

TEMA 2. CONTROL DE MICROORGANISMOS POR AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS.

- > CONTROL DE LOS MICROORGANISMOS .
CONCEPTOS.
- > CONTROL POR AGENTES FÍSICOS. TIPOS Y MODOS
DE ACCIÓN.
 - > Calor.
 - > Radiaciones.
 - > Filtración.
- > CONTROL POR AGENTES QUÍMICOS. TIPOS Y
MODOS DE ACCIÓN.
 - > Desinfectantes y Antisépticos.
 - > Análogos de los factores de crecimiento.
 - > Antibióticos.
- > TRABAJO CON AGENTES BIOLÓGICOS

CONTROL DE MICROORGANISMOS. CONCEPTOS

Control de los microorganismos = Inhibición del crecimiento o destrucción de los microorganismos.

Inhibición del crecimiento = Reducción del crecimiento

Control no necesariamente igual a eliminación

CONTROL DE MICROORGANISMOS. CONCEPTOS

- > **Esterilización** = Muerte o eliminación del medio de todos los organismos vivos o sus virus. Destrucción de las formas viables.
- > **Desinfección** = Destrucción de formas vegetativas de los microorganismos más comunes pero no las esporas mediante de un agente químico. Productos químicos excesivamente tóxicos. Sobre agentes inanimados.

CONTROL DE MICROORGANISMOS. CONCEPTOS

- > **Asepsia** = Ausencia de microorganismos de un objeto o área.
- > **Antisepsia** = Proceso que destruye las formas vegetativas de los microorganismos patógenos más comunes, pero no sus esporas, presentes en el cuerpo, etc.

CONTROL DE MICROORGANISMOS. CONCEPTOS

- **Desinfectante** = Producto químico para la desinfección de objetos inanimados.
- **Antiséptico** = Agente químico de baja toxicidad para eliminar microorganismos sobre tejidos vivos.

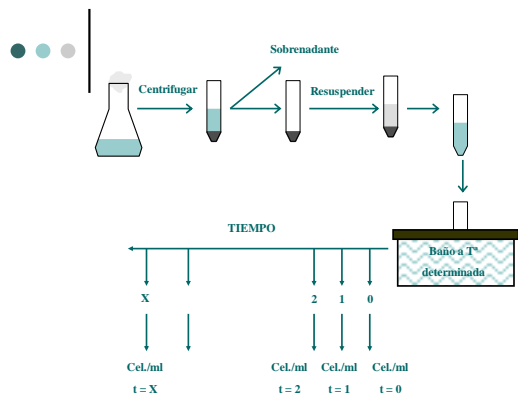
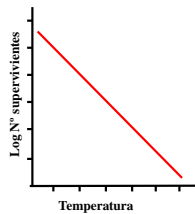
Control por agentes físicos

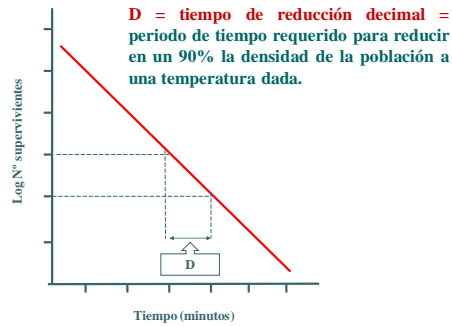
- **Calor**
 - Calor húmedo
 - Calor seco
 - Incineración
- **Radiaciones electromagnéticas**
 - Radiaciones ionizantes
 - Radiaciones ultravioletas
- **Filtración**

CONTROL POR AGENTES FÍSICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

Calor

- **Muerte por calentamiento** = función exponencial de primer orden. Se produce más rápidamente al ir elevando la temperatura.

