

# MICROBIOLOGÍA

## UNIDAD VIII CONTROL DEL CRECIMIENTO MICROBIANO

**Agentes antimicrobianos. Bacteriostáticos, fungistáticos y virustáticos. Bactericidas, fungicidas y antivirales. Tipos de lesión celular: Pared celular, lesión en membrana celular, desnaturalización de proteínas, lesión en ADN y ARN. Métodos de esterilización y asepsia. Acción de los agentes físicos, químicos y biológicos sobre los microorganismos. Desinfección por agentes físicos. Temperatura. Esterilización por calor: Incineración, Tindalización, Vapor a presión (autoclaves). Radiaciones. Punto térmico mortal (PTM). Tiempo térmico mortal (TTM). Tiempo de Reducción Decimal (TRD). Desinfección por agentes químicos: fenol, halógenos. Detergentes. Metales pesados. Quimioesterilizadores gaseosos.**

# CRECIMIENTO



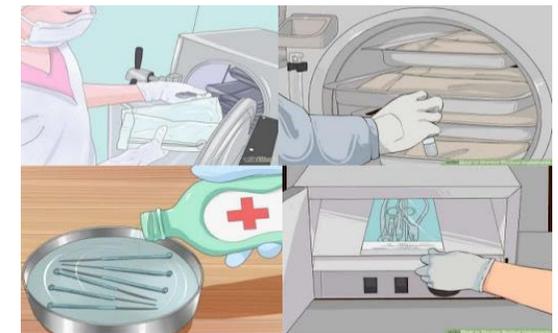
- ❖ En microbiología se define como un incremento en el número de células.
- ❖ La célula microbiana tiene un período de vida finito y la especie sólo se mantiene como resultado del crecimiento continuo de la población.
- ❖ El conocimiento de cómo las poblaciones microbianas crecen rápidamente es muy útil para el diseño de métodos de control del crecimiento microbiano.



# ESTERILIZACIÓN

**ELIMINACIÓN de TODOS los organismos de un objeto.**

En la práctica, a menudo NO se puede alcanzar la esterilidad, pero en muchos casos los microorganismos se pueden controlar de forma eficaz limitando su crecimiento mediante el proceso de inhibición.





## DESCONTAMINACIÓN

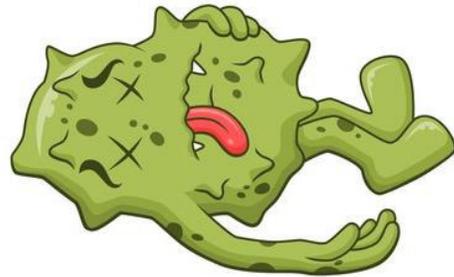
Eliminación o reducción física o química de la contaminación en general, que puede incluir agentes patógenos, sustancias químicas o materiales peligrosos para hacer un área segura para su uso. Ej. pasarle un trapo húmedo a una mesa después de comer **ELIMINA** los microorganismos y sus potenciales nutrientes.

## DESINFECCIÓN

Eliminación de microorganismos **PATÓGENOS** (bacterias, arqueas, virus y hongos), de superficies, objetos o ambientes. Se centra en la reducción del riesgo de infección al matar o inactivar los microorganismos presentes, aunque es posible que **NO ELIMINE** todos los microorganismos.

## DESINFECTANTES QUÍMICOS O FÍSICOS

### MATANDOLOS



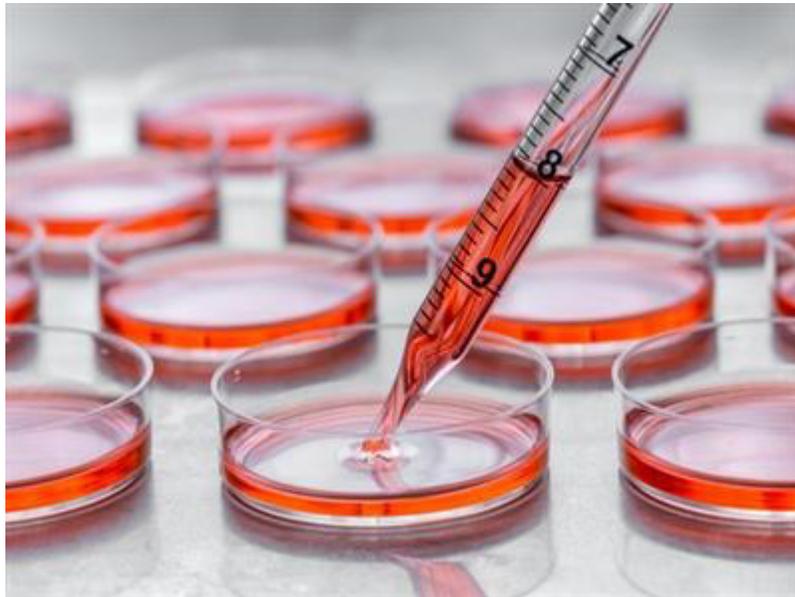
Crecimiento de microorganismos

### INHIBIENDOLOS



La lavandina (hipoclorito de sodio o lejía) es un desinfectante que se utiliza para limpiar y desinfectar las zonas en las que se prepara comida.

- ❖ En ocasiones, puede ser necesario **DESTRUIR TODOS** los microorganismos.
- ❖ Aunque es difícil llevarla a cabo, la **ESTERILIZACIÓN ELIMINA** por completo **TODOS** los microorganismos, entre ellos los virus.
- ❖ Tal medida es necesaria cuando se preparan medios de cultivo microbiológicos o instrumental quirúrgico.
- ❖ La finalidad de todos estos procedimientos es reducir o eliminar la carga microbiana.





# ESTERILIZACIÓN

Eliminación o MUERTE de TODOS los microorganismos que contiene un OBJETO o SUSTANCIA, y que se encuentran acondicionados de tal forma que NO PUEDEN contaminarse nuevamente.

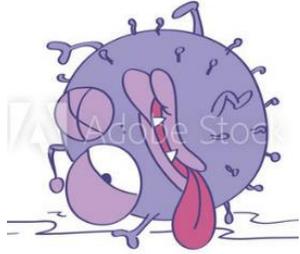
## SANITIZANTE

Agente que DISMINUYE la carga microbiana total a un nivel el cual es SEGURO para la SALUD de la población.

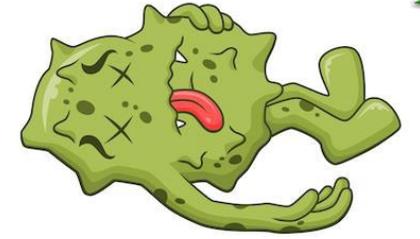
## DESINFECTANTE

Agente que REDUCE SIGNIFICATIVAMENTE la carga microbiana en SUPERFICIES INANIMADAS como , pisos, habitaciones, manijas de puertas, interruptores de luz, juguetes, equipos médicos.

# ESTERILIZACIÓN



**MUERTE** o eliminación de **TODOS** los organismos **VIABLES**



- ❖ Elimina por completo todos los microorganismos y los virus.
- ❖ Medida necesaria cuando se preparan medios de cultivo microbiológicos o instrumental quirúrgico.
- ❖ El control microbiano *in vivo* es mucho más difícil, puesto que los agentes bactericidas y bacteriostáticos útiles para uso clínico deben impedir y reducir, respectivamente, el crecimiento bacteriano pero **SIN CAUSAR DAÑO** al hospedador.
- ❖ Esto se consigue con una gran variedad de agentes quimioterapéuticos naturales y sintéticos.



# ESTERILIZANTES

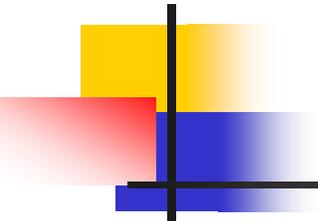
- ❖ También denominados esporicidas, destruyen todos los tipos de vida microbiana, incluidas las ENDOSPORAS.
- ❖ Se utilizan en situaciones en las que es imposible emplear métodos de esterilización o descontaminación por calor o por radiación.
- ❖ En hospitales y laboratorios se deben descontaminar y esterilizar los materiales sensibles al calor, termómetros, instrumentos con lentes, tubos de polietileno, catéteres e instrumental clínico reutilizable, como los respirómetros.
- ❖ Se utiliza esterilización fría en dispositivos cerrados.



## AGENTE QUÍMICO GASEOSO

óxido de etileno, formaldehído, ácido per-acético, peróxido de hidrógeno

Los esterilizantes líquidos, como las soluciones de hipoclorito de sodio (cuya disolución en agua es conocida como lejía, cloro o lavandina, según la zona) o el amilfenol, se utilizan para esterilizar instrumentos que **NO PUEDEN** soportar las **ALTAS TEMPERATURAS** NI la **EXPOSICIÓN A GASES**.

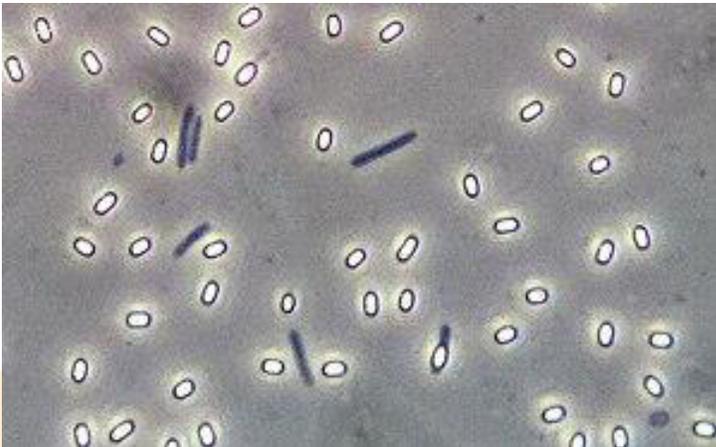


# DESINFECCIÓN

- ❖ Proceso durante el cual se **DESTRUYE** buena **PARTE** de la vida microbiana o se intentan **INHIBIR** los efectos nocivos de los **MICROBIOS EN HUMANOS**.
- ❖ Por ejemplo cuando limpiamos una mesa o cocina.

Sin embargo, los desinfectantes **NO PUEDEN** eliminar **ESPORAS**, que **SÍ** es posible mediante la **ESTERILIZACIÓN**.

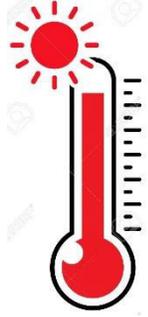
Con una **DESINFECCIÓN** alcanzamos un nivel de limpieza **ADECUADO**.  
Mientras que con la **ESTERILIZACIÓN**, el nivel es **EXTREMO**.



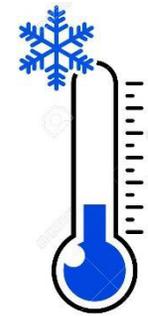
# DESINFECTANTES

- ❖ Productos químicos que MATAN microorganismos en OBJETOS INANIMADOS, aunque NO necesariamente ENDOSPORAS.
- ❖ Desinfectantes como el ETANOL y los DETERGENTES CATIÓNICOS se emplean para descontaminar suelos, mesas, superficies de bancos, paredes, etc.
- ❖ Importantes para el control de infecciones en hospitales u otras instalaciones médicas.
- ❖ De uso general se emplean en la limpieza doméstica, la limpieza de piletas y la depuración de aguas.





# EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO MICROBIANO



- ❖ La temperatura es probablemente el factor más importantes que afecta al crecimiento y a la supervivencia de los microorganismos.
- ❖ A temperaturas muy frías o muy calientes los microorganismos no crecerán y pueden incluso morir.
- ❖ Pero los valores absolutos de estas temperaturas mínimas o máximas varían mucho entre microorganismos diferentes y por lo general reflejan el rango de la temperatura media de sus hábitats naturales.

## LA TEMPERATURA EJERCE EFECTOS OPUESTOS SOBRE LOS ORGANISMOS VIVOS

- ❖ A medida que se eleva la temperatura, las reacciones químicas y enzimáticas de la célula son más rápidas, y el crecimiento se acelera; pero por encima de una cierta temperatura algunas proteínas pueden sufrir daños de modo irreversible.
- ❖ Dentro de un cierto margen, un aumento de temperatura acarrea un aumento en el crecimiento y en el funcionamiento metabólico hasta que las reacciones de inactivación se ponen en marcha.
- ❖ Por encima de tal punto, las reacciones celulares caen a 0.



# ACCIÓN DE LOS AGENTES FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LOS MICROORGANISMOS



## CONTROL FÍSICO ANTIMICROBIANO

Se usan para lograr DESCONTAMINACIÓN microbiana, DESINFECCIÓN y ESTERILIZACIÓN

CALOR

RADIACIÓN

FILTRACIÓN

- Pueden destruir o eliminar los microorganismos.
- Estos métodos impiden el crecimiento, o descontaminan zonas o materiales contaminados por microorganismos.

### ESTERILIZACIÓN POR CALOR

- ❖ Es el método más generalizado para el control del crecimiento microbiano especialmente como método de esterilización.
- ❖ Entre los factores que afectan a la susceptibilidad de los microorganismos al calor, se hallan la temperatura, duración del tratamiento, y el tipo de calor aplicado (húmedo o seco).

