



**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

<u>MÉTODO</u>	<u>PRINCIPIO</u>
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

FILTRACIÓN

PRINCIPIO

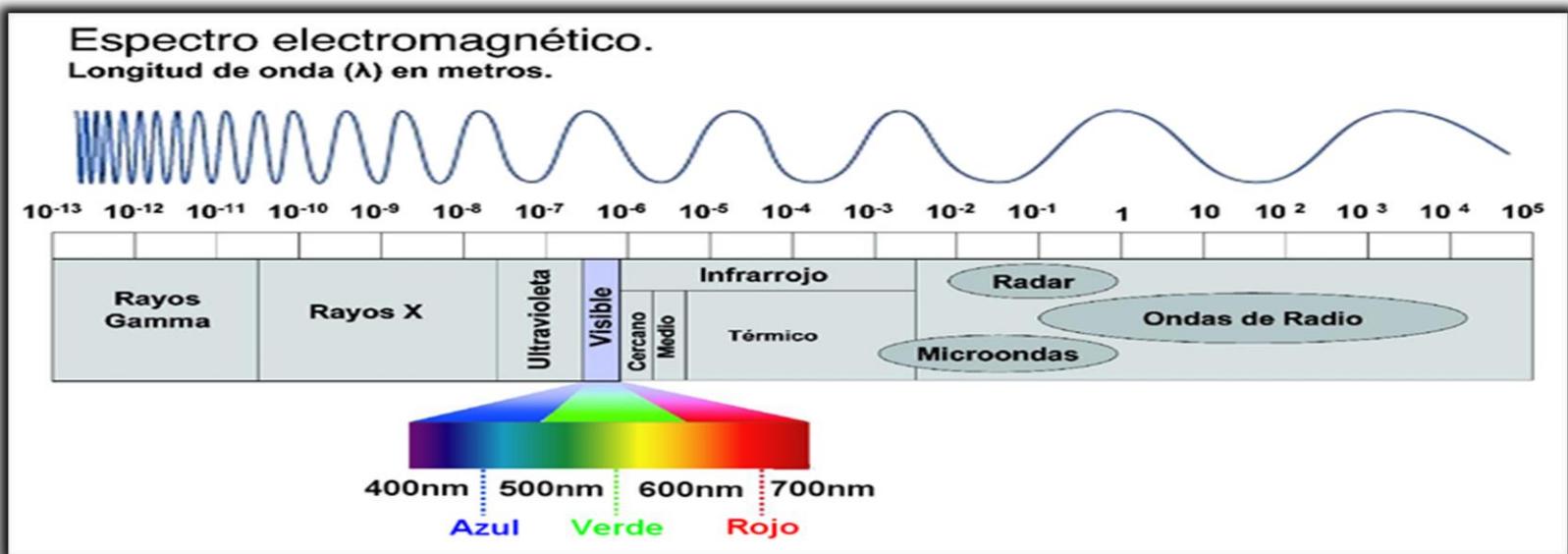
Pasaje de soluciones a través de membranas (antibióticos, químicos tóxicos, algunas vacunas).

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

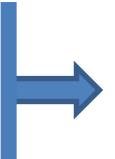
Se usa en concentraciones del 40%, eficaz contra virus y esporas.

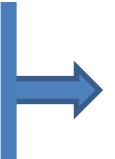
Métodos de DESINFECCIÓN

- Físicos

- Ebullición ($100^{\circ}\text{C} \times 30 \text{ min}$)

- Pasteurización (leche)

$65^{\circ}\text{C} 30 \text{ min}$ o  enfriamiento

$72^{\circ}\text{C} 15 \text{ seg.}$  rápido a 10°C

- Radiación UV

- Químicos

Nivel: alto - medio - bajo



Niveles de desinfectantes y antisépticos

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

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 nucléicos

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 M. tuberculosis, hongos y virus no lipídicos. No elimina esporas	Oxidantes: actúan a nivel de proteínas y ácidos nucléicos 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	<p>No eliminan esporas ni <i>M. tuberculosis</i>, ni hongos ni virus no lipídicos.</p> <p>Desinfecta ítems no críticos y Limpieza doméstica</p>	<p>*agentes catiónicos. Sobre m. p.</p> <p>**Inhiben la actividad enzimática por unión del Hg con los grupos sulfhidrilo de las mismas.</p>