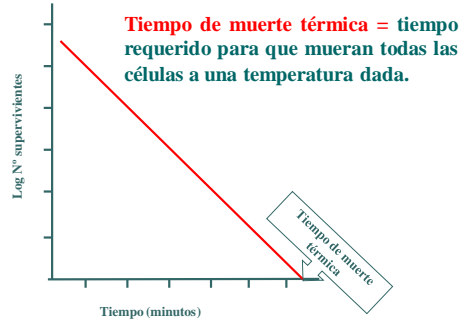




CONTROL POR AGENTES FÍSICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

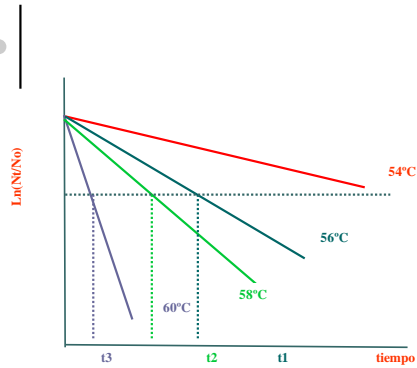
Calor

- > **Muerte por calentamiento** = función exponencial de primer orden. Se produce más rápidamente al ir elevando la temperatura.
- > **D = tiempo de reducción decimal** = periodo de tiempo requerido para reducir en un 90% la densidad de la población a una temperatura dada.
- > **Tiempo de muerte térmica** = tiempo requerido para que mueran todas las células a una temperatura dada.



CONTROL POR AGENTES FÍSICOS. Factores que afectan a la esterilización por calor

- > **Temperatura alcanzada.**
- > **Tiempo, duración del proceso.**
- > **Densidad celular.**
- > **Medio de suspensión del microorganismo.**
- > **Tipo celular:** célula vegetativa o espora.



CONTROL POR AGENTES FÍSICOS.

Factores que afectan a la esterilización por calor

- Temperatura alcanzada.
- Tiempo, duración del proceso.
- **Densidad celular.**
- Medio de suspensión del microorganismo.
- Tipo celular: célula vegetativa o espora.

Medio de suspensión del microorganismo

- pH ácido.
- Concentraciones elevadas de azúcares, proteínas o grasas.
- Sequedad
- Concentraciones elevadas de sal

CONDICIONES PARA DESTRUIR MICROORGANISMOS

Calor húmedo

Organismo	Células vegetativas	Esporas
Levaduras	5 minutos a 50-60°C	5 minutos a 70-80°C
Hongos filamentosos	30 minutos a 60-70°C	30 minutos a 80°C
Bacterias mesófilas	10 minutos a 60-70°C	Depende del tipo bacteriano: 2 minutos - >13 h a 100°C
Virus	30 minutos a 60°C	0,5-12 minutos a 121°C

CONTROL POR AGENTES FÍSICOS.

Calor húmedo

Más eficaz que el calor seco.

- > Agua hirviendo (100°C)
- > Autoclave (>100°C)
- > Esterilización fraccionada (<100°C)
- > Pasteurización (<100°C)

Autoclave

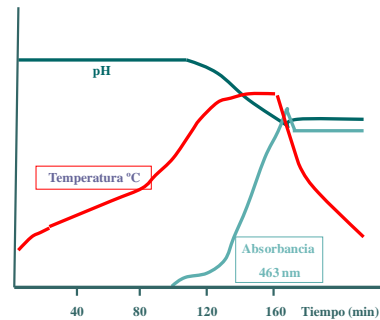


Mano Plancha, Instituto para Microbiología, Cultivos Celulares, and Diagnóstico, UNL.
URL: <http://www.unl.edu.pe/igp-01/>

Calor húmedo

Autoclave

- > Efecto por elevación de la temperatura al someter el vapor de agua a presión.
- > 1,1 kg/cm² de presión de vapor = 121°C y con un tiempo de permanencia de 10-20 minutos.
- > Objeto voluminoso o el volumen de medio grande, transferencia de calor al interior más lenta, por tanto, tiempo de permanencia mayor.