# Cada microorganismo tiene una temperatura

## MÍNIMA

Debajo de la cual **NO HAY CRECIMIENTO**

- Gelificación de la membrana.
- Transporte lento.
- No hay crecimiento

## ÓPTIMA

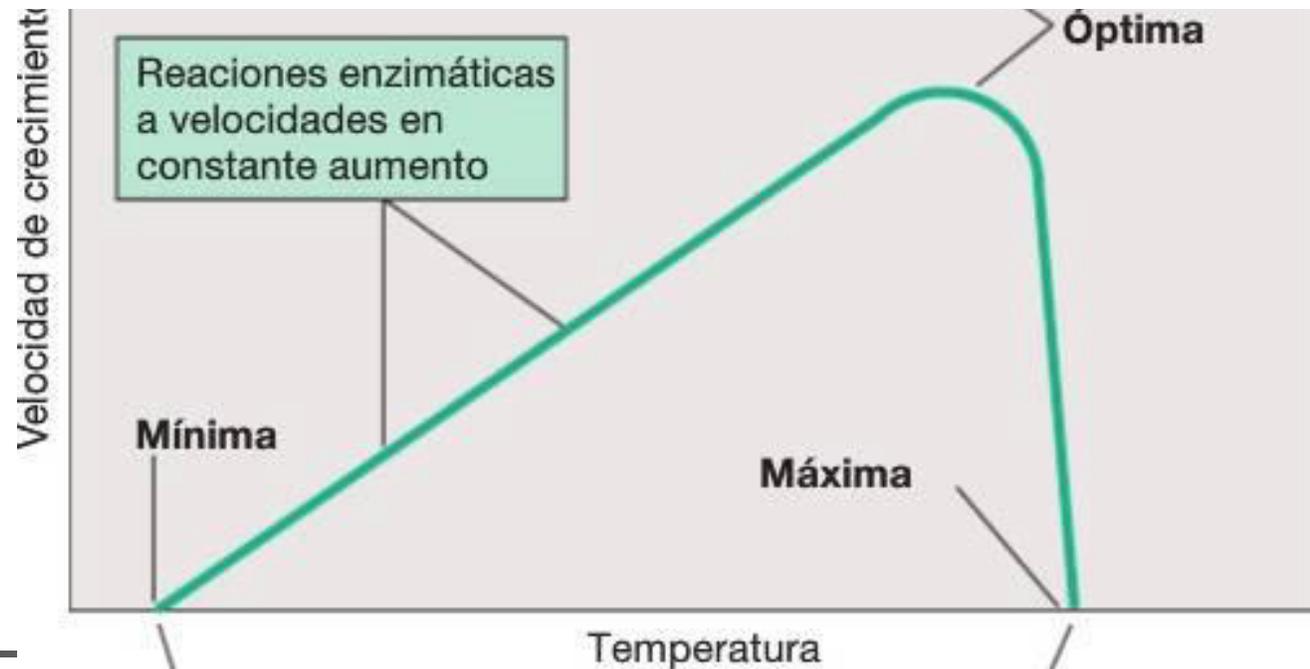
Crecimiento más rápido

- Reacciones enzimáticas a max. velocidad posible.

## MÁXIMA

Encima de la cual **NO ES POSIBLE EL CRECIMIENTO**

- Desnaturalización protéica.
- Colapso de la membrana.
- Lisis térmica.

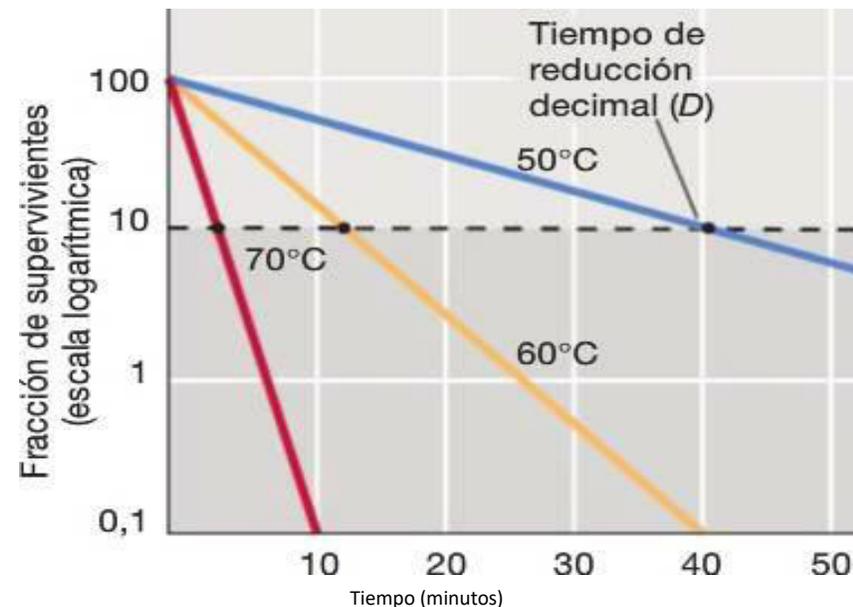


# TIEMPO DE REDUCCIÓN DECIMAL o D

Tiempo que se requiere para reducir 10 veces la viabilidad de una población microbiana a una temperatura determinada.

Mide la eficacia del calor como esterilizante

- ❖ En la preparación de alimentos (al cocinar o enlatar los alimentos), la relación entre D y temperatura es prácticamente exponencial.
- ❖ Así, cuando el logaritmo de D se representa frente a la temperatura, se obtiene una línea recta.

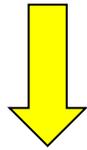


# TEMPERATURA

- ❖ La resistencia a la temperatura varía en cuanto a los diferentes microorganismos.
- ❖ La utilización de la temperatura como bactericida y su eficacia depende de 2 factores:

## TIEMPO TÉRMICO MORTAL (TTM)

TIEMPO MÍNIMO de exposición requerido para lograr la MUERTE de una población a una temperatura DETERMINADA (70°C)

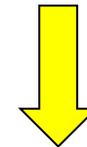


TIEMPO que se necesita para MATAR TODAS las CÉLULAS a una TEMPERATURA DETERMINADA

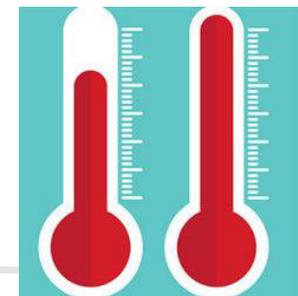


## PUNTO TÉRMICO MORTAL (PTM)

TEMPERATURA MÍNIMA para que TODOS los organismos de una población MUERAN en 10'.

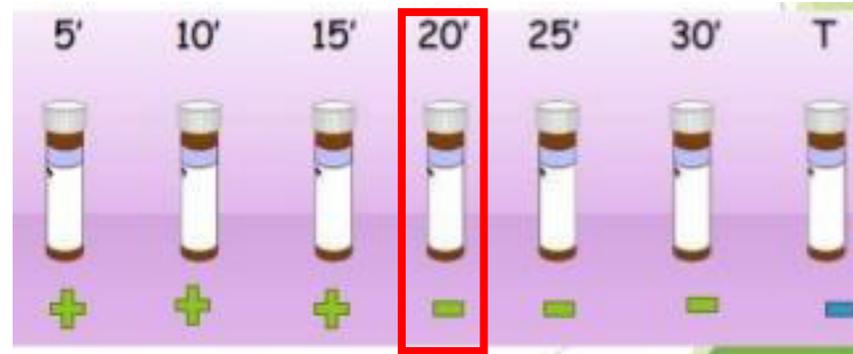


TEMPERATURA que se necesita para MATAR TODAS las CÉLULAS en 10'



# TIEMPO TÉRMICO MORTAL (TTM)

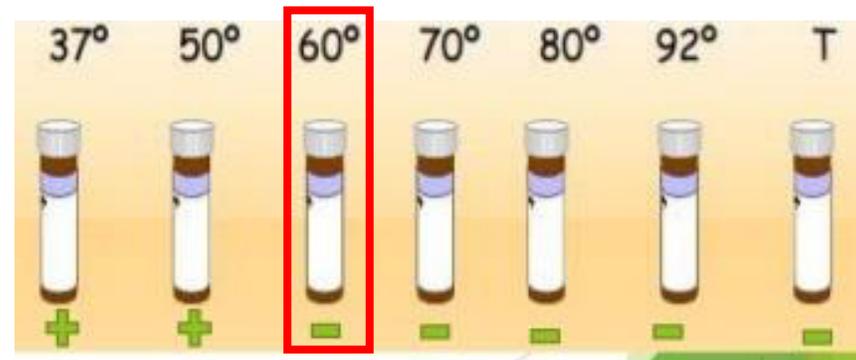
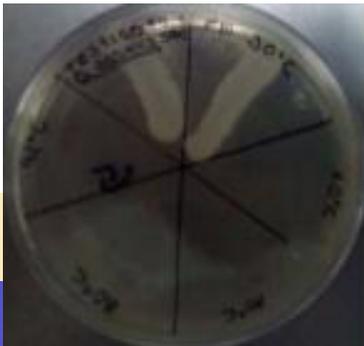
Las muestras de una suspensión celular se calientan a cierta  $T^\circ$  durante  $\neq$  períodos de tiempo, se mezclan las suspensiones calentadas con medio de cultivo y se incuban.



Tiempo mínimo de exposición requerido para lograr la muerte a  $x T^\circ$

# PUNTO TÉRMICO MORTAL (PTM)

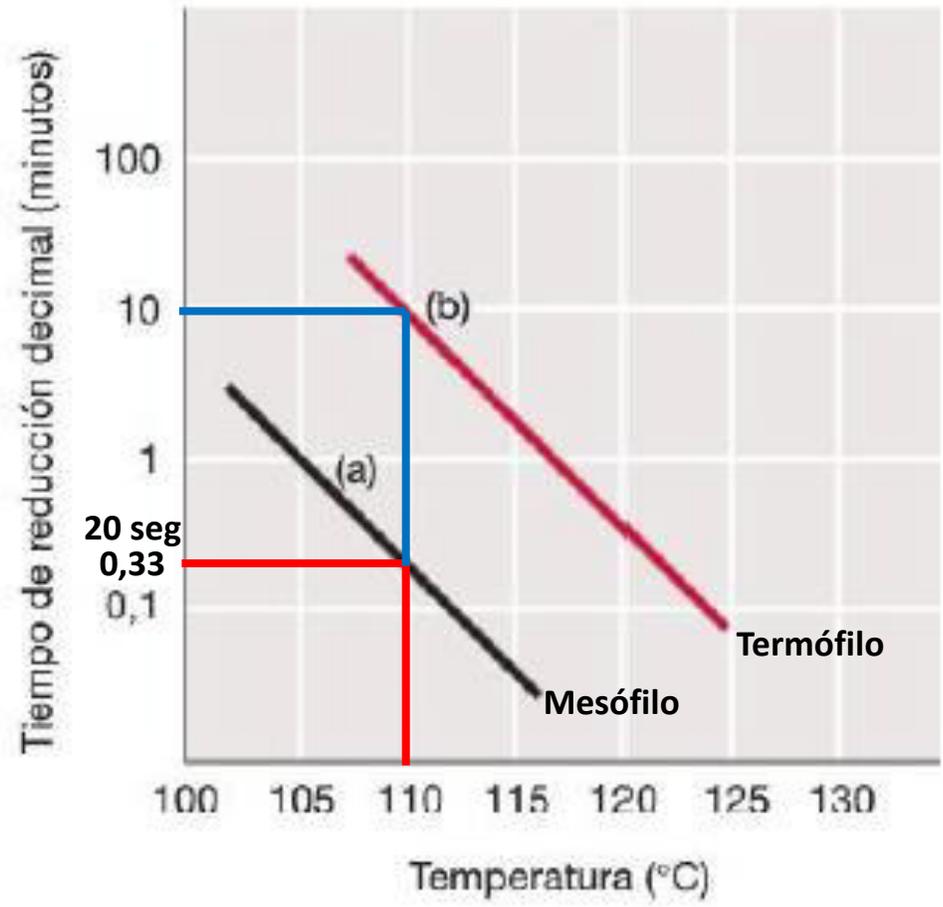
Las muestras de una suspensión celular se calientan a  $\neq T^\circ$  durante 10', se mezclan las suspensiones calentadas con medio de cultivo y se incuban.



$T^\circ$  mínima de exposición requerida para lograr la muerte en 10'

- ❖ El gráfico puede usarse para calcular los tiempos para conseguir la esterilización, por ejemplo en los tratamientos de productos enlatados.
- ❖ La muerte de los organismos a causa del calor es una función exponencial que crece más rápidamente a medida que aumenta la temperatura.

Relación entre la temperatura y la tasa de muerte en mesófilos y termófilos



- ❖ El tiempo necesario para matar una fracción definida (por ejemplo, 90%) de células viables es independiente de la concentración inicial de células.
- ❖ El resultado es que la esterilización de una población microbiana tarda más en realizarse a temperaturas bajas que a temperaturas altas.
- ❖ Por tanto, el tiempo y la temperatura deben ajustarse para lograr llevar a cabo la esterilización en las condiciones específicas de cada caso.
- ❖ El tipo de calor también es importante, puesto que el calor húmedo penetra mejor que el seco y, a una temperatura determinada, produce una reducción más rápida del número de organismos vivos





# CONTROL QUÍMICO ANTIMICROBIANO



Diariamente empleamos productos químicos para controlar el crecimiento microbiano, tanto en el ámbito doméstico como en el laboral.

## AGENTE ANTIMICROBIANO

Compuesto químico (natural o sintético) que MATA o INHIBE el CRECIMIENTO de los microorganismos.

Agentes que MATAN microorganismos, tienen el sufijo -CIDA, que indica que matan y un prefijo que indica el tipo de microorganismos.