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 CRITICOS** - 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

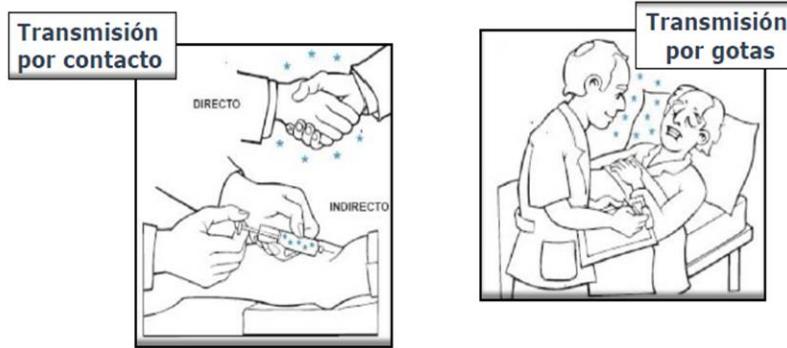
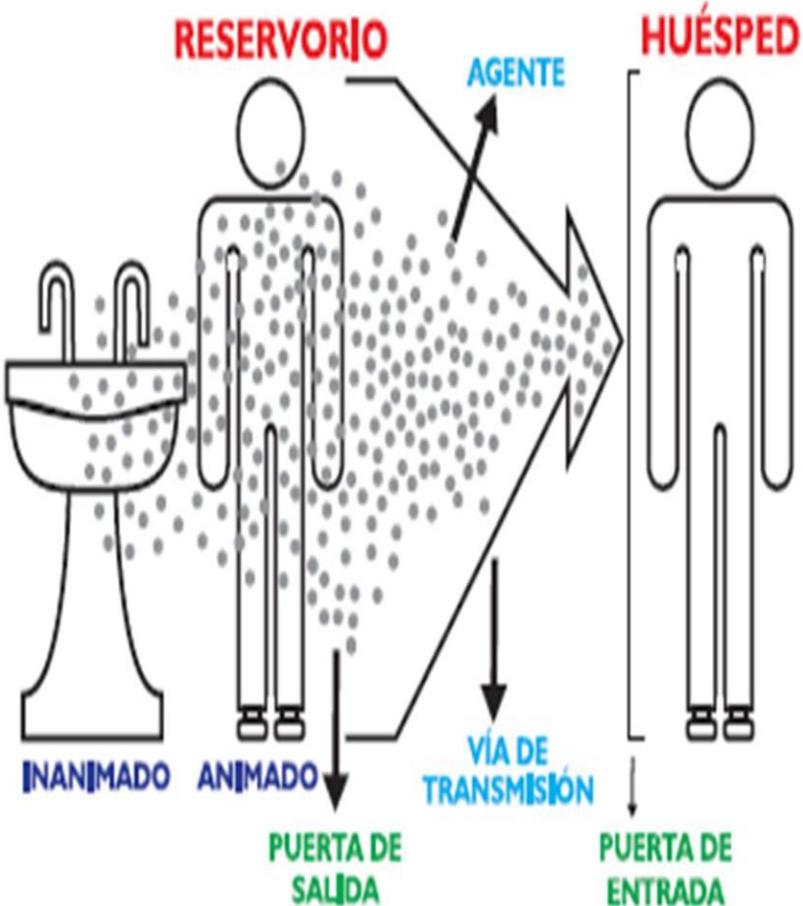
GRUPO 4: virus Junín,
virus Lassa,
virus de la fiebre aftosa,
virus Machupo.