Calor húmedo Autoclave

- La esterilidad depende de:
 - naturaleza del material a esterilizar
 - tipo de envase utilizado
 - volumen del material a esterilizar
- Limitaciones debidas a:
 - termolabilidad de ciertos materiales o componentes del medio
 - presencia de sustancias inmiscibles en agua
 - accesibilidad del vapor

Calor húmedo

Esterilización fraccionada (Thyndalización)

- Presencia de sustancias termolábiles que están contaminados con microorganismos esporógenos.
- Varios ciclos de tratamiento a temperatura no superior a los 100°C, intervalos de incubación entre los ciclos de 1 ó varios días.
- NO se desnaturalizan los componentes termolábiles y SI se destruyen las formas vegetativas.

Calor seco

- Introducir el material de vidrio u otros materiales termorresistentes en un Horno Pasteur
- Calentar a 160-180°C durante 2 h.
- Material perfectamente empaquetado.

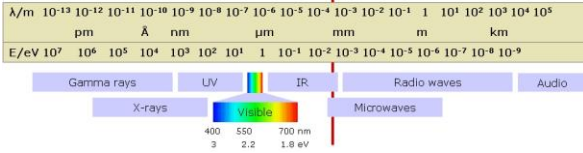
Incineración

- Llama de mechero. > 2.500°C.
- Incineradores eléctricos.
- Hornos crematorios.

**CONTROL POR AGENTES FÍSICOS.
TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.**

Radiaciones electromagnéticas

The Electromagnetic Spectrum



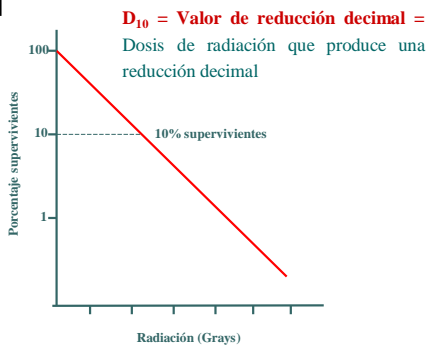
http://simple.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_spectrum#/media/File:The_Electromagnetic_spectrum.jpg

Wikimedia Commons

Radiaciones

- Longitud de onda más larga que la luz visible (Microondas, Infrarrojos)
 - Bajo poder energético
 - No son directamente letales
 - Efecto indirecto debido al calor
- Longitud de onda más corta que la luz visible (Ionizantes, UV)
 - Muy germicidas

Radiaciones

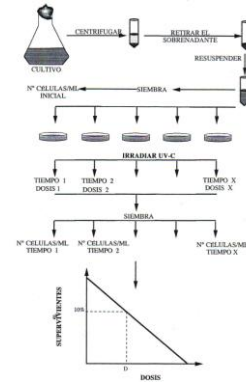


UV-C

- 260 nm = Pico máximo de absorción del ADN = Longitud de onda de UV-C
- Formación de dímeros de pirimidina.
- Efecto desinfectante depende de:
 - Dosis aplicada, $D = I t$
 - Densidad celular
 - Medio en el que se irradian las células
 - Profundidad de la solución a esterilizar
 - Sensibilidad de los microorganismos

UV-C

- 260 nm = Pico máximo de absorción del ADN = Longitud de onda de UV-C
- Formación de dímeros de pirimidina.
- Efecto desinfectante depende de:
 - Dosis aplicada, $D = I t$
 - Densidad celular
 - Medio en el que se irradian las células
 - Profundidad de la solución a esterilizar
 - Sensibilidad de los microorganismos

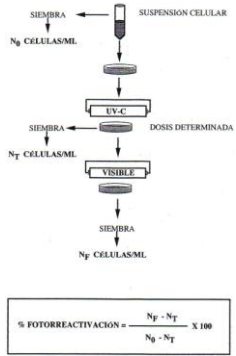


UV-C

- 260 nm = Pico máximo de absorción del ADN = Longitud de onda de UV-C
- Formación de dímeros de pirimidina.
- Efecto desinfectante depende de:
 - Dosis aplicada, $D = I t$
 - Densidad celular
 - Medio en el que se irradian las células
 - Profundidad de la solución a esterilizar
 - Sensibilidad de los microorganismos