**BACTERICIDAS, FUNGICIDAS Y VIRUCIDAS**

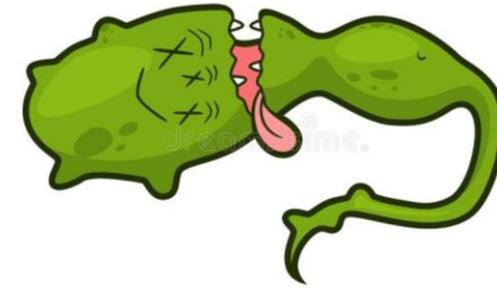
Agentes que NO MATAN, tienen el sufijo -ESTÁTICOS ya que sólo inhiben el crecimiento y un prefijo que indica el tipo de microorganismos.



**BACTERIOSTÁTICOS, FUNGISTÁTICOS Y VIRUSTÁTICOS**

## BACTERICIDAS

Producen la muerte del microorganismo responsable del proceso infeccioso, pero sin necesidad de destruirlos o lisarlos.

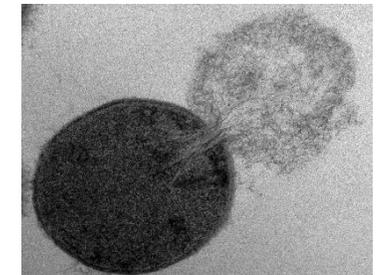
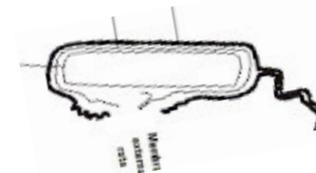


## BACTERIOSTÁTICOS

Bloquean o inhiben el crecimiento y multiplicación celular quedando el microorganismo viable, de manera que, cuando se suspende el tratamiento, puede volver a recuperarse y multiplicarse.

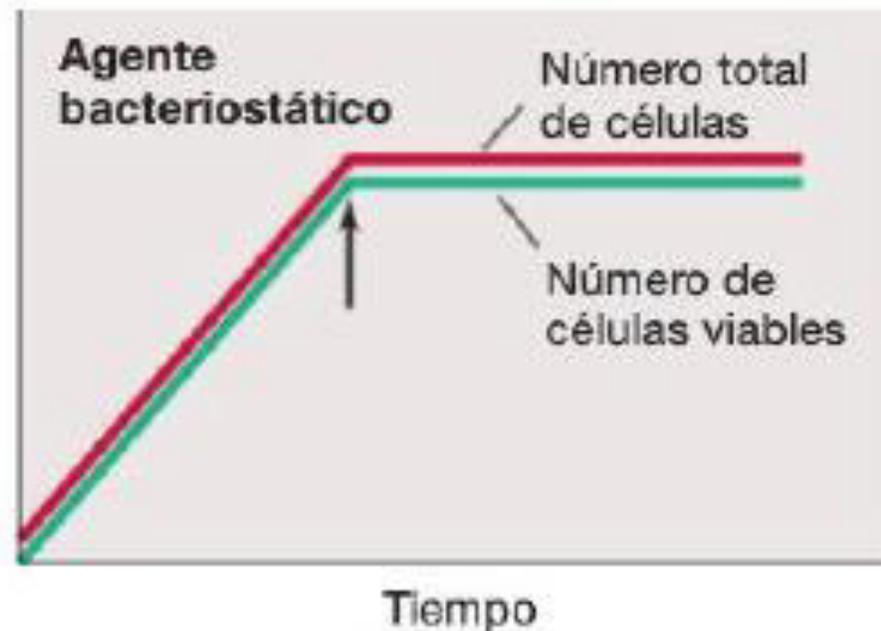
## BACTERIOLITICOS

Matan a los microorganismos lisándolos

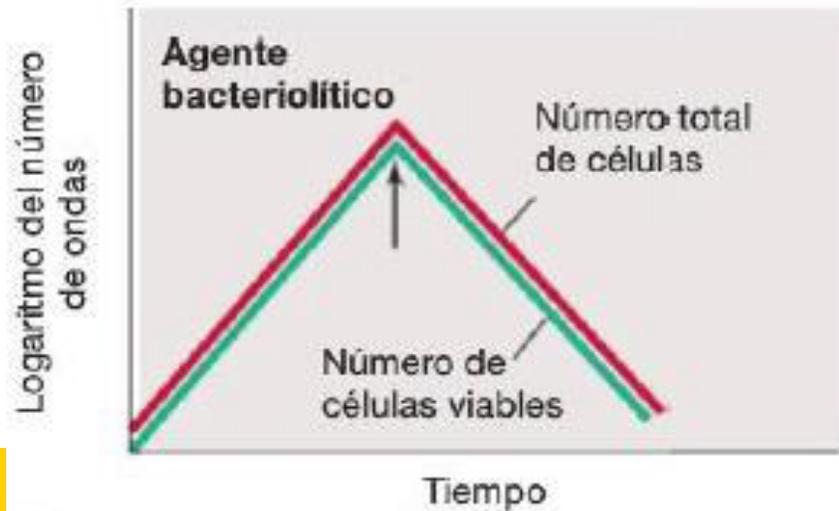
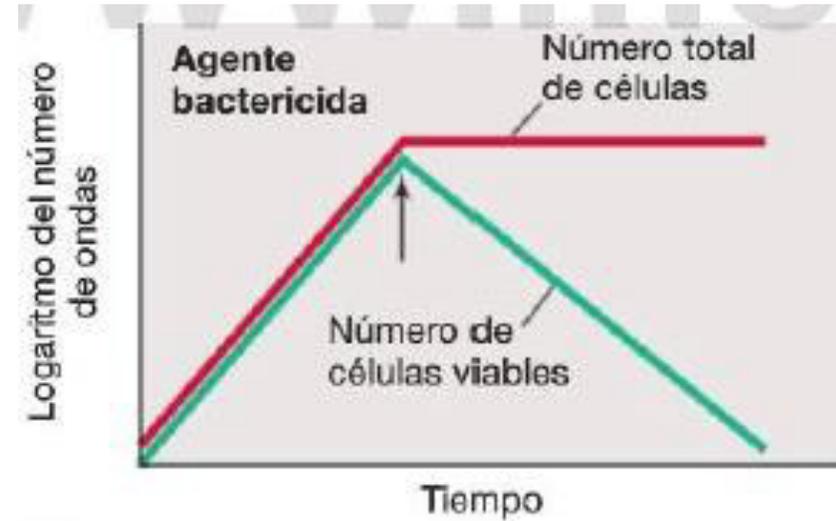


Los agentes antimicrobianos varían con respecto a su toxicidad selectiva.

- ❖ Los agentes que actúan de forma no selectiva tienen efectos similares sobre todo tipo de células.
- ❖ Mientras que los agentes antimicrobianos que tienen toxicidad selectiva son especialmente útiles para el tratamiento de enfermedades infecciosas porque matan a los microorganismos *in vivo* sin afectar al hospedador.
- ❖ Los agentes bacteriostáticos suelen ser inhibidores de la síntesis de proteínas y actúan uniéndose a los ribosomas.
- ❖ Si disminuye la concentración del agente, el antimicrobiano se libera de los ribosomas y se reanuda el crecimiento.



- ❖ Muchos ATB actúan siguiendo este mecanismo.
- ❖ Los agentes bactericidas se unen fuertemente a sus células diana, provocan la muerte de la célula y no se eliminan por dilución.
- ❖ No obstante, las células muertas no se destruyen, y el número total de células se mantiene estable.



- ❖ Algunos bactericidas son también bacteriolíticos, que provocan la muerte celular por LISIS y por liberación de contenidos citoplasmáticos.
- ❖ La lisis provoca una reducción del número de células y también de la turbidez del cultivo.
- ❖ Entre los agentes bacteriolíticos están los ATB que inhiben la síntesis de la pared celular, como la penicilina, y compuestos químicos como los detergentes, que lesionan la membrana citoplasmática.



# AGENTES ANTIMICROBIANOS QUÍMICOS PARA USO EXTERNO



## 2 GRUPOS

- Productos antimicrobianos que se utilizan para controlar los microorganismos en el ámbito **INDUSTRIAL Y COMERCIAL**: productos químicos utilizados en alimentos, torres de refrigeración de aire acondicionado, productos textiles y papeleros, depósitos de combustible, etc.
- Algunos son nocivos para el ser humano.
- Productos diseñados para impedir el crecimiento de microorganismos **PATÓGENOS PARA LOS SERES HUMANOS** en ambientes inanimados y en superficies corporales externas.
- Esta categoría se subdivide a su vez en esterilizantes, desinfectantes, higienizantes y antisépticos.

- ❖ La **DESNATURALIZACIÓN** de las **PROTEÍNAS** es un método importante para **DESTRUIR** microorganismos.
- ❖ Por ejemplo, los **ALCOHOLES** como el fenol o el etanol son **DESINFECTANTES** eficaces porque penetran rápidamente en las células y **DESNATURALIZAN** de manera **IRREVERSIBLE** sus proteínas.
- ❖ Dichos agentes químicos resultan por tanto útiles para la **DESINFECCIÓN** de objetos inanimados, como las **SUPERFICIES**, y tienen valor práctico por su aplicación como desinfectantes en casas, hospitales e industrias.

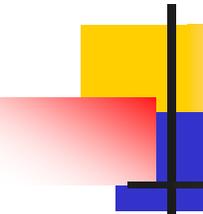




# APLICACIONES INDUSTRIALES DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS ANTIMICROBIANOS



INDUSTRIA	PRODUCTOS QUÍMICOS	APLICACIÓN
Papelera	Mercuriales orgánicos, fenoles, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de microorganismos durante la fabricación
Cuero	Metales pesados, fenoles	Los agentes antimicóticos presentes en el producto final inhiben el crecimiento
Plástico	Detergentes catiónicos	Evitar el crecimiento de bacterias en las dispersiones acuosas de los Plásticos
Textil	Metales pesados, fenoles	Evitar el deterioro producido por los microorganismos en tejidos expuestos al ambiente, como toldos o tiendas de campaña
Maderera	Sales metálicas, fenoles	Evitar el deterioro de las estructuras de madera
Metalúrgica	Detergentes catiónicos	Evitar el crecimiento de bacterias en las emulsiones acuosas usadas al cortar metales
Petrolera	Compuestos de mercurio, fenoles, detergentes catiónicos, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de bacterias durante la recuperación y el almacenamiento del petróleo y derivados del petróleo
Aire acondicionado	Cloro, fenoles, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de bacterias ( <i>Legionella</i> ) en torres de Refrigeración
Energía eléctrica	Cloro	Evitar el crecimiento de bacterias en condensadores y torres de refrigeración
Nuclear	Cloro	Evitar el crecimiento de bacterias resistentes a la radiación en reactores nucleares



# AGENTES HIGIENIZANTES

**REDUCEN** la cantidad de microorganismos a niveles que se consideran seguros, pero **NO ELIMINAN** totalmente.



Los higienizantes para superficies que **NO ESTÁN EN CONTACTO** con los alimentos se utilizan para tratar superficies como los mostradores, los suelos, las paredes, las alfombras y la ropa

Los higienizantes para superficies que están **EN CONTACTO** con los alimentos se utilizan de modo generalizado en la industria alimentaria en el tratamiento de superficies tales como platos, utensilios de cocina y equipos para mezclar y cocinar alimentos.



# ANTISÉPTICOS

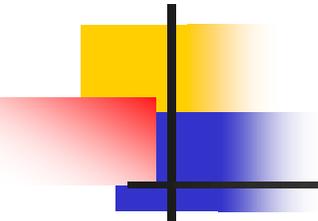


Agentes químicos que **MATAN** o **INHIBEN** el crecimiento de microorganismos, y cuya toxicidad es lo bastante baja como para poder ser aplicados a **TEJIDOS VIVOS**.

La mayoría de compuestos de esta categoría se utilizan para el lavado de manos o para tratar heridas superficiales.



Algunos antisépticos también actúan como desinfectantes eficaces



# ALCOHOLES

- ❖ Desorganizan las bicapas lipídicas penetrando en la región hidrocarbonada de los lípidos.
- ❖ No afectan a las endosporas, por lo que **NO SON ESTERILIZANTES**.
- ❖ Su **ACCIÓN DESINFECTANTE** mejora conforme aumenta la longitud de la cadena alifática de los alcoholes, hasta aquellos con 8 a 10 átomos de carbono (C8-C10), ya que los alcoholes de cadenas más largas de C10 tienen una baja solubilidad en agua.

## ETANOL ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ )



- ✓ Se emplea en desinfección de la piel antes de inyecciones cutáneas, en desinfección de los termómetros clínicos, siempre que se deje el tiempo suficiente de contacto.
- ✓ Es más efectivo en soluciones acuosas entre 50-70%.
- ✓ A 100% de pureza es poco efectivo.



# ETANOL



- ❖ El etanol está clasificado como un antiséptico, pero también puede ser desinfectante.
- ❖ Esto depende fundamentalmente de la concentración de etanol que se emplee y del tiempo de exposición, ya que la desinfección generalmente requiere concentraciones de etanol más altas y tiempos de exposición de varios minutos.



# ISOPROPANOL

- ❖ Es menos volátil y más efectivo que el etanol.
- ❖ Se emplea igualmente en desinfección de termómetros.
- ❖ Sin embargo, su efecto tóxico (narcótico) es mayor y más duradero.