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



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



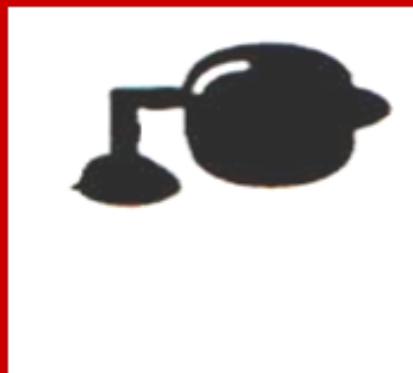
Camisolín/
Delantal



Barbijo y
Protección ocular



Resucitador



Descartador de
puncantes



No encapuchar
aqujas



Ropa y basura

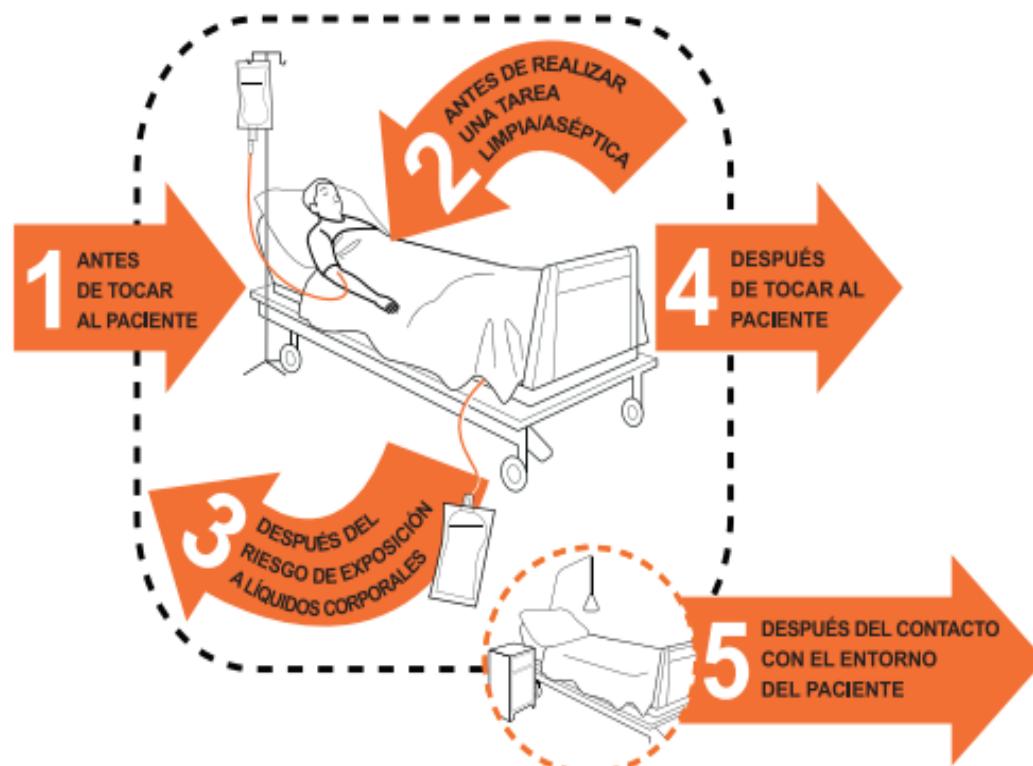


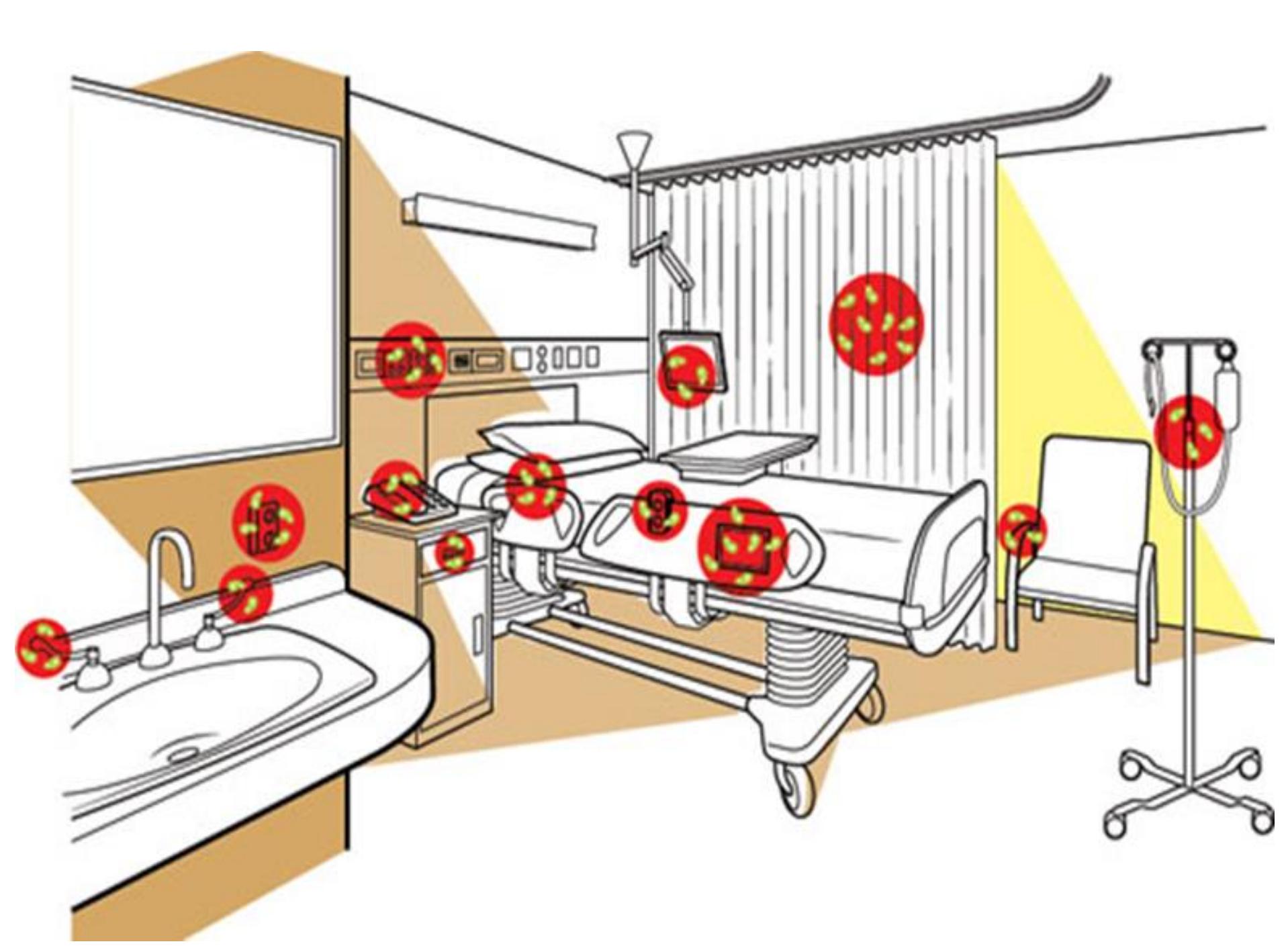
Lavado de Manos

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



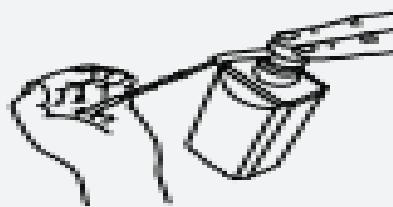


¿Cómo desinfectarse las manos?

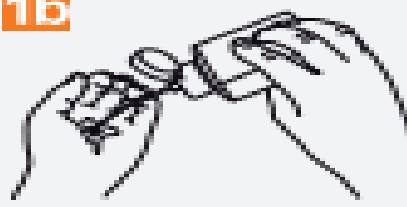
¡Desinfectese las manos por higiene! Lávese las manos solo cuando estén visiblemente sucias.

 Duración de todo el procedimiento: **20-30 segundos**

1a



1b



2



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

3



4



5



Frótense la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entretejiendo los dedos y viceversa;

6



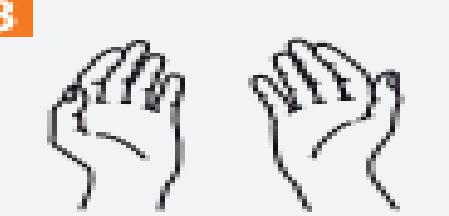
Frótense con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;

7



Frótense 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.



Uso de Barreras

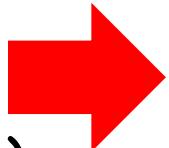
Son los elementos que protegen al personal de salud de la transmisión de infecciones.



Se clasifican en:

- Uso de barreras físicas
- Inmunización activa (vacunas)

Vacuna	Sarampión, Rubeola, Parotiditis (MMR)
VHB	Varicela
VHA	Tétanos, difteria ,tos convulsa
DT (tétanos, difteria)	Meningococo
Influenza	



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.