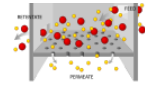
UV-C

- Fotorreactivación del ADN
 - Depende de la luz de longitud de onda 380-450 nm
 - ADN fotoliasa
- Escisión fotoquímica de dímeros de pirimidina
 - Reparación por escisión de nucleótidos
 - Eficaz bajo iluminación y oscuridad
 - Numerosos enzimas implicados



Filtración

- Líquidos (componentes) termosensibles y gases
- Retención de microorganismos
 - Diversos mecanismos
 - Tamaño de poro
 - Composición del filtro
 - Trama del filtro

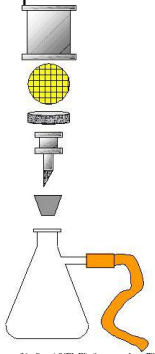


Filtración
<http://www.orkinmedia.org/wiki/Filtration> @agron.org/india/ag

Wikimedia Commons



Filtración



Wikimedia Commons
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Filtration_001_0000001.JPG

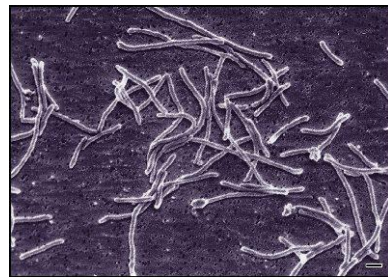


Wikimedia Commons
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Berck_fry_disposable_filtration_set_Catalog_01.jpg?width=300

Wikimedia Commons



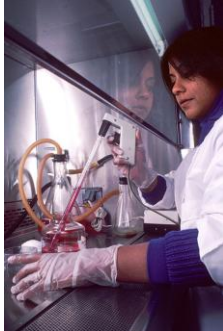
Filtración



Wikimedia Commons
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Microscopic_image_of_filtration_medium_after_filtration_of_bacterial_suspension

Wikimedia Commons

Filtración



John Crivello. *Specialized Culture Techniques*, an agency part of the *Department of Health*, with the ID 220
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1412387/>

Wikimedia Commons

CONTROL POR AGENTES QUÍMICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

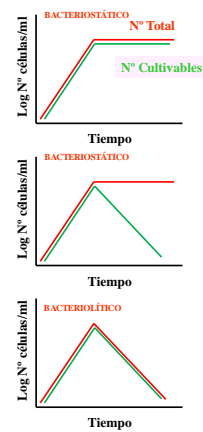
Agente antimicrobiano = producto químico que **mata** o **inhibe** el crecimiento de los microorganismos.

CONTROL POR AGENTES QUÍMICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

Agente estático = No mata, **inhibe** el crecimiento (**bacteriostático**, **fungistático** y **viristático**).

Agente microbicida = **Mata** a los microorganismos (**bactericidas**, **fungicidas** y **viricidas**).

Agente lítico = **Elimina** las células (rotura o lisis celular).



CONTROL POR AGENTES QUÍMICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

Toxicidad selectiva = Tóxico para un estrecho grupo de células.

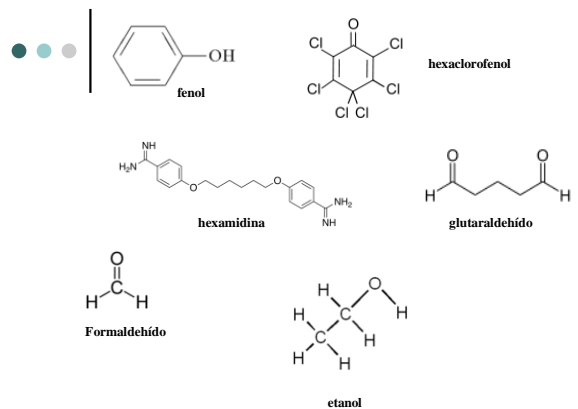
Agente quimioterapéutico = Agente antimicrobiano que presenta toxicidad selectiva. Tratamiento de enfermedades infecciosas.

