



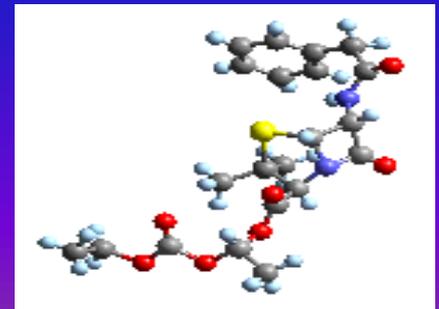
Tema I

Introducción al estudio de los agentes biológicos de importancia médica.

Efecto de los agentes físicos y químicos sobre los microorganismos.

Quimioterapia antimicrobiana. Resistencia bacteriana.

Colectivo de autores
Microbiología y Parasitología



Objetivos

- **Explicar los diferentes métodos de esterilización y desinfección que se usan en la práctica médica.**
- **Destacar las bases de la quimioterapia y su aplicación en la terapia anti-infecciosa.**
- **Describir los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.**
- **Interpretar los resultados de un antibiograma por métodos de difusión y dilución de acuerdo a las categorías de susceptibilidad establecidas.**

Contenidos

- ✓ **Agentes antimicrobianos. Modo posible de acción.**
- ✓ **Esterilización y desinfección. Agentes físicos y químicos.**
- ✓ **Quimioterapia. Toxicidad selectiva. Mecanismo de acción de los antimicrobianos.**
- ✓ **Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Resistencia cruzada.**
- ✓ **Prueba de susceptibilidad “in vitro” a los antimicrobianos.**

Bibliografía

- ✓ **Presentación digital.**
- ✓ **Microbiología y Parasitología Médicas. Llop, Valdés-Dapena, Zuazo.**

Tomo I cap. 9 págs. 73 – 79

cap. 10 págs. 81 – 90

cap. 11 págs. 91 – 99

Agentes antimicrobianos

Son aquellos utilizados para destruir o impedir el crecimiento de los microorganismos



Agentes antimicrobianos

La eficacia de estos agentes está condicionada por factores:

- ✓ Naturaleza y concentración del mismo
- ✓ Concentración y características de la población microbiana presente
- ✓ Temperatura, pH, presencia de materia orgánica
- ✓ Duración y tiempo de contacto entre el agente y los microorganismos
- ✓ Naturaleza del material a descontaminar

Agentes antimicrobianos



Físicos



Químicos

**Actúan sobre la
estructura de la
célula y sobre sus
procesos
metabólicos**

Agentes antimicrobianos: modos de acción

- **Desnaturalización de las proteínas**
- **Destrucción de la membrana o la pared**
- **Remoción de los grupos sulfidrilo libres**
- **Antagonismo químico**
- **Acción sobre el ADN**

Conceptos



Esterilización

**Destrucción o
remoción de
todas las
formas de vida**



Desinfección

**Remoción de los
microorganismos
patógenos**

Conceptos

Bactericidas

Bacteriostáticos

Desinfectantes

Antisépticos

Conceptos

Estéril: libre de vida

Séptico: Presencia de microorganismos patógenos en los tejidos vivos

Aséptico: Ausencia de microorganismos patógenos

Agentes físicos. Clasificación

Calor

Húmedo

Seco

Radiaciones

Ionizantes

No ionizantes

Filtración

Calor húmedo

↳ Desnaturalización de proteínas

↳ Destrucción de enzimas

↳ Alteración de la estabilidad de la membrana citoplasmática

Calor húmedo

- Ebullición
- Vapor libre (tindalización)
- Pasteurización (63 °C, 30 minutos o 72 °C, 15 segundos)

Leche



Cerveza



Vinos



Calor húmedo

➤ Vapor a presión (121°C, 15 minutos)



Ámpulas de bioindicadores



Cinta testigo, para evaluar el proceso

Calor seco

Coagulación de las proteínas

Oxidación de los componentes de la célula



Hornos
(160-180° C,
1-2 horas)



Radiaciones ionizantes

Gran poder de penetración

Actúan sobre proteínas y ácidos nucleicos

Ej. Rayos Gamma,
Rayos X



Radiaciones no ionizantes

```
graph TD; A[Radiaciones no ionizantes] --> B[Bajo poder de penetración]; A --> C[Actúan sobre estructuras celulares y sobre el ADN]; D[Ej. Rayos Ultravioletas];
```