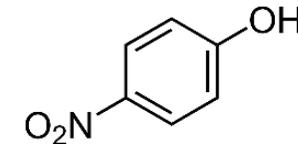
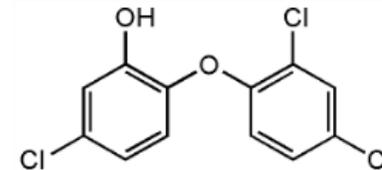
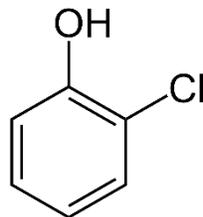
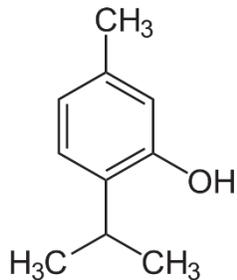


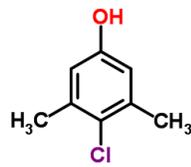


# FENOLES Y DERIVADOS



- ❖ Los fenoles sustituidos en el núcleo bencénico son antisépticos que actúan desnaturalizando las proteínas cuando se encuentran a concentraciones bajas.
- ❖ La potencia del fenol se incrementa a medida que aumenta el número de sustituyentes y la longitud de sus moléculas.
- ❖ La introducción de grupos nitro y halógenos también hace crecer la potencia antiséptica.
- ❖ El fenol fue uno de los primeros antisépticos descritos, pero actualmente es poco utilizado por su gran toxicidad y su poder irritante, por ello se limita su empleo como desinfectante de uso limitado.
- ❖ Posee gran número de derivados alquilfenoles (cresoles, xilenol, timol), fenoles clorados (clorofenol, cloroxinelol), bifenoles (triclosan, hexaclorofeno), nitrofenoles, polifenoles, etc.
- ❖ Provocan daños a membranas, con pérdida de constituyentes citoplásmicos; inactivación irreversible de oxidasas y deshidrogenasas de membrana; desnaturalización de proteínas.

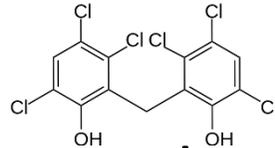




## CLOROXILENOL



Activo contra la mayoría de los microorganismos y su potencia se reduce en presencia de sangre o materia orgánica. Disponible en preparados tanto como desinfectante o como antiséptico cutáneo.



## HEXAFLOROFENO

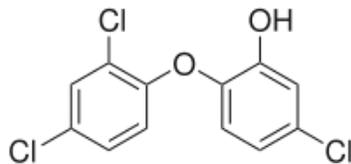
Su uso está limitado por que resulta potencialmente tóxico para el sistema nervioso.

Es bacteriostático activo frente a grampositivas, menos activo en gramnegativas y no actúa frente a las esporas.



## CRESOL

Es una mezcla de los tres isómeros, orto, meta y paracresoles y por su carácter irritante se emplea en desinfección exterior y solución jabonosa.



## TRICLOSÁN



Activo frente a Gram - y + y utilizado como antiséptico en jabones, shampoo, pasta de dientes, cosméticos, desodorantes, etc. .

# HALÓGENOS Y COMPUESTOS HALOGENADOS



Los halógenos, especialmente el cloro y el yodo, son 2 bactericidas muy potentes que se utilizan como bactericidas y antisépticos.

El cloro se utiliza principalmente para la desinfección del agua y el yodo como desinfectante de la piel.



## YODO Y DERIVADOS

El yodo elemental es uno de los bactericidas de mayor potencia cuando actúa sobre la piel íntegra, ya que se inactiva fácilmente en contacto con la sangre y el suero.

Actúa tanto por su efecto oxidante como por su combinación irreversible con los residuos de tirosina de las proteínas. También tiene un efecto fungicida y antiviral.





# TINTURA DE IODO

- ❖ Tiene un amplio espectro microbiano y actúa con rapidez.
- ❖ Pero tiene el inconveniente de que puede irritar la piel y que la sangre o el pus reducen bastante su eficacia.
- ❖ Por su poder irritante no se aplica sobre mucosas.

## IODÓFOROS

- ❖ El principal problema de las soluciones de yodo es su efecto irritante sobre la piel y su poder sensibilizante.
- ❖ Este inconveniente se ve en parte reducido por los iodóforos que son complejos orgánicos de yodo que lo liberan gradualmente a los tejidos disminuyendo la toxicidad propia del yodo libre y pueden aplicarse en membranas mucosas.
- ❖ Además son miscibles con el agua, producen espuma y no manchan tanto.
- ❖ La povidona yodada tiene un 9-12% de yodo disponible.
- ❖ Las soluciones acuosas al 10% se usan en la desinfección de heridas y quemaduras o en la preparación de la piel previa a procedimientos invasivos.
- ❖ El efecto empieza a surgir de uno a dos minutos después de aplicarse.

# CLORO



- ❖ Puede encontrarse como cloro gaseoso, hipocloritos o cloraminas.
- ❖ En todos el mecanismo por el cual desarrolla la acción desinfectante se debe a la liberación de cloro libre que a su vez, junto al agua y en medio ácido o neutro, origina ácido hipocloroso que es un oxidante fuerte que se combina con el grupo amino de las proteínas bacterianas para formar cloraminas y liberar oxígeno destruyendo los microorganismos por oxidación.
- ❖ Son potentes germicidas inespecíficos de acción rápida contra bacterias, arqueas y virus, aunque su actividad disminuye al entrar en contacto con materia orgánica y al aumentar el pH (en solución alcalina se forman iones hipoclorito).

## HIPOCLORITO SÓDICO



- ❖ Esta solución es muy potente como desinfectante para uso externo (virus y procariotas).
- ❖ Se emplea en desinfección de paredes, pisos, sanitarios, recipientes de alimentos, útiles de aseo, etc.
- ❖ El hipoclorito comercial se vende a concentraciones del 10 al 17%.
- ❖ Hay que tener en cuenta que el cloro activo que pueda contener el producto en el momento de uso puede ser bastante variable.
- ❖ Se utiliza con función limpieza y desinfección a concentraciones del 5 al 10%.



**El fenol fue uno de los primeros antisépticos descritos, pero actualmente es poco utilizado por su gran toxicidad y su poder irritante**

## **DETERGENTES**

**Los tensioactivos se clasifican en 3 grupos: ANIÓNICOS, CATIÓNICOS y NO IÓNICOS. Centrándonos en la actividad antiséptica, los más interesantes son los CATIÓNICOS.**

### **TENSIOACTIVOS CATIÓNICOS**

- ❖ **Son principalmente compuestos de amonio cuaternario que tienen una acción potente y rápida.**
- ❖ **Se debe eliminar cualquier rastro de jabones antes de aplicarlos sobre la piel (procedentes de lavados previos) debido a que podrían inactivarse, así como evitar el contacto con material poroso, talco o caolín, ya que perderían su eficacia antiséptica.**

<b>AGENTE</b>	<b>APLICACIÓN</b>	<b>MODO DE ACCIÓN</b>
Compuestos clorados (cloraminas, hipoclorito sódico, clorito sódico, dióxido de cloro)	Desinfectante e higienizante para equipos de las industrias láctea y alimentaria y para suministros de agua	Agente oxidante
Gas cloro	Desinfectante para la depuración de suministros de agua	Agente oxidante
Alcohol (60-85% etanol o isopropanol en agua)	Desinfectante para instrumental médico y superficies de laboratorio	Disuelve lípidos y desnaturaliza proteínas
Sulfato de cobre	Desinfectante alguicida para piscinas y suministros de agua	Precipita proteínas
Ozono	Desinfectante para agua potable	Fuerte agente oxidante
Detergentes catiónicos (compuestos de amonio cuaternario)	Desinfectante e higienizante para instrumental médico y equipos de las industrias láctea y alimentaria	Interacciona con fosfolípidos

<b>AGENTE</b>	<b>APLICACIÓN</b>	<b>MODO DE ACCIÓN</b>
<b>Alcohol (60-85% etanol o isopropanol en agua)</b>	<b>Antiséptico de uso tópico</b>	<b>Disuelve líquidos y desnaturaliza proteínas</b>
<b>Compuestos que contienen fenol (hexaclorofeno, triclosán, cloroxilenol, clorhexidina)</b>	<b>Jabones, lociones, cosméticos, desodorantes corporales, desinfectantes de uso tópico</b>	<b>Altera (rompe) la membrana celular</b>
<b>Detergentes catiónicos, especialmente compuestos de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio)</b>	<b>Jabones, lociones, desinfectantes de uso tópico</b>	<b>Interacciona con los fosfolípidos de la membrana citoplasmática</b>
<b>Peróxido de hidrógeno (solución al 3%)</b>	<b>Antiséptico de uso tópico</b>	<b>Agente oxidante</b>
<b>Compuestos iodóforos que contienen yodo en solución (Betadine®)</b>	<b>Antiséptico de uso tópico</b>	<b>El yodo se combina con los residuos de tirosina de las proteínas; agente oxidante</b>
<b>Octenidina</b>	<b>Antiséptico de uso tópico</b>	<b>Altera (rompe) la membrana citoplasmática</b>

# AGENTES ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS *IN VIVO*



- ❖ Hasta ahora hemos considerado los efectos de los agentes físicos y químicos que se emplean para inhibir el crecimiento microbiano fuera del cuerpo humano.
- ❖ La mayor parte de los productos químicos mencionados son demasiado tóxicos como para utilizarlos en el interior del cuerpo humano; de hecho, los antisépticos relativamente suaves se pueden usar solamente sobre la piel.

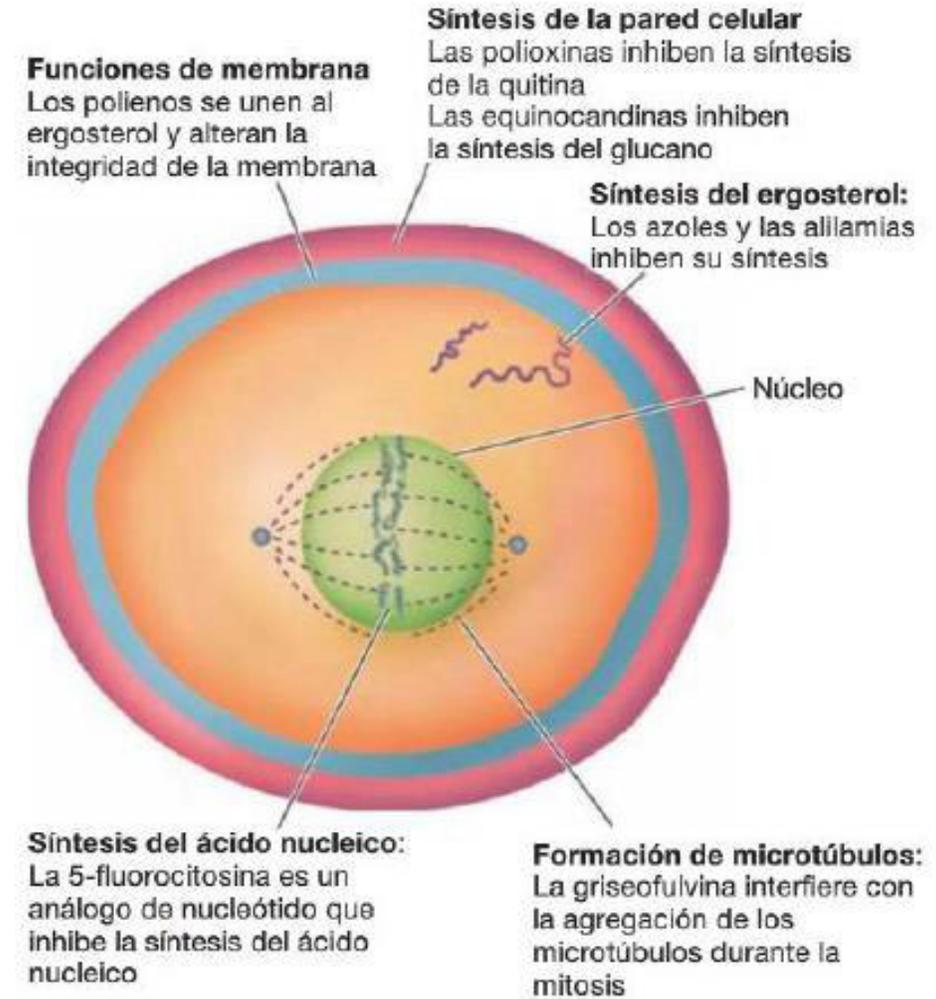
## LAVADO DE MANOS

Es el método más sencillo, y uno de los más importantes, para prevenir la propagación de patógenos en el ámbito sanitario y doméstico, y también en los laboratorios.



# MECANISMO DE ACCIÓN DE ALGUNOS AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS ANTIFÚNGICOS

- ✓ Los agentes ANTIBACTERIANOS tradicionales generalmente son INEFICACES para el tratamiento de HONGOS, puesto que éstos son EUCARIÓTAS.
- ✓ Las dianas de la membrana y la pared celular que aquí aparecen son estructuras únicas que no están presentes en las células de hospedadores vertebrados.