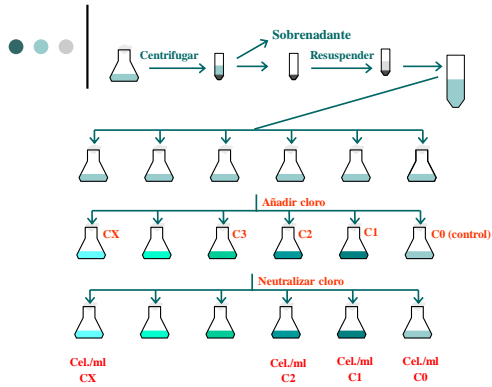
CONTROL POR AGENTES QUÍMICOS. TIPOS Y MODOS DE ACCIÓN.

- > **Desinfectantes y Antisépticos**
- > **Análogos de los factores de crecimiento**
- > **Antibióticos**

DESINFECTANTES

- > Desinfección de **objetos inanimados**
- > Diferentes modos de acción
- > Tratamiento de materiales sensibles al calor (hospitales)
- > Tratamiento de aguas de bebida, de aguas de piscina, de aguas residuales, etc
- > **Esterilización en frío**





ANTISÉPTICOS

- Suficientemente no tóxicos como para ser aplicados a los tejidos vivos
- Diferentes modos de acción

DESINFECTANTES vs ANTISÉPTICOS

- Algunos compuestos son antisépticos y desinfectantes
- Neutralizados (*consumidos*) por compuestos orgánicos
- Concentraciones microbicidas no se mantienen durante periodos de tiempo largos
- Penetración limitada
- Esporas resistentes

DESINFECTANTES vs ANTISÉPTICOS

- Algunos compuestos son antisépticos y desinfectantes
- Neutralizados (*consumidos*) por compuestos orgánicos
- Concentraciones microbicidas no se mantienen durante periodos de tiempo largos
- Penetración limitada
- Esporas resistentes

ANÁLOGOS DE FACTORES DE CRECIMIENTO

- > Estructuralmente similares a factores de crecimiento
- > Suficientemente diferentes como para bloquear la función del factor de crecimiento
- > Sulfanilamida = ácido p-aminobenzóico (ácido fólico)
- > Bromouracilo = timina
- > p-fluorfenilalanina = fenilalanina

ANTIBIÓTICOS

Sustancias químicas **producidas por** ciertos **microorganismos** que **inhiben** el crecimiento **o matan a otros microorganismos**

> Clasificación:

- > Posibilidad de utilización en Medicina
- > Estructura química
- > Modo de acción
- > Organismo diana

Posibilidad de utilización en Medicina

Antibióticos de amplio espectro = actúan sobre diferentes grupos de microorganismos

Antibióticos de corto espectro = actúan sobre un único grupo de microorganismos, incluso sobre una única especie

Estructura química

Antibióticos que contienen carbohidratos: vancomicina, estreptomina,

Lactonas macrocíclicas: eritromicina,

Quinonas y antibióticos relacionados: tetraciclinas,

Aminoácidos y antibióticos peptídicos: penicilina, cicloserina,

Antibióticos heterocíclicos que contienen nitrógeno: polioxinas,

Derivados alicíclicos: cicloheximida,

Antibióticos aromáticos: cloranfenicol, griseofulvina,

Modo de acción

Interfieren en la síntesis de la pared celular

Inhiben la síntesis de proteínas

Inhiben la síntesis de ácidos nucleicos

Alteran la membrana celular

Organismo diana

- Antibacteriano
- Antimicótico
- Antiviral

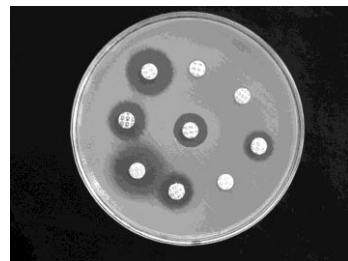
Pruebas de susceptibilidad ANTIBIOGRAMAS

Determinan la cantidad de compuesto que se requiere para matar o inhibir el crecimiento de un microorganismo

> Método de difusión en placa (Técnica de Kirby-Bauer)