Bajo poder de penetración

Actúan sobre estructuras celulares y sobre el ADN

Ej. Rayos Ultravioletas

Filtración

Remoción de microorganismos presentes en líquidos o gases a través de filtros



Agentes químicos. Clasificación

Con acción no selectiva



Desinfectantes



**Las bacterias desarrollan
poca resistencia**



Antisépticos

Con acción selectiva



Antibióticos



Quimioterápicos

Alcoholes

Precipitación de
proteínas

Solubilización de lípidos de
membrana



Antiséptico y
desinfectante

Fenol y sus derivados

Alteran la estructura
de la membrana

Desnaturalizan
proteínas

Fenol al 2% ➡ Desinfectante

Lisol ➡ Desinfectante

Hexaclorofeno ➡ Antiséptico



Agentes alquilantes

Sustitución de átomos de hidrógeno por grupos alquilo

Formaldehído (gas)

Desinfección y esterilización de ropas, ambientes y otros

Formalina

Solución para la conservación

Agentes alquilantes

Óxido de etileno



Acción penetrante



Permite esterilización
de materiales
empacados, plásticos y
gomas



Cámaras



Cámaras

Agentes oxidantes

Oxidam grupos
sulfidrilos libres

Peróxido de hidrógeno

Antiséptico



Yodo

Antiséptico



Agentes oxidantes

Cloro  Tratamiento de aguas

Hipoclorito  Tratamiento de aguas,
desinfección de objetos y
superficies, desinfección
de cristalería

Permanganato de
potasio (1/10000)  Antiséptico

Iones de metales pesados

Se combinan con los grupos sulfidrilo libres

Sales de mercurio
(a bajas concentraciones)

Antisépticos



Sales de plata

Ej. Argirol: Antiséptico

**Ej. Nitrato de plata:
Antiséptico
(Prevención de la oftalmía
gonocócica del recién nacido)**

Detergentes

```
graph TD; A[Detergentes] --> B[Alteran la función de la membrana]; A --> C[Se concentran en la interfase entre la membrana celular y el medio acuoso]; C --> D[Detergentes catiónicos  
Ej. Cloruro de benzalconio, cetrimida]; D --> E[Desinfectantes y antisépticos];
```

Alteran la función
de la membrana

Se concentran en la
interfase entre la
membrana celular y
el medio acuoso

Detergentes catiónicos
Ej. Cloruro de benzalconio, cetrimida

Desinfectantes y antisépticos

Detergentes aniónicos

Jabones



Detergentes sintéticos



**Colorantes.
Como antisépticos, con uso
restringido**

Verde malaquita



Violeta cristal



Azul de metileno



Antibióticos y Quimioterapéuticos

Quimioterápicos:

Productos químicos que tienen alguna o total acción sobre los MO, bien de inhibición, como de exterminio.

Toxicidad selectiva:

Es cuando un medicamento resulta nocivo para un parásito e inocuo para el hospedero.

Mecanismos de acción

Acción selectiva

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular.
2. Inhibición de la función de la membrana celular.
3. Inhibición de la síntesis proteica.
4. Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos.

Inhibición de la síntesis de la pared celular

Antibiótico

Se une

Proteínas de la membrana citoplasmática

Impide el transporte de los péptidos que conforman la estructura del peptidoglicano

La pared se debilita

Lisis

Antibióticos que actúan por esta vía: Beta lactámicos

Penicilinas

Penicilina G

Ampicilina

Amoxicilina

Oxacilina

Meticilina

Ticarcilina

Cefalosporinas

Cefazolina

Cefalexina

Cefuroxima

Cefotaxima

Ceftriazona

Cefepima

Inhibición de la función de la membrana celular

Antibiótico

Se une

Superficie de la membrana citoplasmática

Lisis

Altera su estructura y propiedades osmóticas



Antibióticos que actúan por esta vía:

➤ Polimixinas



➤ Antifúngicos

Nistatin

Anfotericin B

Inhibición de la síntesis proteica



Antibióticos que actúan por esta vía:

Cloramfenicol
Eritromicina
Tetraciclina

Kanamicina
Gentamicina
Amikacina

Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos.