# ANTIFÚNGICOS

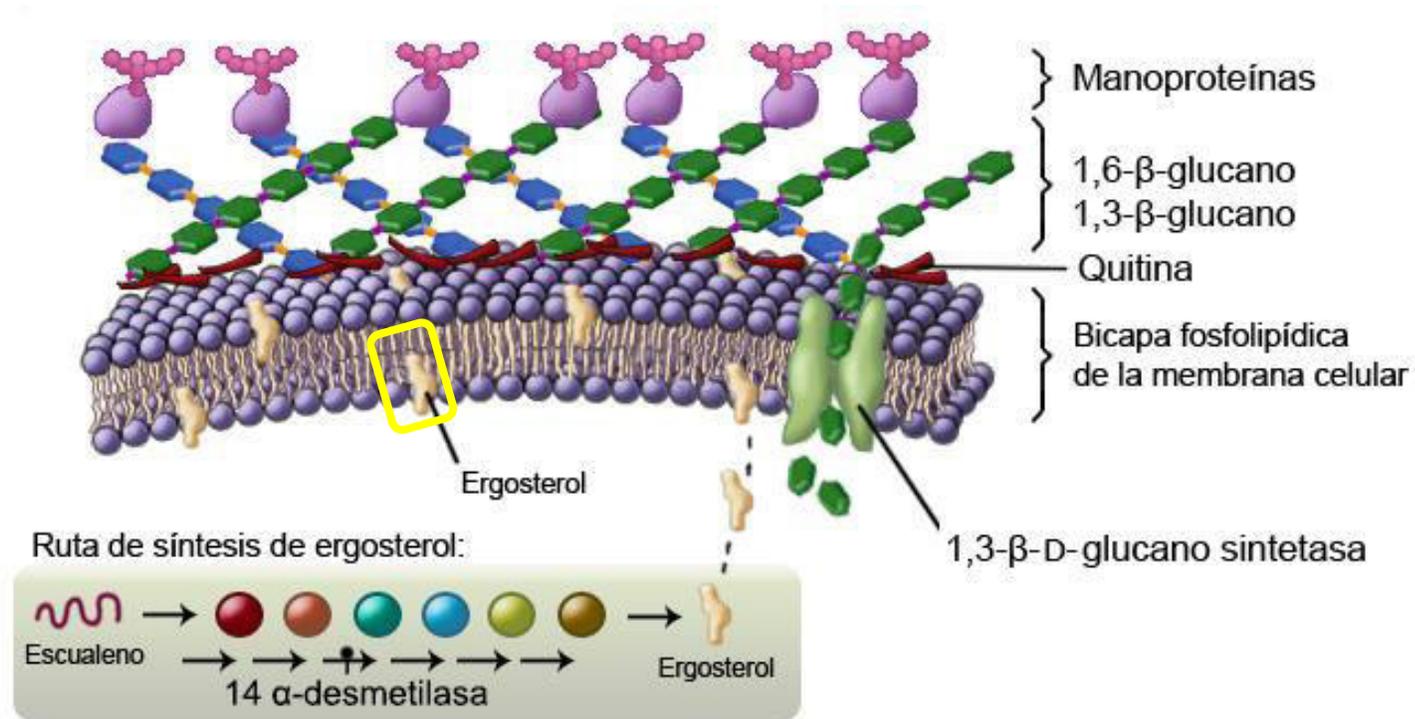


- ❖ Al ser *Eukarya*, la mayor parte de su maquinaria celular es la misma que la del ser humano y otros animales, por lo que los agentes antifúngicos que afectan a las rutas metabólicas de los hongos a menudo afectan también a las rutas en las células del hospedador, convirtiéndolos en medicamentos tóxicos para humanos y animales.
- ❖ Por este motivo, muchos antifúngicos sólo pueden administrarse por vía tópica.
- ❖ Algunos fármacos presentan toxicidad selectiva frente a los hongos porque actúan sobre estructuras o procesos metabólicos específicos de los hongos.
- ❖ Están adquiriendo una importancia creciente a medida que aumentan las infecciones fúngicas en individuos inmunosuprimidos.



# INHIBIDORES DEL ERGOSTEROL

En hongos, el ERGOSTEROL de las membranas sustituye al COLESTEROL que se encuentra en las membranas celulares de los animales.

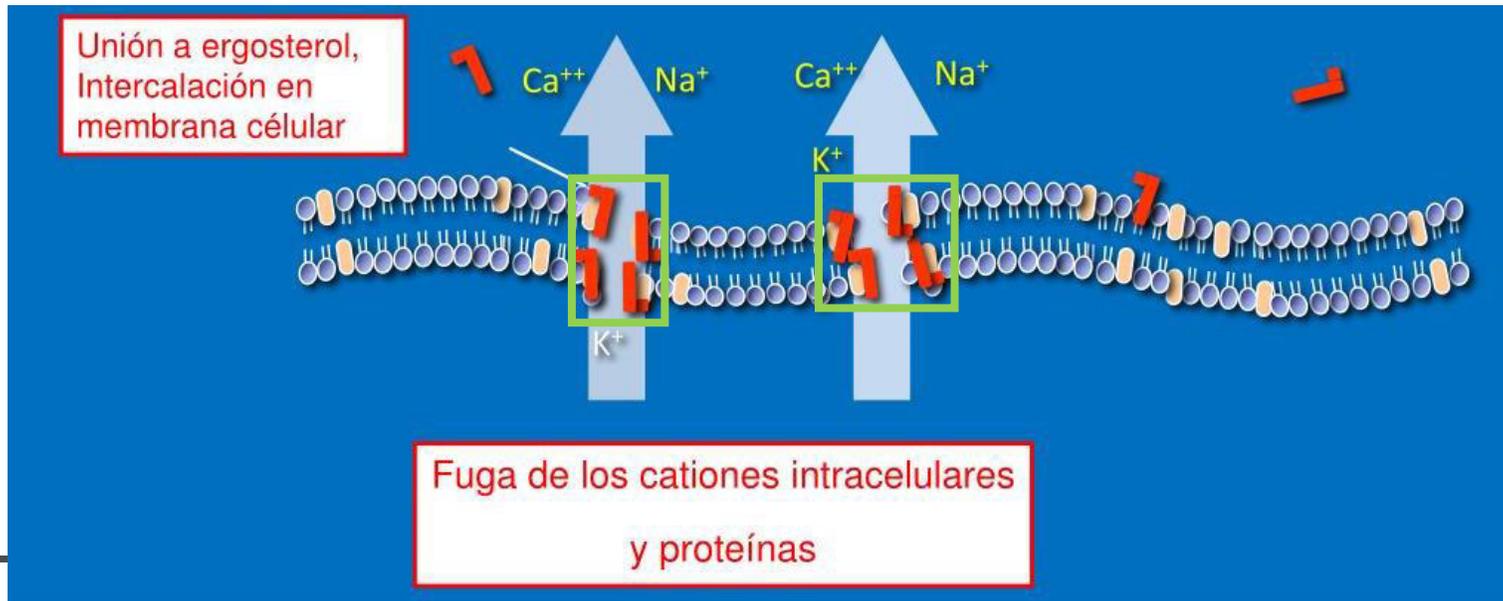
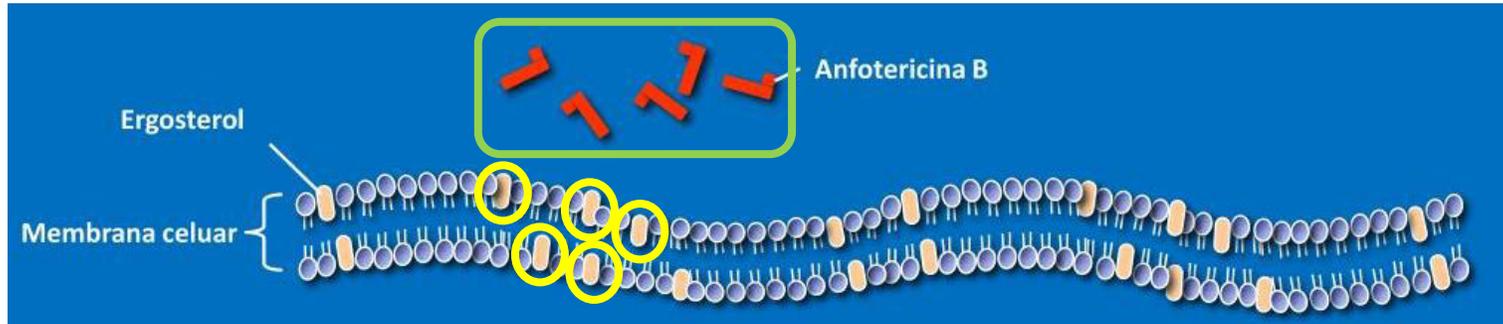


# POLIENOS



Moléculas macrólidas con cadenas insaturadas que tienen el mayor espectro de actividad antifúngica de todos los fármacos disponibles y son producidos por algunas especies de *Streptomyces*

Se unen al ergosterol interfiriendo con la función de la membrana y finalmente produce la permeabilización de ésta y la muerte celular.



# AZOLES y ALILAMINAS



Agentes sintéticos que inhiben selectivamente la biosíntesis del ergosterol y que, tienen un amplio espectro de acción antifúngica.

El tratamiento con AZOLES produce membranas fúngicas ANORMALES, lo cual provoca lesiones en la membrana y alteraciones de las actividades críticas de la membrana, como el transporte.

Las ALILAMINAS también inhiben la BIOSÍNTESIS del ERGOSTEROL, pero sólo se pueden administrar por vía tópica porque NO son captadas fácilmente por las células y tejidos animales.



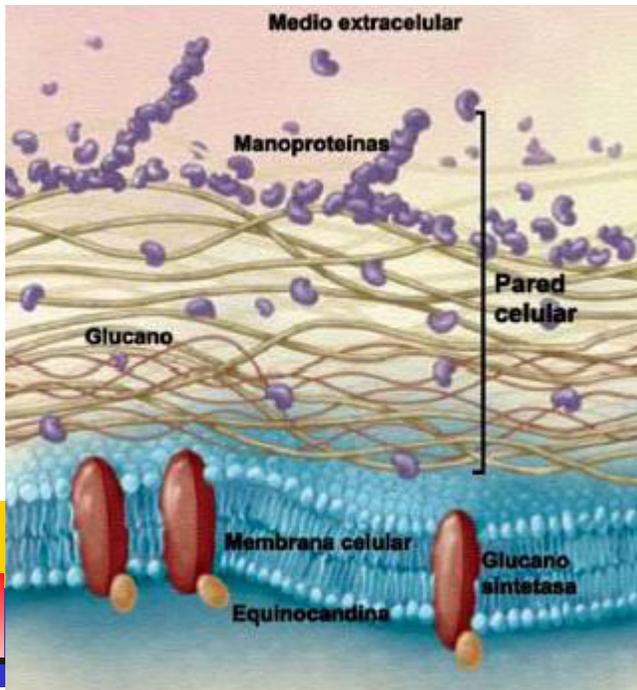
# EQUINOCANDINAS

Inhiben la 1,3  $\beta$ -D glucano sintetasa

EZ que forma polímeros de glucano en la pared celular fúngica

Proteínas y polisacáridos: { Glucano  
Manano  
Quitina

Dan una estructura rígida a la célula y la protegen de los cambios osmóticos



- ❖ Las células de los mamíferos carecen de 1,3  $\beta$ -D glucano sintetasa, (o paredes celulares)
- ❖ La acción de estos antifúngicos es específica y provoca la muerte selectiva de la célula fúngica.
- ❖ Produce la lisis celular por edema de la célula y de la membrana
- ❖ Para tratar infecciones causadas por *Candida*.



# OTROS ANTIFÚNGICOS

sólo en hongos e insectos

Paredes celulares de hongos → QUITINA → Polímero de *N*-acetilglucosamina

## POLIOXINAS

Inhiben la síntesis de la pared celular interfiriendo con la biosíntesis de la quitina.

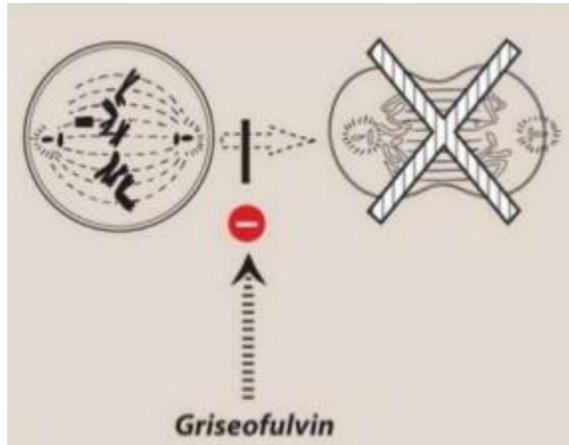
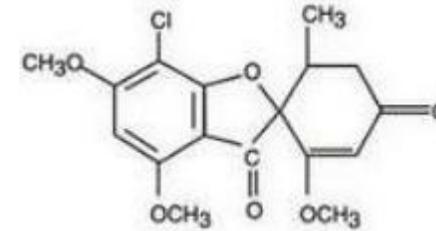
- ✓ Fungicidas muy usados en agricultura
- ✓ NO se utilizan en medicina

- ❖ Otros fármacos inhiben la biosíntesis del FOLATO, interfieren con la topología del ADN durante la replicación.
- ❖ La vincristina, la vinblastina y el toxol son antifúngicos eficaces que también tienen propiedades anticancerígenas.

# NO POLIENOS

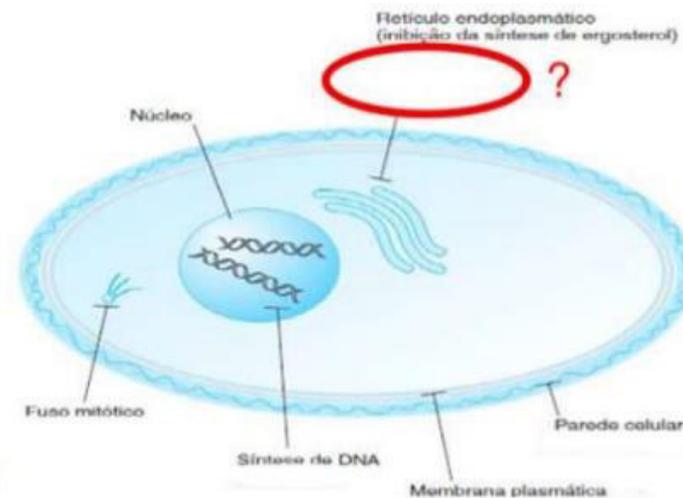
Inhiben la mitosis al actuar sobre los microtúbulos durante la metafase generando células multinucleadas.