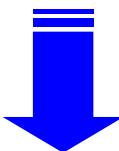
RESUMEN Y CONCLUSIONES

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.

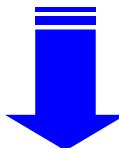
Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos

Diagnóstico microbiológico directo

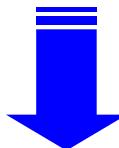
Muestra



Aislamiento
- Identificación-



Microorganismo patógeno



Pruebas de susceptibilidad antibiótica

Determinar la sensibilidad de una
cepa bacteriana a un determinado
antibiótico

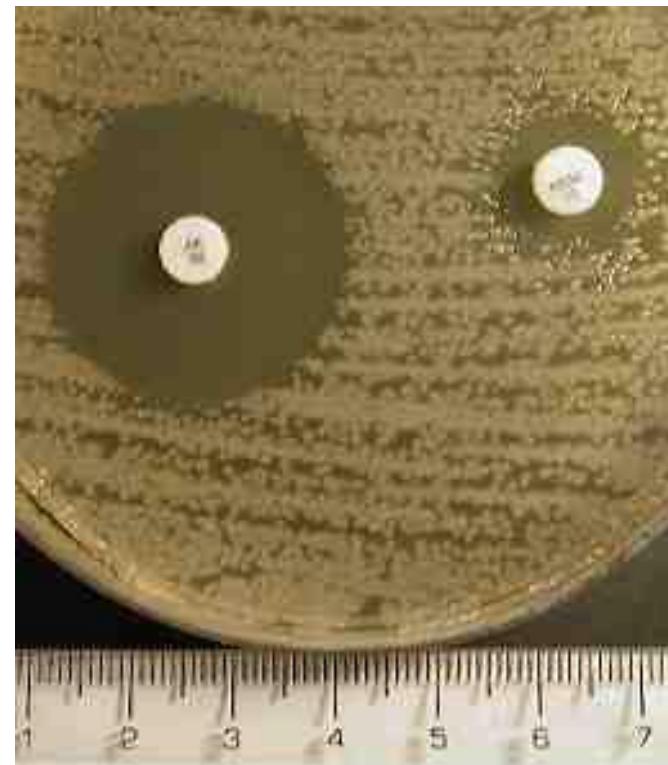
Difusión en agar

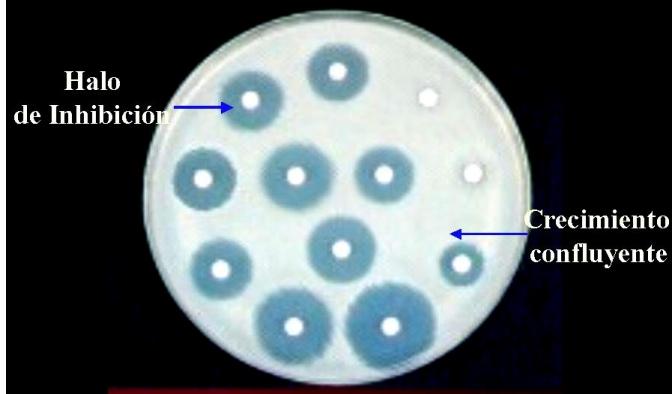
Concentración
Inhibitoria
Mínima (CIM)

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".

¿CUÁNDΟ USO LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER? DE RUTINA

¿EN QUÉ ESPECIES BACTERIANAS?

Bacterias de crecimiento rápido

Enterobacterias,

Staphylococcus spp.