Antibióticos que actúan por esta vía:

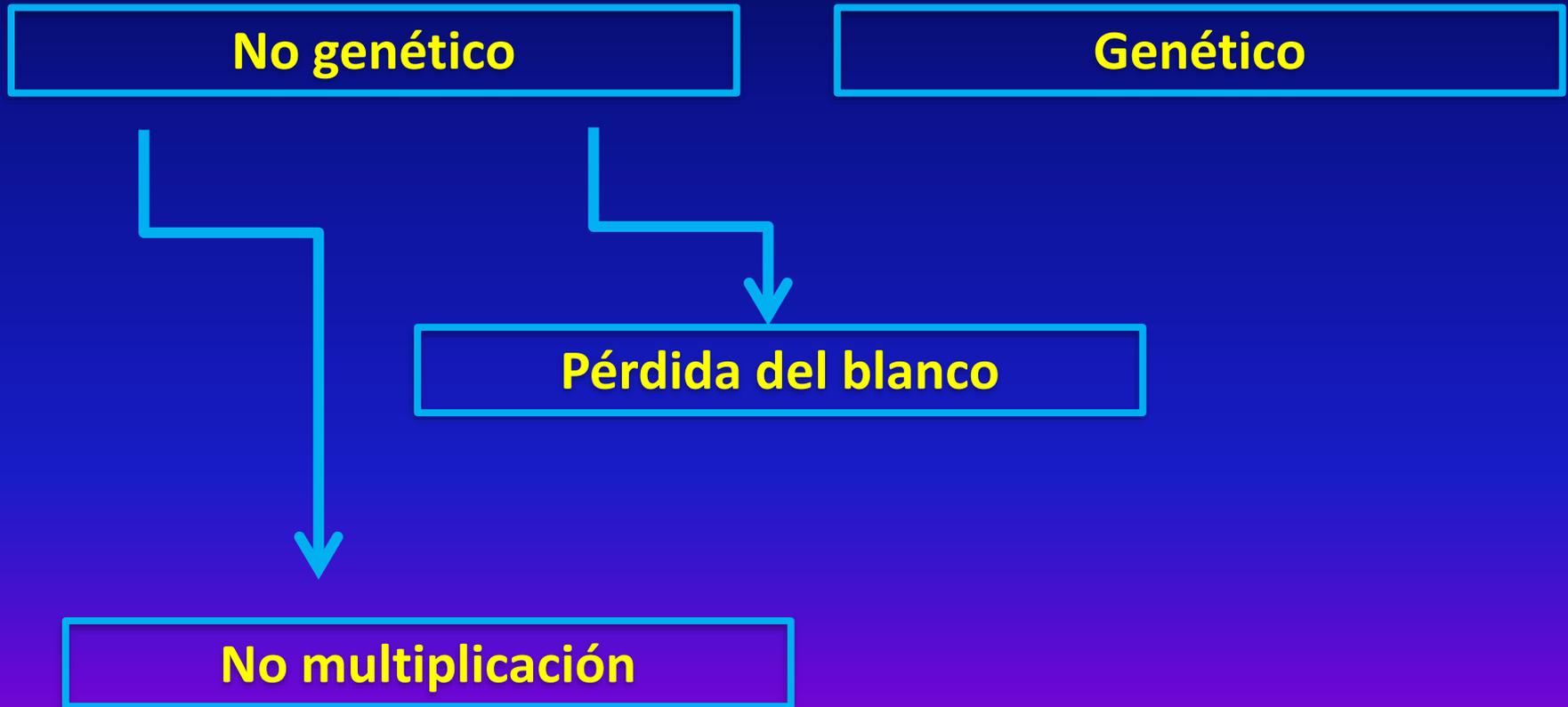
Rifampicina

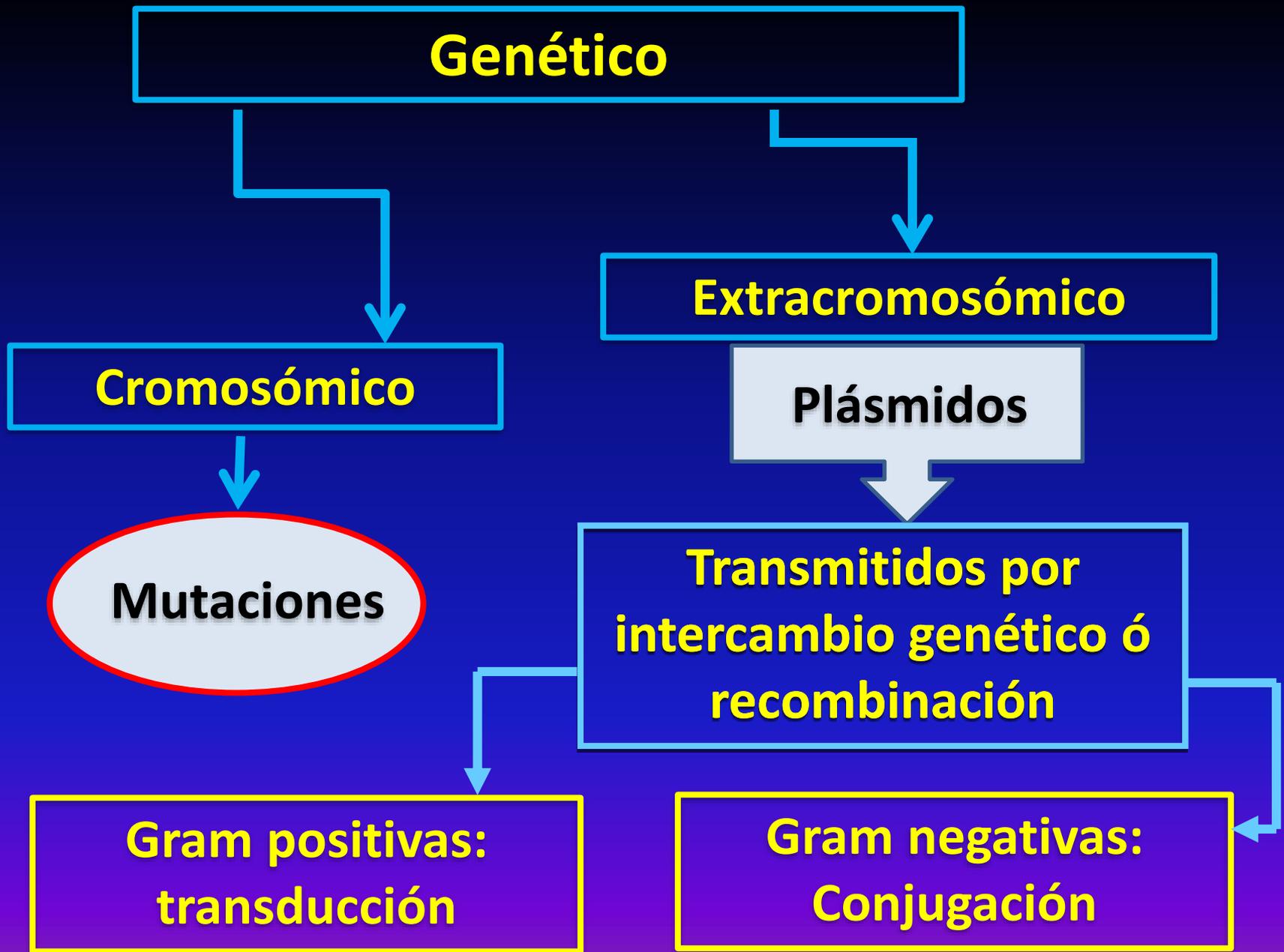
Ácido nalidíxico

Ciprofloxacina

Norfloxacina

Mecanismos de resistencia de las bacterias a los antibióticos y quimioterapéuticos





Genético

Cromosómico

Mutaciones

**Gram positivas:
transducción**

Extracromosómico

Plásmidos

**Transmitidos por
intercambio genético ó
recombinación**

**Gram negativas:
Conjugación**

Resistencia cruzada:

- ✓ **Propiedad que presentan algunos MO que pueden ser resistentes a un antibiótico determinado y también a otros medicamentos que compartan algún mecanismo de acción.**
- ✓ **Esta relación existe de modo principal entre estructuras químicas análogas (Aminoglucósidos) o que tienen un modo semejante de acción o fijación (Macrólidos y Lincomicina)**