## GRISEOFULVINA



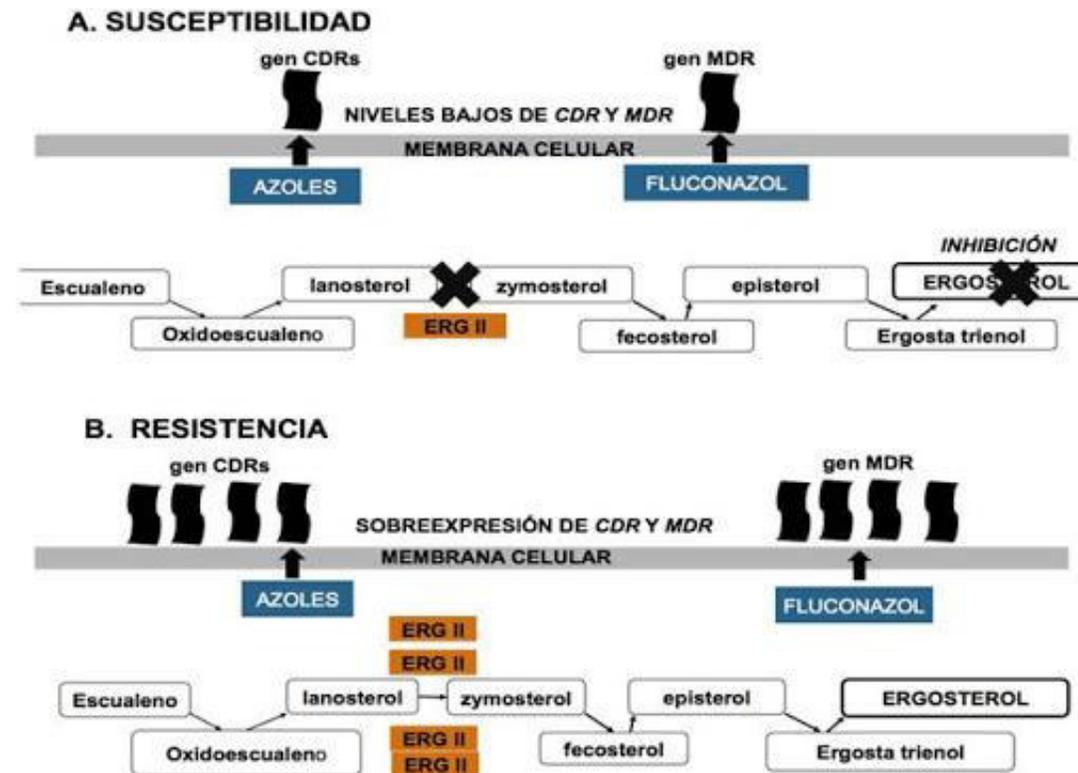
- Producido por ciertas especies de *Penicillium*.
- Altera el huso mitótico interactuando con los microtúbulos polimerizados.

- Entra por un transportador.
- Inhibe la mitosis bloqueando la polimerización de la tubulina.



# PROBLEMAS DE LA EVOLUCIÓN

Cepas de *Candida* patógenas resistentes a antifúngicos se han desarrollado en individuos que habían sido tratados con estos fármacos, y ahora estas cepas son resistentes a todos los antifúngicos que se utilizan en la actualidad.



### ALILAMINAS

Bloquean la formación de ergosterol en la MC por inhibición del escualeno

### POLIENOS

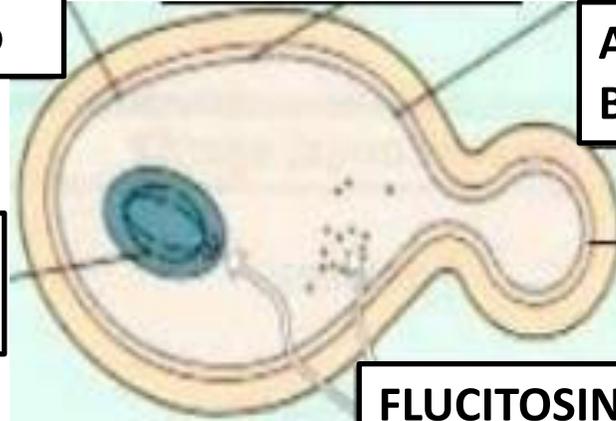
Se ligan a la MC y la rompen

### AZOLES

Bloquean la formación de ergosterol en la MC

### GRISEOFULVINA

Inhibe la síntesis de microtubulos



### EQUINOCANDINAS

Inhiben B glucanos de la pared celular

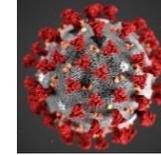
### FLUCITOSINA

Bloquea la síntesis de ADN/ARN

# CONTROL DE VIRUS Y PATÓGENOS EUCARIÓTICOS



Los fármacos que controlan el crecimiento de los virus y de los patógenos eucarióticos a menudo afectan también a las células del hospedador



Como consecuencia, es muy difícil lograr toxicidad selectiva para patógenos eucarióticos, y sólo los compuestos que afectan preferentemente a las rutas metabólicas específicas del patógeno o a sus componentes estructurales son útiles para tratar estas infecciones.

## ANTIVÍRICOS

- ❖ Dado que los virus utilizan a sus hospedadores eucarióticos para reproducirse y realizar sus funciones metabólicas, la mayoría de los antivíricos son tóxicos no sólo para el patógeno, sino también para el hospedador.
- ❖ Algunos agentes son más tóxicos para los virus que para el hospedador, ya que algunos agentes actúan específicamente sobre los virus.

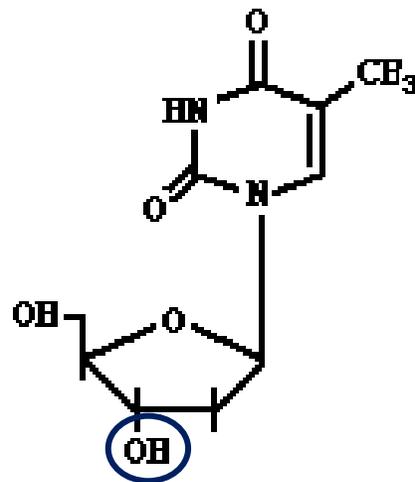
# QUIMIOTERÁPICOS ANTIVÍRICOS



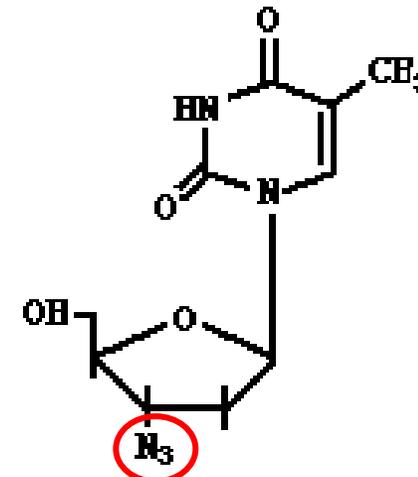
Los agentes más eficaces y utilizados en la quimioterapia antivírica son los ANÁLOGOS de NUCLEÓSIDOS

## ZIDOVUDINA, AZIDOTIMIDINA o AZT

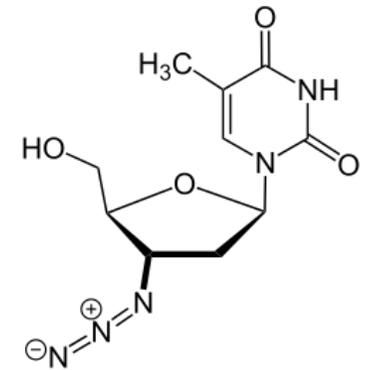
- ❖ Inhibe retrovirus como el VIH.
- ❖ Está relacionada químicamente con la timidina, pero es un derivado didesoxi (carece del  $-OH$  3').



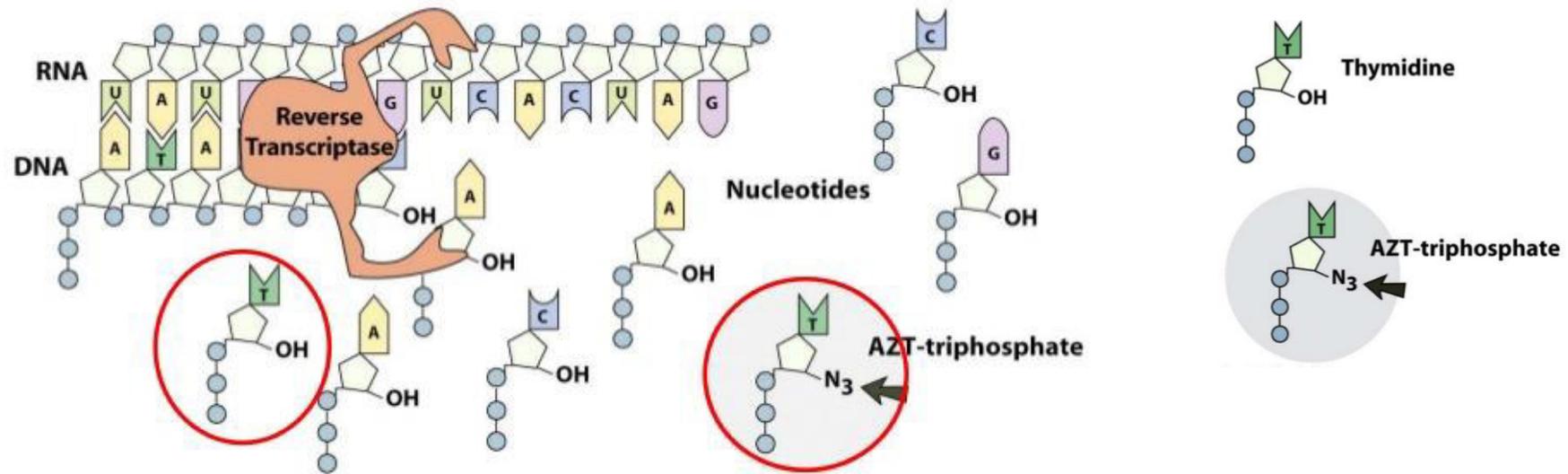
Thymidine



AZI



La AZT inhibe la multiplicación de los retrovirus bloqueando la transcripción inversa y la producción del ADN intermediario codificado por el virus, dando como resultado la inhibición eficaz de la multiplicación del VIH.

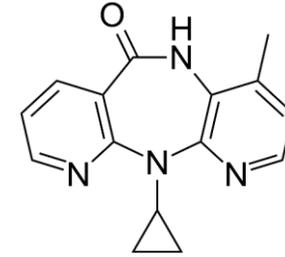


Casi todos los análogos de nucleósidos, o inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos NRTI (*nucleoside reverse transcriptase inhibitors*), tienen el mismo mecanismo de acción:

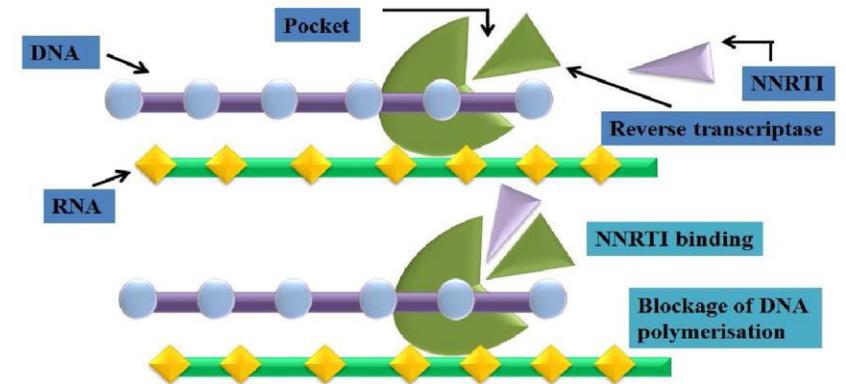
**INHIBEN** la elongación de la cadena del AN del virus realizada por la polimerasa.