> Método de dilución en caldo

Método de difusión en placa (Técnica de Kirby-Bauer)



Wikipedia
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibiotic_diffusion.jpg?usq=11

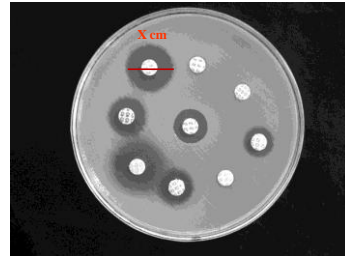
Método de difusión en placa E-test



http://commons.wikimedia.org/wiki/File:E-test_Vancomycin_S_strip.jpg

Wikimedia Commons

Método de difusión en placa (Técnica de Kirby-Bauer)

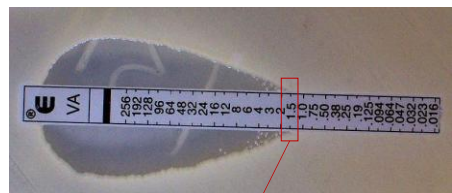


http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibiograma_disk_diffusion.jpg?using=cs

Wikimedia Commons

Método de difusión en placa (Técnica de Kirby-Bauer)

Antimicrobiano	Conc.	Diámetro mm			
		Resistente	Intermedio	Suscep. Moderado	Susceptible
Amikacina	30 µg	≤14	15-16	-	≥17
Ampicilina	10 µg	≤11	12-13	-	≥14
--staphylococci		≤28	-	-	≥29
--enterococci		≤16	-	≥17	-
--streptococci	≤21	-	22-29	-	≥30
Cefoperazona	75 µg	≤15	-	16-20	≥21
Ciprofloxacino	5 µg	≤15	16-20	-	≥21
Erytromicina	15 µg	≤13	14-22	-	≥23
Gentamicina	10 µg	≤12	13-14	-	≥15
Imipenem	10 µg	≤13	14-15	-	≥16
Oxacilina	1 µg	≤10	11-12	-	≥13
--Pneumococci		≤19	-	-	≥20
Penicilina G	10 units	≤28	-	-	≥29
--enterococci		≤14	-	≥15	-
--Streptococci		≤19	-	20-27	≥28
Piperacilina	100 µg	≤14	15-17	-	≥18
Tetraciclina	30 µg	≤14	15-18	-	≥19
Vancomicina	30 µg	≤9	10-11	-	≥12

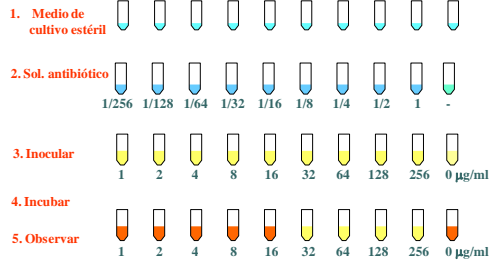


http://commons.wikimedia.org/wiki/File:E-test_Vancomycin_S_strip.jpg

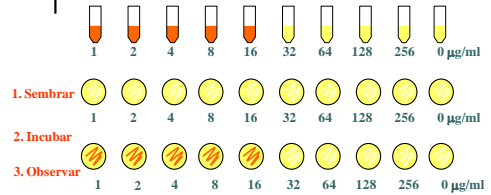
CMI = Concentración Mínima Inhibitoria

Wikimedia Commons

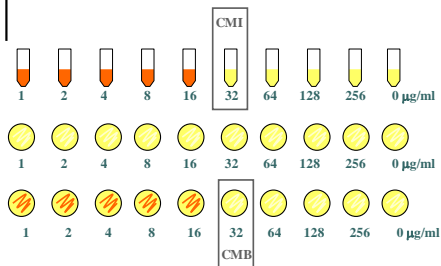
Método de dilución en caldo



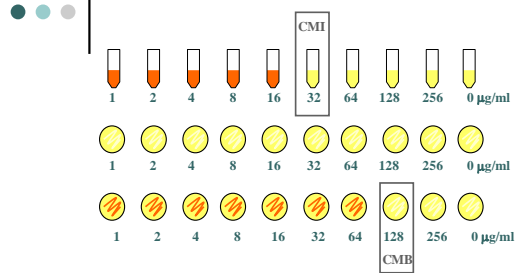
Concentración mínima bactericida (CMB)



Concentración mínima bactericida (CMB) = en ausencia de antimicrobiano, primera concentración para la que no se anota crecimiento.