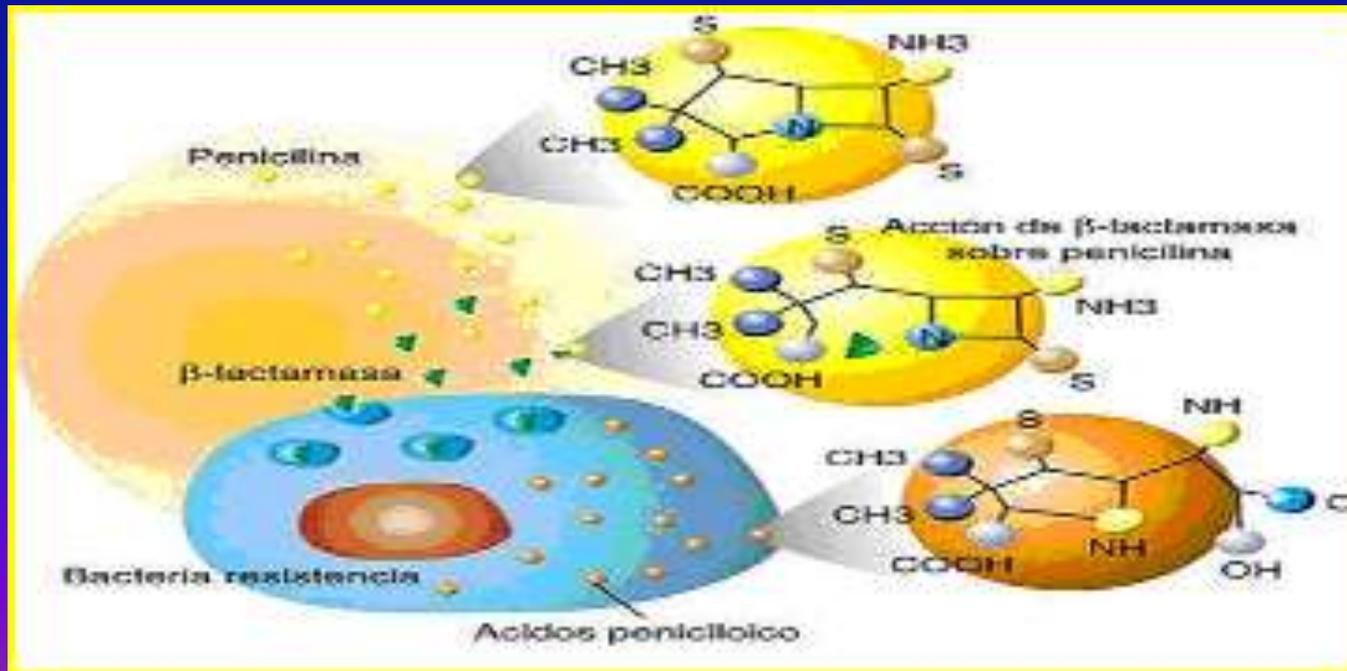
Mecanismos de resistencia

1. Inactivación enzimática

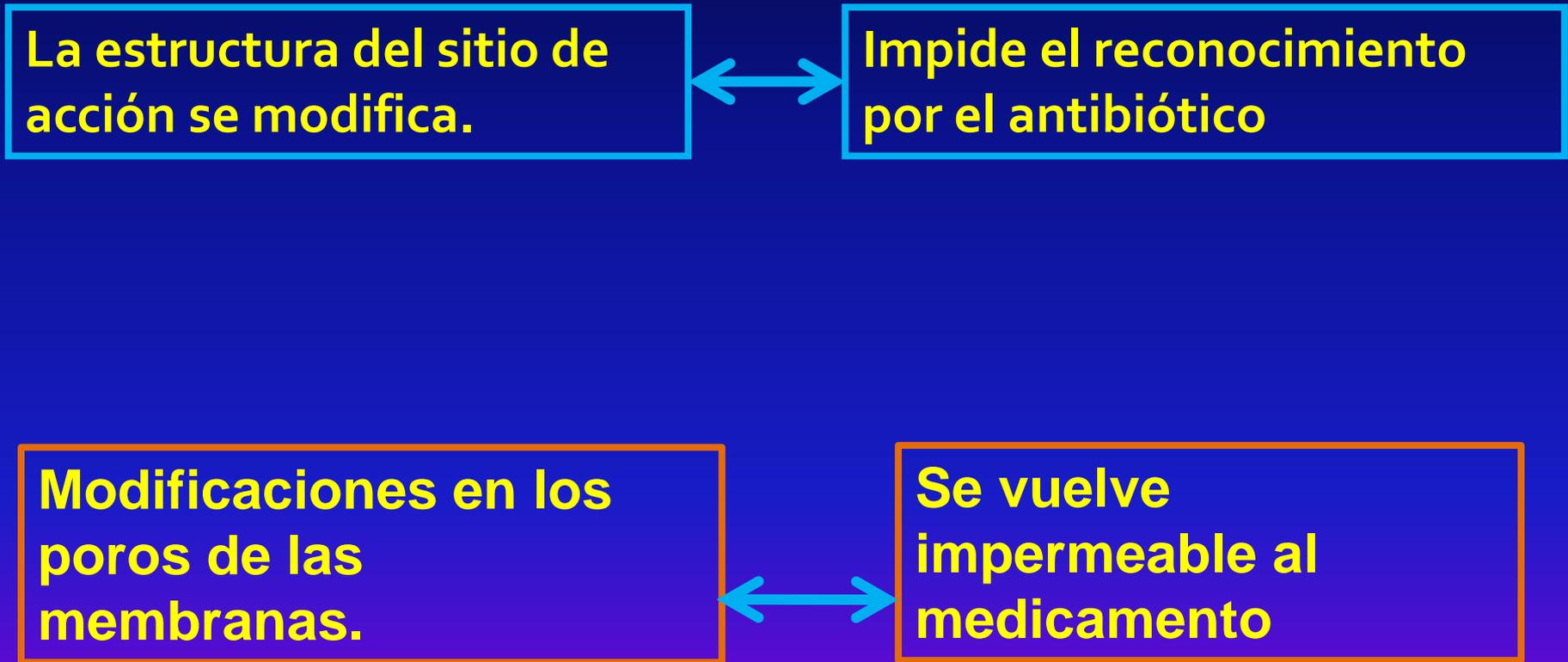
β lactamasas

Inactivan

Antibióticos
 β lactámicos

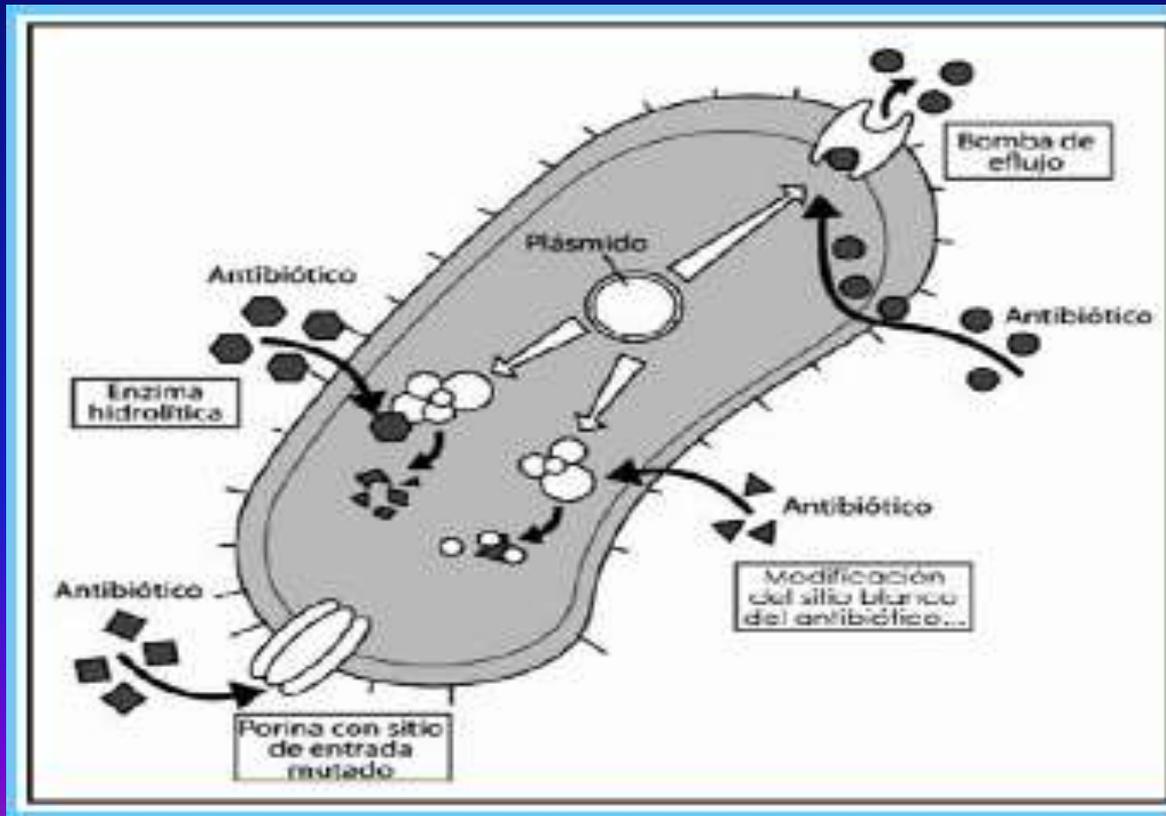


2. Modificaciones estructurales en los blancos o sitios de acción.



3. Desarrollo de bombas de eflujo activo.

Producen proteínas especializadas en extraer el antibiótico del interior de la célula.