# NEVIRAPINA

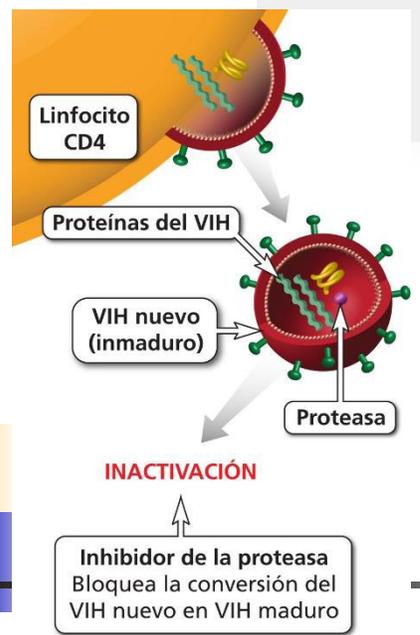
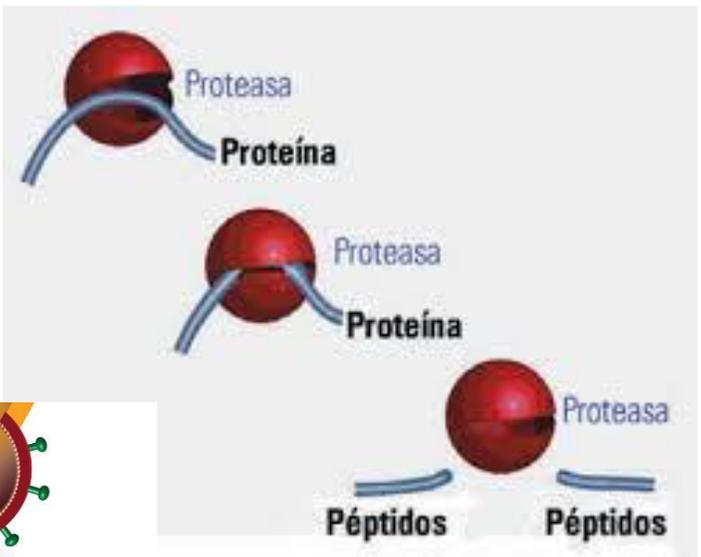
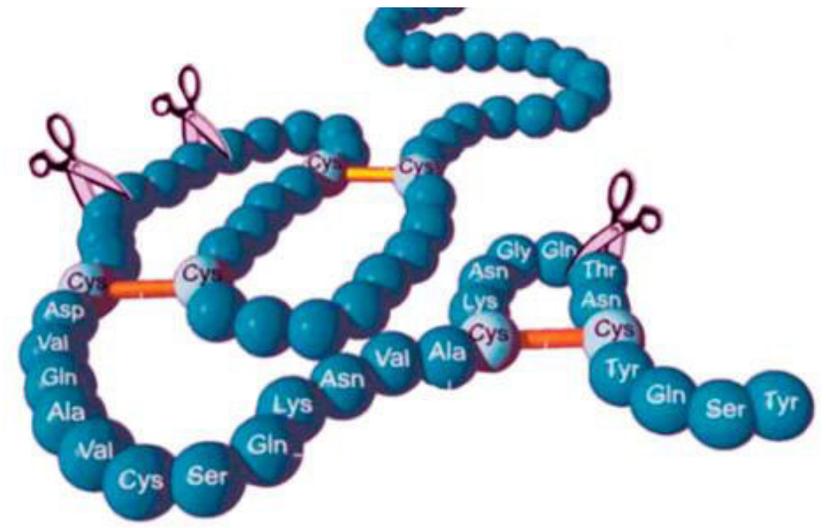


- ✓ INHIBIDOR de la TRANSCRIPTASA INVERSA no análogo de los nucleósidos NNRTI (*nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor*).
- ✓ SE UNE directamente a la TRANSCRIPTASA INVERSA e INHIBE la TRANSCRIPCIÓN INVERSA.

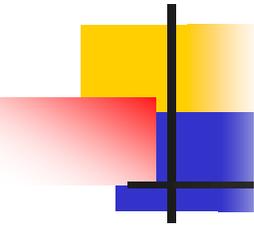


El ácido fosfonofórmico, un análogo del pirofosfato orgánico, inhibe los enlaces internucleótidos normales y evita así la síntesis de AN en los virus.

Los **INHIBIDORES** de la **PROTEASA** son otra clase de antivíricos eficaces en el tratamiento del VIH.



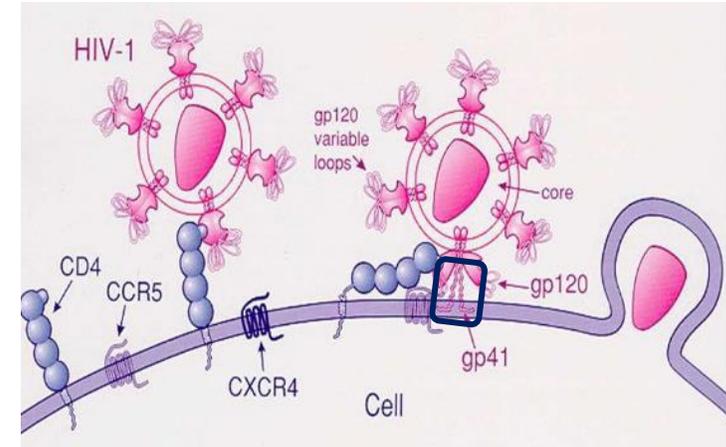
Evitan la replicación vírica **UNIÉNDOSE** al **SITIO ACTIVO** de la **PROTEASA** del VIH inhibiendo el procesamiento de los polipéptidos víricos y evitan la maduración de los virus.



# ENFUVRTIDA

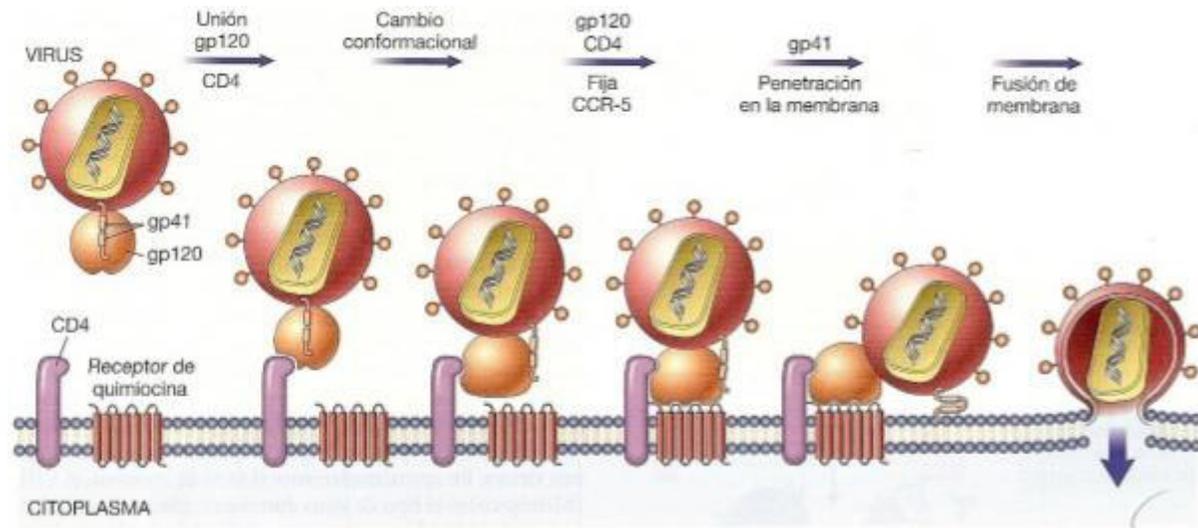


**INHIBIDOR de la FUSIÓN formado por un péptido sintético de 36 aminoácidos que se une a la proteína gp41 de la membrana del VIH**



**La unión de la enfuvirtida a la proteína gp41 impide que se produzcan los cambios conformacionales necesarios para la FUSIÓN de las MEMBRANAS del VIH y los linfocitos T, y evita así que éstos se infecten.**

## CICLO VITAL DEL VIH



# FÁRMACOS ANTIGRIPALES



## 2 CATEGORÍAS

### AMANTADINA y RIMANTADINA

Aminas sintéticas derivadas del adamantano que interfieren con una proteína transportadora de iones del virus gripal A, e inhiben la decapsidación del virus y su replicación posterior.

## INHIBIDORES DE LA NEURAMINIDASA

Bloquean el sitio activo de la neuraminidasa en los virus A y B de la gripe, e inhiben así la liberación de viriones a partir de las células infectadas.

oseltamivir (Tamiflu®)



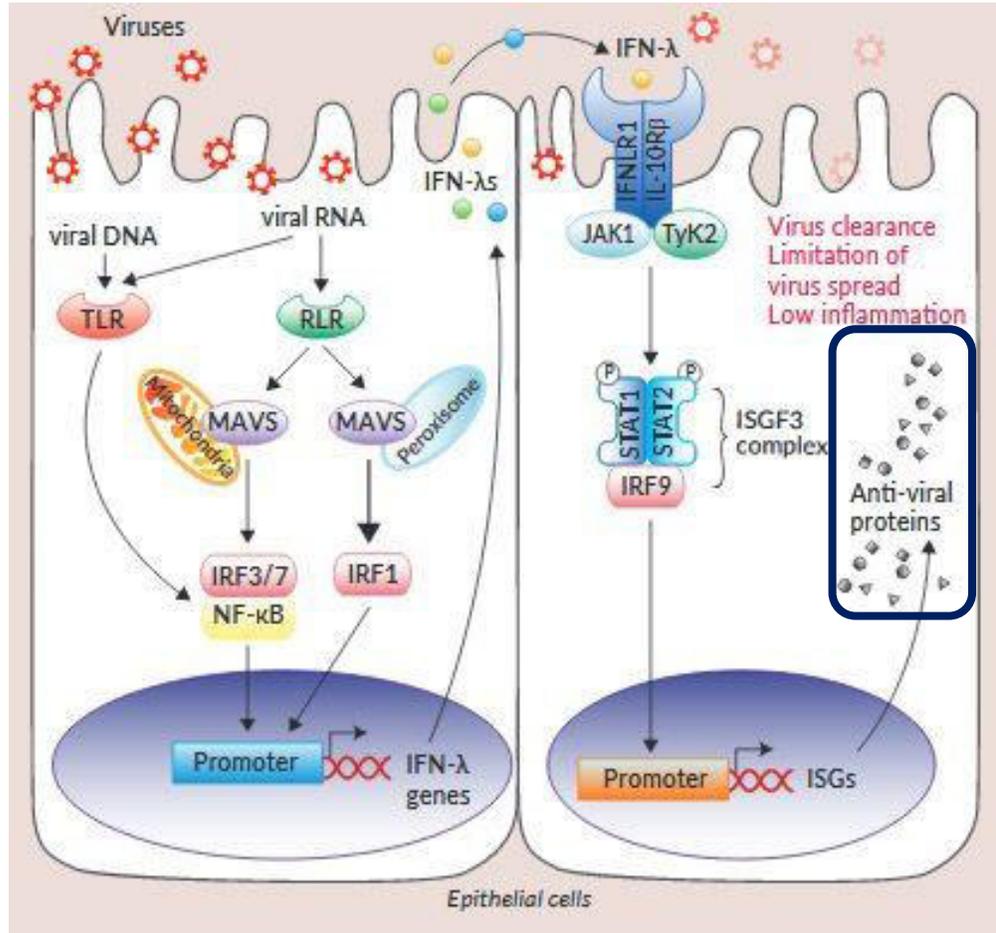
Tratamiento y profilaxis

zanamivir (Relenza®)



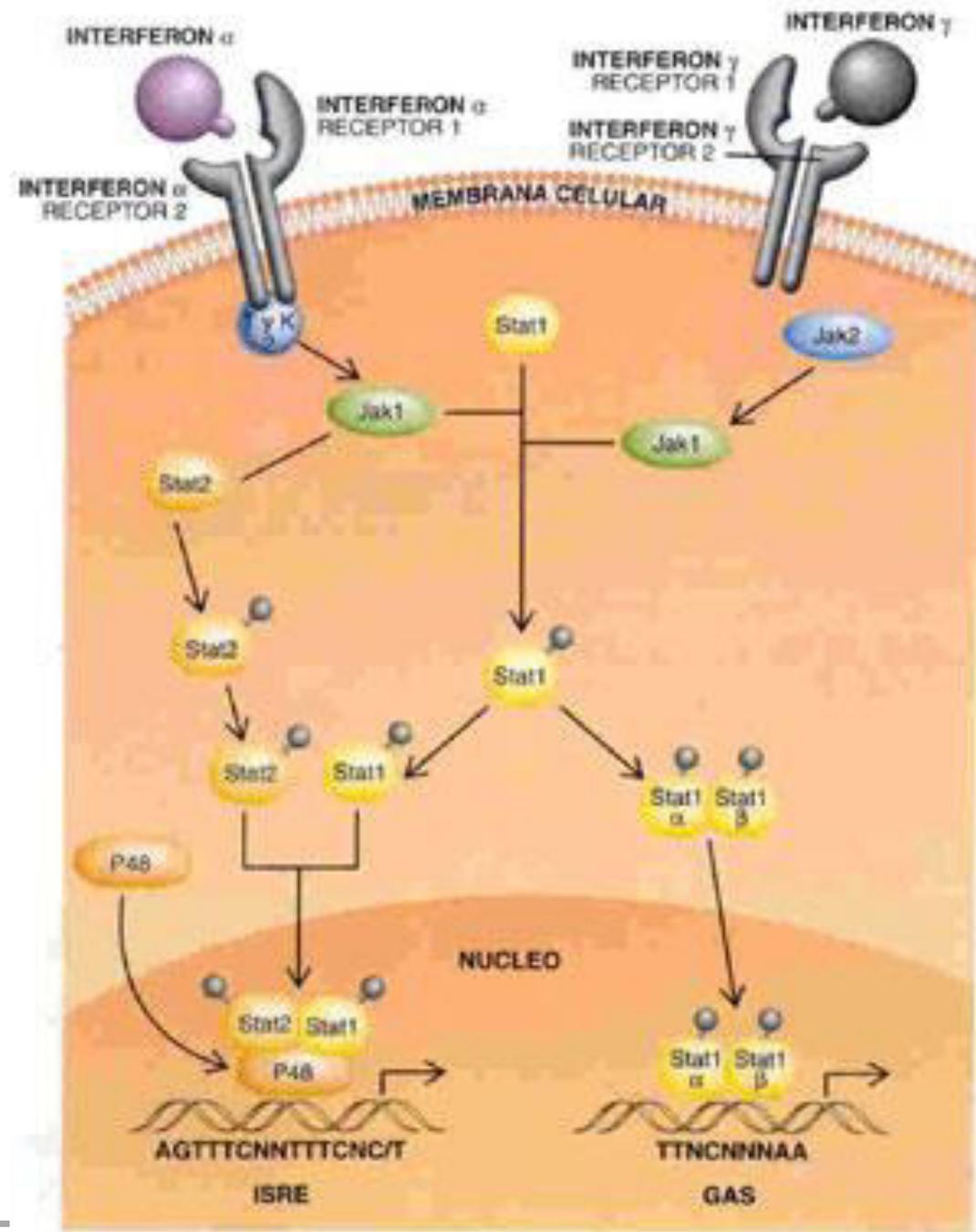
Sólo en el tratamiento

# INTERFERONES



- ❖ Glicoproteínas pequeñas que impiden la multiplicación vírica en células normales estimulando la producción de proteínas antivíricas.
- ❖ Se producen en mayor cantidad en células infectadas por virus poco virulentos, mientras que se producen muy pocos frente a virus muy virulentos
- ❖ Se debe a que los virus con una gran virulencia inhiben la síntesis proteica de la célula antes de que se lleguen a producirlos.
- ❖ Los interferones también son producidos por moléculas de ARN de doble cadena (dsRNA), sintéticas o naturales.
- ❖ Dado que, en la naturaleza, el dsARN sólo existe en células infectadas como forma replicativa de ciertos virus ARN, tales como los Rhinovirus (del resfriado), la presencia de dsARNA puede servir como señal de infección vírica y estimular a la célula animal a producir interferón.

