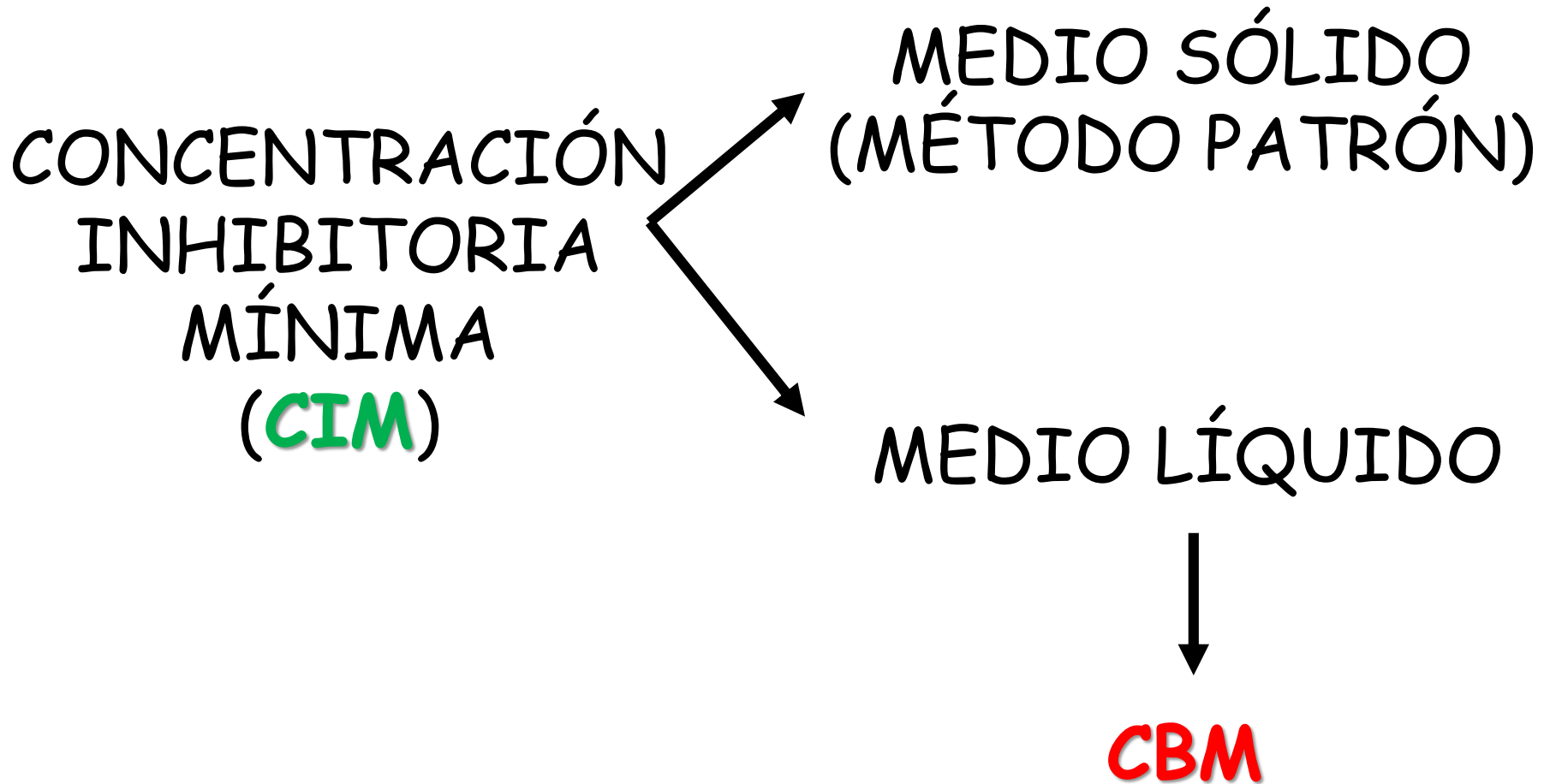
Bacterias fastidiosas

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

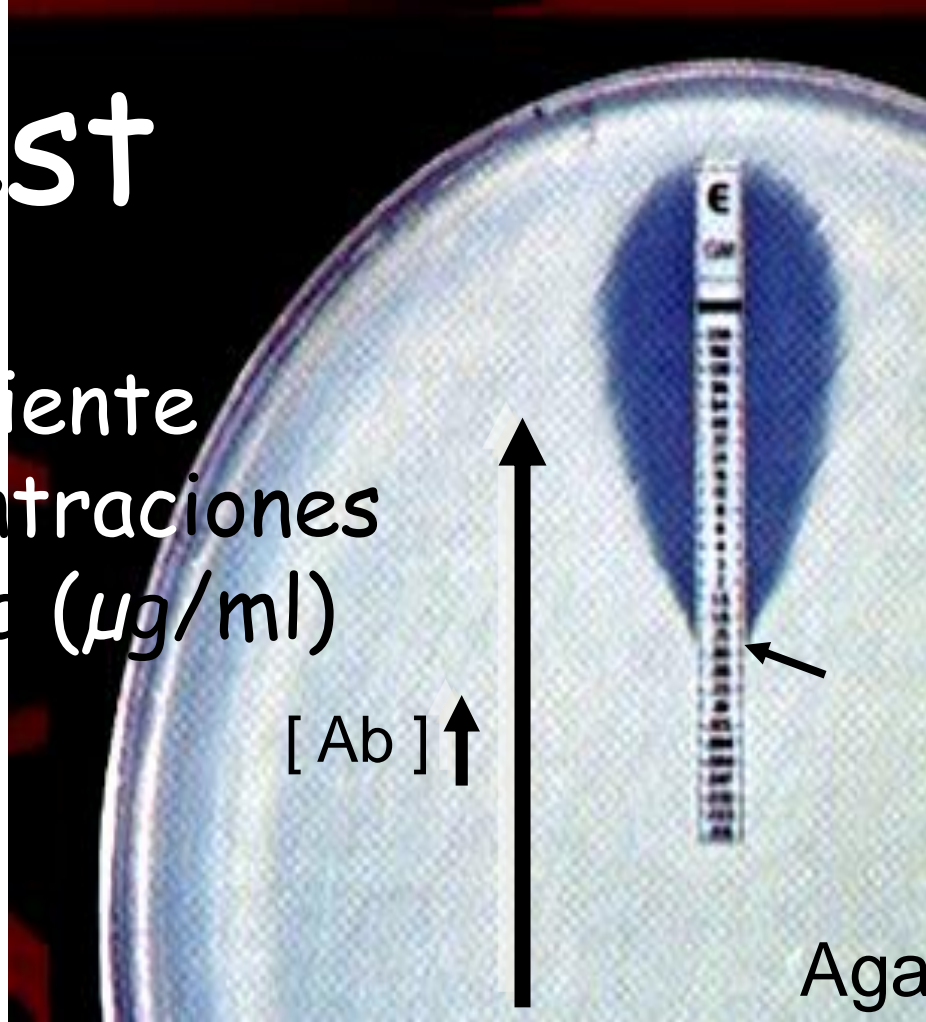
Para el tratamiento de las infecciones sistémicas debe administrarse una dosis del antibiótico que alcance una concentración en suero de 3 a 5 veces el valor de la CIM

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

E-Test

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

[Ab] ↑



Agar MH



Esta es la
CIM

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

Parámetros PK/PD

- Los modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) permiten mejorar la eficiencia del uso de los agentes antimicrobianos.
- La principal contribución de los parámetros PK/PD a la terapéutica antibiótica es la de minimizar el desarrollo de resistencias.
- Actualmente se utilizan 3 valores para estimar PK/PD
 - Área bajo la curva (ABC)
 - Tiempo por encima de la CIM
 - Efecto postantibiótico (EPA)

EFICACIA DE UN ANTIBIÓTICO

- Área bajo la curva (ABC)
- Tiempo por encima de la CIM
- Efecto postantibiótico (EPA)

EFICACIA DE UN ANTIBIOTICO

Parámetro	Antimicrobiano
C_{max}/CIM	Aminoglucósidos, fluorquinolonas, betalactámicos
ABC/CIM	Aminoglucósidos, fluorquinolonas, azitromicina, telitromicina, tetraciclinas, vancomicina, quinupristina/dalfopristina
Tiempo por encima de la CIM	Penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, eritromicina, monobactam, claritromicina, clindamicina, linezolid

RESUMIENDO.....