Prueba de susceptibilidad
a los antimicrobianos.

Las pruebas que miden la susceptibilidad a los antimicrobianos se conocen con el nombre genérico de **ANTIBIOGRAMA**.

Un Antibiograma consiste en...

Enfrentar un microorganismo a una concentración conocida de una droga antimicrobiana para evaluar su efecto midiendo el crecimiento microbiano a una temperatura y tiempos dados y comparándolos con un estándar de referencia

Todos los métodos de laboratorio conocidos se basan en diluir o hacer difundir el antibiótico que se va evaluar en un medio de cultivo específico donde posteriormente se cultiva el microorganismo de prueba.

Algunos métodos combinan ambos principios (difusión y dilución) como el E-test.

Otros, son métodos automatizados de fundamento variable en dependencia del sistema empleado.

Las categorías de susceptibilidad son...

SUSCEPTIBLE: (S)

Significa que el microorganismo causante del proceso infeccioso debe responder exitosamente al tratamiento con ese antibiótico a las dosis habituales recomendadas y por una vía apropiada.

MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE O INTERMEDIO: (MS o I)

Significa que el microorganismo solo se inhibirá por la droga, si ésta se aplica en una dosis máxima y utilizando una vía parenteral.

Salvo excepciones, estos medicamentos no deben seleccionarse para el tratamiento, sobre todo aquellos casos en los que la dosis terapéutica está muy cercana a los rangos de toxicidad.

RESISTENTE: (R)

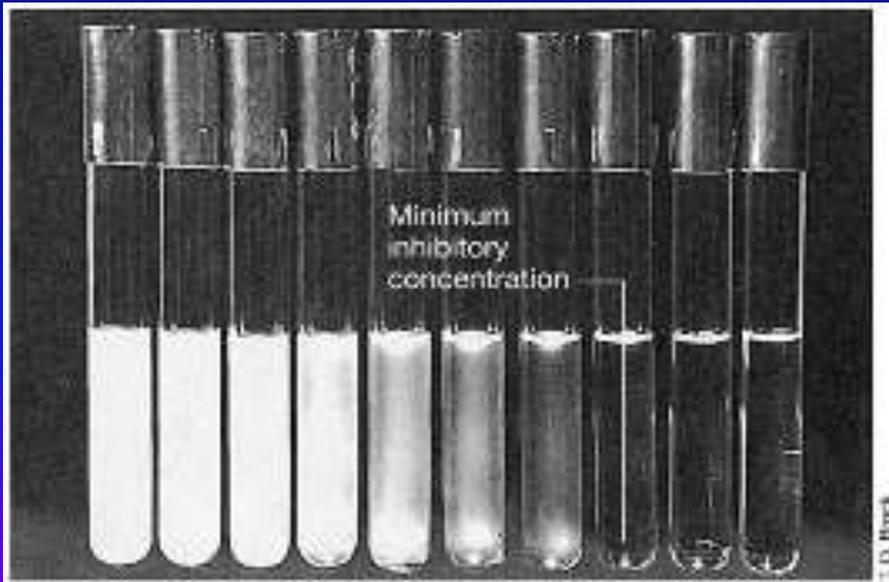
Significa que el microorganismo no se inhibirá a las concentraciones séricas habitualmente alcanzadas por la droga cuando ésta se administra a la dosis y por la vía recomendadas.

Los métodos de susceptibilidad...

El Método de macrodilución en caldo:

- ❖ Fue el primero que se diseñó y constituye el método de referencia.
- ❖ Se realiza en tubos que contienen un caldo de cultivo apropiado (Caldo de Mueller-Hinton).
- ❖ En ellos se realizan diluciones sucesivas del antibiótico partiendo de una concentración conocida del mismo
- ❖ Luego, los tubos se inoculan con igual cantidad de inóculo del microorganismo de prueba y se incuban durante 18 – 24 horas a 37° C, tiempo al cabo del cual se realiza la lectura.

Lectura: Se realiza a simple vista, identificando el tubo con la menor concentración del antibiótico en la cual hay total ausencia de turbidez indicadora de no crecimiento bacteriano.



**De derecha a izquierda:
el tubo número 3 sería
en la serie el identificado
con la menor
concentración en la cual
no existe crecimiento
microbiano visible.**

La menor concentración del antibiótico identificada en la cual no se observa crecimiento microbiano, se conoce como la **concentración mínima inhibidora** y se identifica por las siglas **CMI** que se expresa en $\mu\text{g/ml}$.