CMI = CMB = antimicrobiano bactericida



CMI < CMB = antimicrobiano bacteriostático

ESTERILIZACIÓN

Eliminación (muerte) de **TODOS** los microorganismos

TODO el material utilizado ha de ser esterilizado: medio de cultivo, pipetas, asas de siembra, etc.

Los cultivos y el material empleado han de ser esterilizados **antes** de eliminarlos o limpiarlos

TÉCNICAS DE ESTERILIZACIÓN

CALOR: material resistente a altas temperaturas.

- > **Calor húmedo** (121°C 15'): medios de cultivo, filtros, plástico termorresistente.
- > **Calor seco** (160-180°C, 2h): material de vidrio.
- > **Incineración** (2500°C): asas de siembra, papel, etc.

FILTRACIÓN: líquidos termosensibles, gases.

COMPUESTOS QUÍMICOS: área de trabajo, superficie corporal, cultivos a eliminar, etc.

Indique el método de control de microorganismos que utilizaría con los siguientes materiales:

Cultivos contaminados:
Calor húmedo/Autoclave/121°C 20'
 Medio de cultivo que contiene leche:
 Medio de cultivo: **Autoclave/121°C 20'**
 Leche: **Pasteurización**
 Matraces de vidrio vacíos:
Calor seco/Estufa
 Solución de vitaminas:
Filtración

Superficie de trabajo en la campana de siembra:

Desinfectante no corrosivo

Tubos Eppendorf:

Autoclave/ 115°C 15'

Solución concentrada de glucosa:

Filtración

Etanol 98:

-

Indique el método de control de microorganismos que utilizaría con los siguientes materiales:

Zumo de frutas:

Pasteurización

Bata de laboratorio:

Autoclave o Desinfectante

Superficie de trabajo en la mesa de laboratorio:

Desinfectante (hipoclorito sódico)

Puntas de pipeta automática:

Autoclave

Pinzas de plástico:

Autoclave

Asa de siembra:

Incineración (llama)

Filtros:

Autoclave

Jeringas con restos de sangre:

Incineración

● ● ● Clasificación Agentes Biológicos

NIVEL 1: Poco probable que cause enfermedad en el hombre.

NIVEL 2: Patógeno que puede causar enfermedad en el hombre. Poco probable que se propague a la colectividad. Existen medidas profilácticas y tratamientos eficaces.

NIVEL 3: Patógeno que puede causar enfermedad grave en el hombre. Riesgo de propagación a la colectividad. Existen profilaxis y tratamiento eficaces.

NIVEL 4: Patógeno que causa enfermedad grave en el hombre. Muchas probabilidades de propagación. No existen generalmente profilaxis y tratamientos eficaces.

● ● ● Protección Agentes Biológicos

NIVEL 1: Medidas higiénicas básicas.

NIVEL 2, 3 y 4: Medidas higiénicas básicas más medidas de reducción de riesgos.

- Diseño y ubicación del lugar de trabajo.
- Instalaciones especiales:
 - cabinas de seguridad biológica: clase I, II ó III (nivel 4)
- Condiciones de trabajo.
- Protecciones personales.
- Métodos de trabajo.
- Gestión de residuos.

● ● ● Protección Agentes Biológicos

Real Decreto 664/97 de 12 de Mayo sobre la Protección de los Trabajadores contra los Riesgos Relacionados con la Exposición a Agentes biológicos durante el Trabajo

Ley 9/2003, de 25 de abril, sobre la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, y en el Real Decreto 178/2004, de 31 de enero, por el que se aprueba el reglamento general que la desarrolla.