SI QUIERO MEDIR
SENSIBILIDAD

DIFUSION EN AGAR

Automatizados

MEDIO
SOLIDO

CIM

Epsilométricos

MEDIO
LÍQUIDO

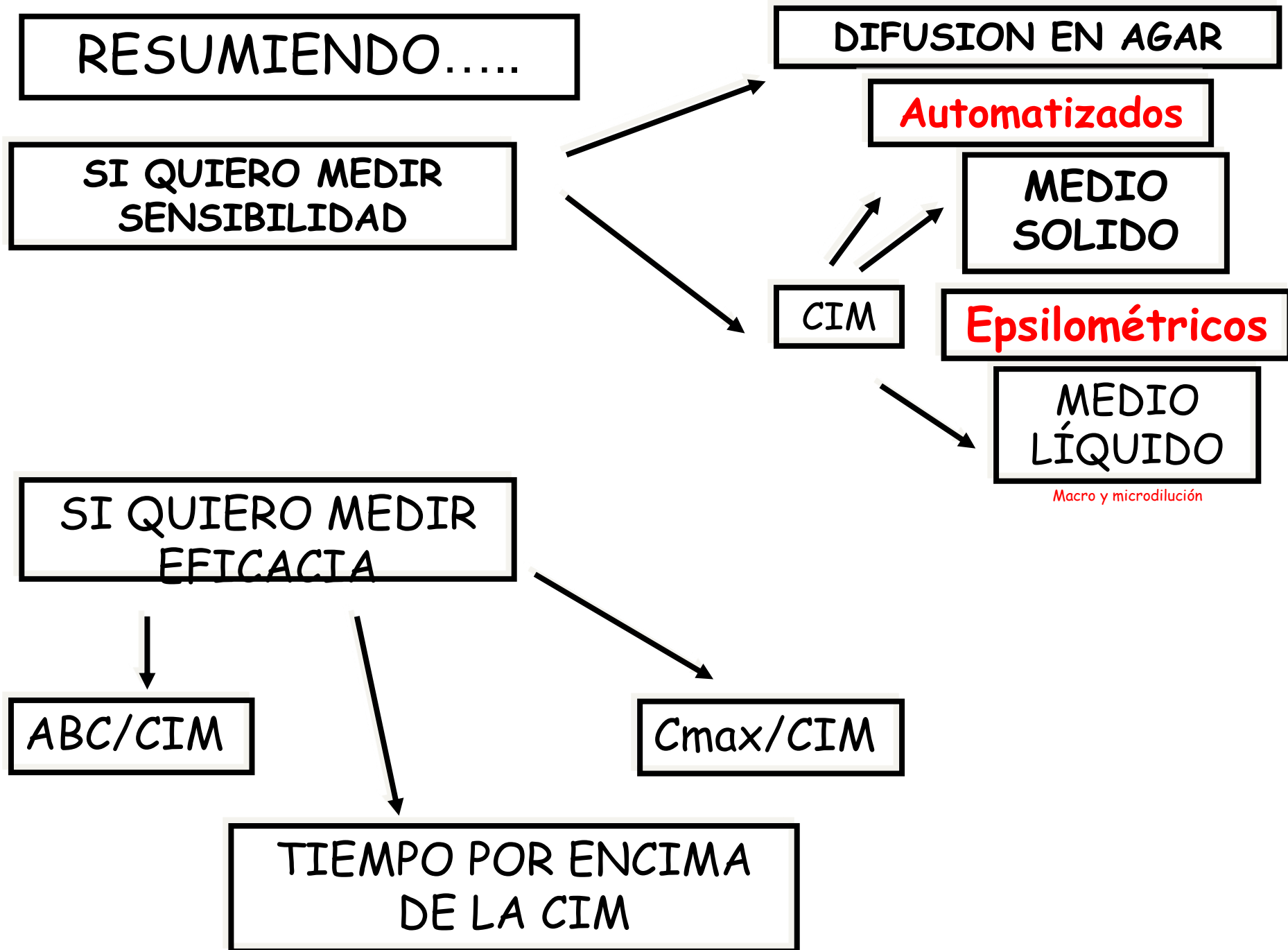
Macro y microdilución

SI QUIERO MEDIR
EFICACIA

ABC/CIM

Cmax/CIM

TIEMPO POR ENCIMA
DE LA CIM





UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología,
Parasitología e Inmunología

Microbiología II - General

Muchas gracias!