Supón que en este ejemplo se partió de una concentración del antibiótico equivalente a $128 \mu\text{g/ml}$ (primer tubo de la serie de derecha a izquierda)

En el tubo 2 habría una concentración de $64 \mu\text{g/ml}$ y el tubo 3 tendría entonces una concentración de $32 \mu\text{g/ml}$. Esta sería en este caso la CMI para ese antibiótico.

Este resultado se compara con estándares de referencia creados al efecto internacionalmente por el que se determina entonces, que categoría de susceptibilidad se corresponde con esta concentración para ese antibiótico en específico.

Informe del Laboratorio...

El laboratorio informará el nombre del antibiótico y a continuación el valor de la CMI obtenido seguido entre paréntesis de la categoría de susceptibilidad correspondiente.

Ejemplo: Penicilina: 32 µg/ml (R)

Ventajas del método: Bastante exacto

Desventajas: Gran complejidad de realización y elevado costo

Método de microdilución en caldo:

Es el mismo método llevado a microtécnica.

Se realiza en placas de microtitulación de fondo plano.

Tiene como ventajas que emplea una pequeña cantidad de recursos y mayor factibilidad de realización.

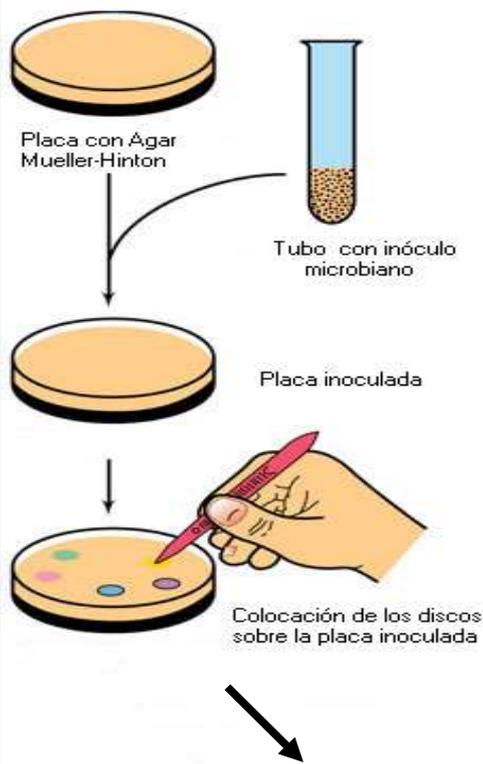
Se considera el ideal para monitorear el tratamiento antimicrobiano en el paciente grave.

Muchos métodos automatizados tienen actualmente como base esta variante.

Método de difusión de Bauer-Kirby:

Es el internacionalmente recomendado para la práctica hospitalaria de rutina por su gran sencillez y bajo costo, aunque es necesario señalar que puede estar sujeto a múltiples errores técnicos por lo que debe ser seguido a través de un exhaustivo control de la calidad.

Observa el siguiente diagrama...



Aquí de una forma muy simple se esquematizan los pasos de que consta el montaje de un antibiograma por el método de difusión de Bauer-Kirby, llamado así precisamente en honor a sus diseñadores.

Al concluir este paso se realiza la incubación y posteriormente la lectura...

LECTURA:



Aquí puedes apreciar los halos de inhibición alrededor de cada disco.

Observa como cada uno puede tener un diámetro diferente o sencillamente no poseer prácticamente ninguno.

En este momento se procederá a medir con una regla plana el diámetro de cada uno de estos halos en milímetros.

Cada resultado se anotará para luego compararlo con los datos de las tablas con los valores de referencia creados al efecto para así determinar las categorías de susceptibilidad.

El laboratorio informará...

El nombre del antibiótico y seguidamente la categoría de susceptibilidad correspondiente.

Ejemplo: Penicilina: R

Ejemplo de tabla con valores de referencia para determinar las categorías de susceptibilidad por métodos de difusión.

Antibiótico	Contenido del disco (μg)	Tamaño del diámetro (mm)		
		R	I	S
Ampicilina	10	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Cefazolina	30	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Ceftriaxone	30	≤ 13	14 – 20	≥ 21
Gentamicina	10	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Tetraciclina	30	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Ciprofloxacina	5	≤ 15	16 – 20	≥ 21
Cloramfenicol	30	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Fosfomicina	200	≤ 12	13 – 15	≥ 16