Pseudomonas aeruginosa

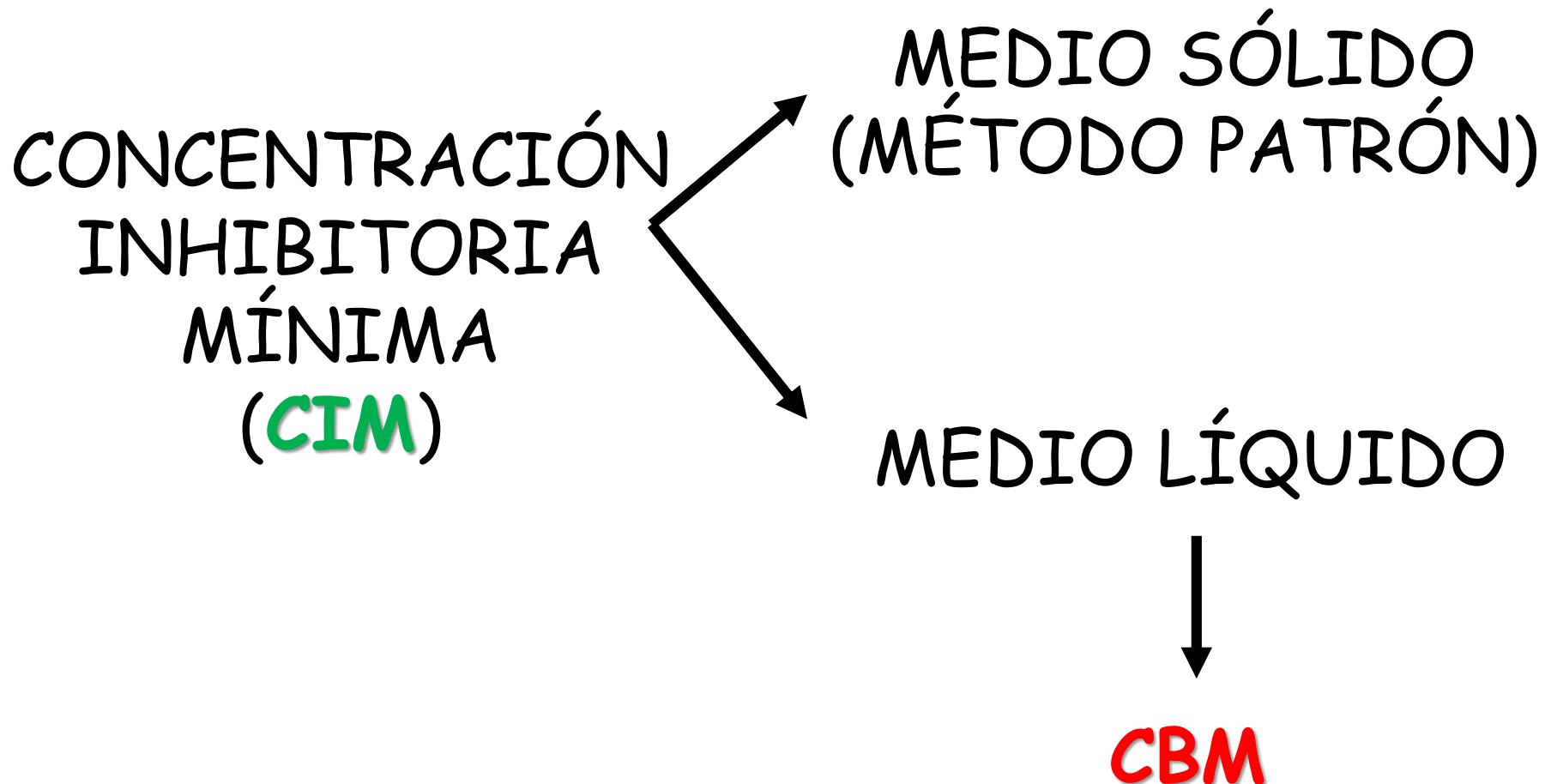
Bacterias fastidiosas

Neisseria gonorroheae 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] \uparrow

Agar MH

Esta es la CIM

32
24
16
8
6
4
3
2
1.5
1.0
0.75
0.5
0.38
0.25
0.19
0.125
0.094
0.064
0.047
0.032
0.023
0.016
0.012
0.008
0.006
0.004
0.003
0.002

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 postantibiotíco (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

SI QUIERO MEDIR
EFICACIA

ABC/CIM

C_{max}/CIM

TIEMPO POR ENCIMA
DE LA CIM

DIFUSION EN AGAR

Automatizados

MEDIO
SOLIDO

CIM

Epsilométricos

MEDIO
LÍQUIDO

Macro y microdilución



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología,
Parasitología e Inmunología

Microbiología II - General

Muchas gracias!