Los IFN de las células infectadas por virus interaccionan con los receptores de las células no infectadas, y promueven la síntesis de proteínas antivíricas que actúan impidiendo que la infección vírica se extienda.

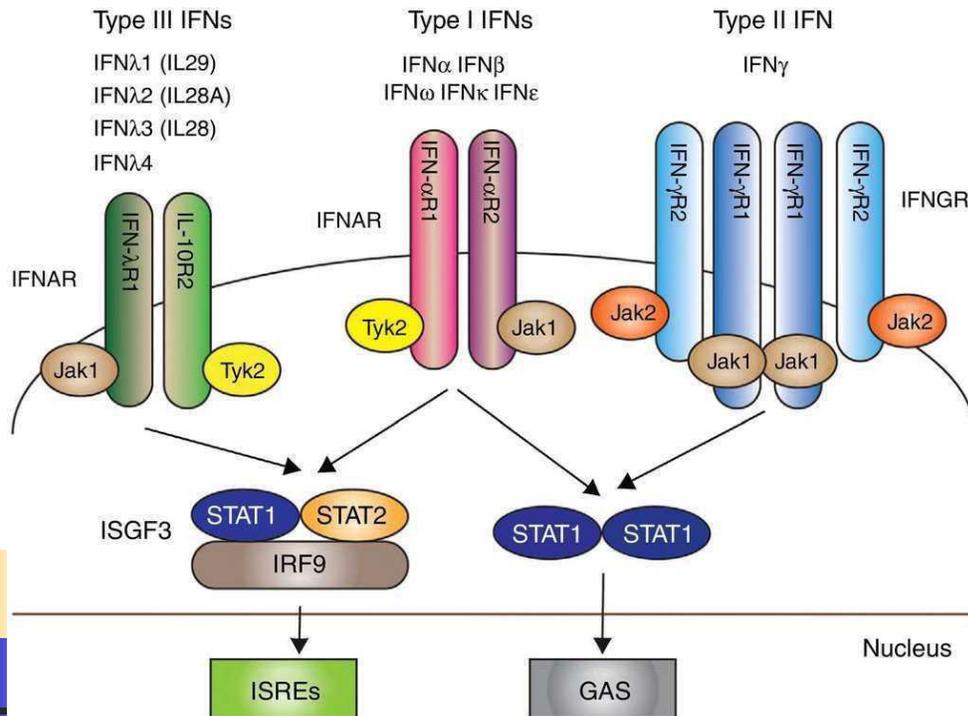




# CITOCINAS

- ❖ Moléculas empleadas para la comunicación entre células para desencadenar las defensas protectoras del sistema inmunitario que participan en la erradicación de patógenos.
- ❖ Los interferones obtienen su nombre por su capacidad de “INTERFERIR” con la replicación viral al proteger a las células de infecciones virales.

## 3 tipos



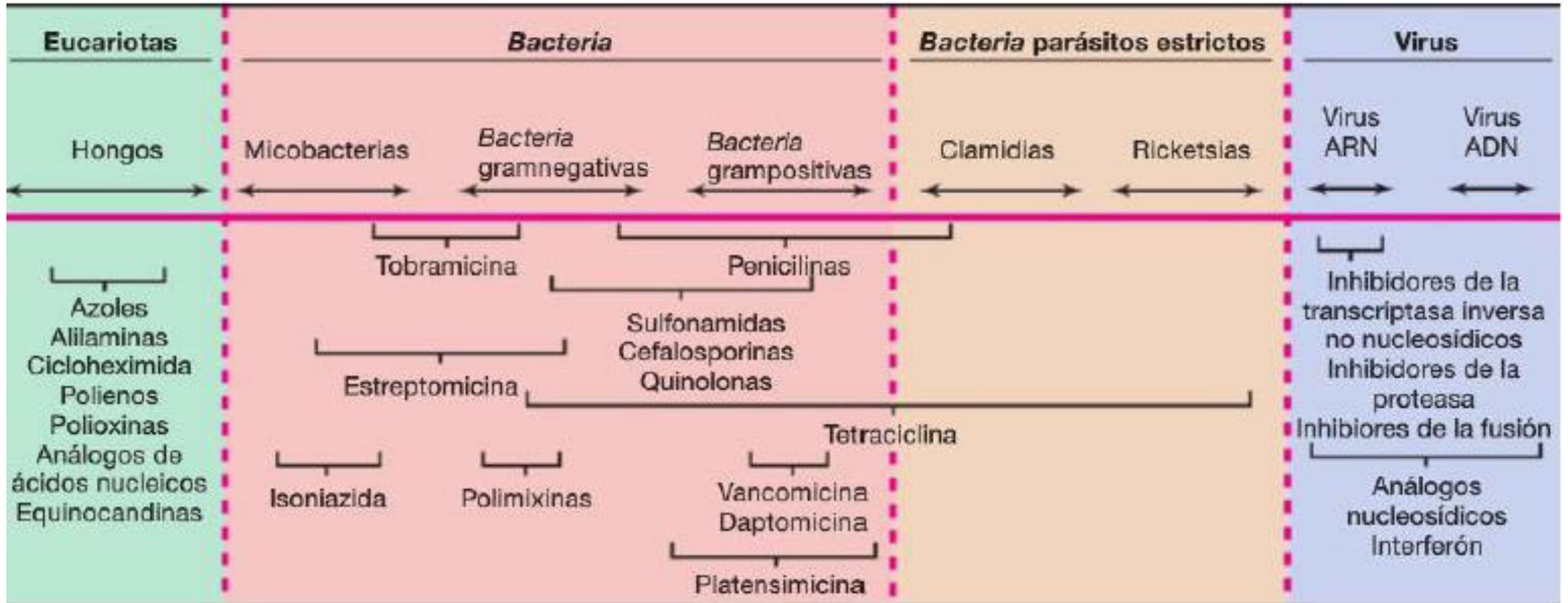
- **IFN-I:** IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$  y IFN- $\omega$  producidos por fibroblastos y monocitos.
- **IFN-II:** IFN- $\gamma$ , en humanos también es conocido como el interferón inmune, y son liberados por linfocitos T colaboradores.
- **IFN-III:** IFN- $\lambda$ 1, IFN- $\lambda$ 2, IFN- $\lambda$ 3 y IFN- $\lambda$ 4.

# INTERFERÓN



- ❖ La acción del IFN no es específica del virus, sino del hospedador.
- ❖ El IFN producido por un miembro de una especie reconoce los receptores específicos sólo en células de la misma especie.
- ❖ Por tanto, el interferón producido por las células de un animal en respuesta, por ejemplo, a un Rhinovirus, podría inhibir también la multiplicación de virus de la gripe en células de la misma especie, pero no tendría ningún efecto sobre la multiplicación de ningún virus en células de otras especies animales.







# ESTERILIZACIÓN



- ❖ Eliminación de TODAS las FORMAS VIVAS (inactivación de ciertas enzimas).
- ❖ Estéril significa libre de organismos.
- ❖ Otras metodologías, como desinfección, pasteurización, etc., conllevan una eliminación parcial de los microorganismos existentes.

## MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN:

### - *Agentes físicos:*

#### a) CALOR

- Calor seco: flameado, aire caliente.
- Calor húmedo: vapor saturado (AUTOCLAVE) a 121°C.

#### b) FILTRACIÓN

- Elimina microorganismos de un medio líquido, sin la destrucción de estos.
- Se hace pasar la muestra líquida a través de un filtro de membrana con tamaño de poro inferior al tamaño de los microorganismos (0,2-0,45  $\mu\text{m}$ ).
- Los microorganismos quedarán retenidos en el filtro y el fluido obtenido tras la filtración será estéril.



## c) RADIACIONES

- Radiaciones ionizantes (rayos gamma).
- Rayos UV: de escasa penetración y de utilidad para eliminación de microorganismos de superficies.

## AGENTES QUÍMICOS:

Para esterilizar material termolábil (generalmente algunos tipos de plástico), por ejemplo, el óxido de etileno y glutaraldehído.

Otros métodos de eliminación parcial de microorganismos:

- a) Calor: ebullición: pasteurización, tindalización.
- b) Agentes químicos: desinfectantes, antisépticos.

# MÉTODOS FÍSICOS DE ESTERILIZACIÓN:

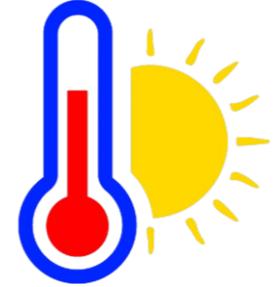


**CALOR  
SECO**

**CALOR  
HÚMEDO**

**ESTERILIZACIÓN  
POR RADIACIÓN**

## TEMPERATURA: ESTERILIZACIÓN POR CALOR



- ❖ Todos los microorganismos son susceptibles, en distinto grado, a la acción del calor.
- ❖ El calor provoca desnaturalización de proteínas, fusión y desorganización de las membranas y/o procesos oxidativos irreversibles en los microorganismos.

La efectividad del calor como método de esterilización depende de:

**TEMPERATURA**

**TIEMPO DE EXPOSICIÓN**

# CALOR SECO

Para polvo, aceites y otras sustancias sensibles al calor húmedo

- ❖ El calor seco requiere temperaturas más altas y tiempos de aplicación más largos para alcanzar el mismo resultado.
- ❖ Los métodos incluyen horneado, llama directa e incineración.
- ❖ El calor seco funciona desnaturalizando enzimas y ácidos nucleicos por oxidación, matando los microorganismos.
- ❖ El método es mejor para vidrio y metal.



## TIEMPOS Y TEMPERATURAS

- 30 minutos o más a 180°C
- 1 hora o más a 170°C
- 2 horas o más a 160°C

# INCINERACIÓN



- Para destruir materiales de desecho contaminados.
- Se somete el material contaminado a altas temperaturas en hornos especiales para reducirlo a cenizas.
- Se utiliza para la eliminación de residuos biopeligrosos mediante su combustión en hornos crematorios para destruir la carga microbiana .



## ESTUFA (HORNO PASTEUR DE AIRE CALIENTE)



- Es uno de los métodos de esterilización por calor seco mas utilizado.
- Se usan hornos especiales que permiten la distribución uniforme del calor en su interior donde el material se expone a temperaturas de 170°C.
- El tiempo se determina para cada material.
- Materiales muy resistentes al calor usan temperaturas mas altas por tiempos mas cortos.
- El aire caliente destruye por oxidación las proteínas microbianas.



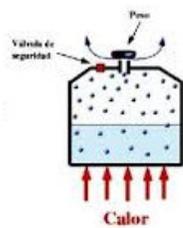
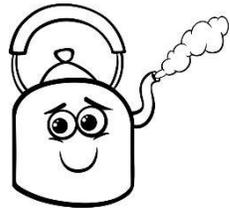
## VENTAJAS

- ✓ Sencillez en la instalación.
- ✓ No es corrosivo para materiales e instrumentos.
- ✓ Permite la esterilización de sustancias no acuosas y en polvo, y también sustancias viscosas no volátiles.



## DESVENTAJAS

- ✓ Método difícil de certificar.
- ✓ Requiere mayor tiempo de esterilización respecto al calor húmedo, debido a la baja penetración de calor.
- ✓ Proceso menos eficiente que la esterilización por calor húmedo, porque los microorganismos mueren con mayor rapidez cuando se encuentran en presencia de agua, ya que permite que se altere con mayor facilidad la configuración de sus proteínas y proporciona un medio para distribuir el calor uniformemente en el interior del equipo de esterilización.



# CALOR HÚMEDO

## VAPOR A PRESIÓN



### DESNATURALIZACIÓN Y COAGULACIÓN DE PROTEÍNAS

Estos efectos se deben principalmente a 2 razones:



- ✓ El agua es una especie química muy reactiva y muchas estructuras biológicas (ADN, ARN, proteínas) son producidas por reacciones que eliminan agua.
- ✓ Por lo tanto, reacciones inversas podrían dañar a la célula a causa de la producción de productos tóxicos.
- ✓ Además, las estructuras 2<sup>rias</sup> y 3<sup>rias</sup> de las proteínas se estabilizan mediante uniones puente hidrógeno intramoleculares que pueden ser reemplazadas y rotas por el agua a altas temperaturas.

- ✓ El vapor de agua posee un coeficiente de transferencia de calor mucho más elevado que el aire.
- ✓ Por lo que, los materiales húmedos conducen el calor mucho más rápidamente que los materiales secos debido a la energía liberada durante la condensación.

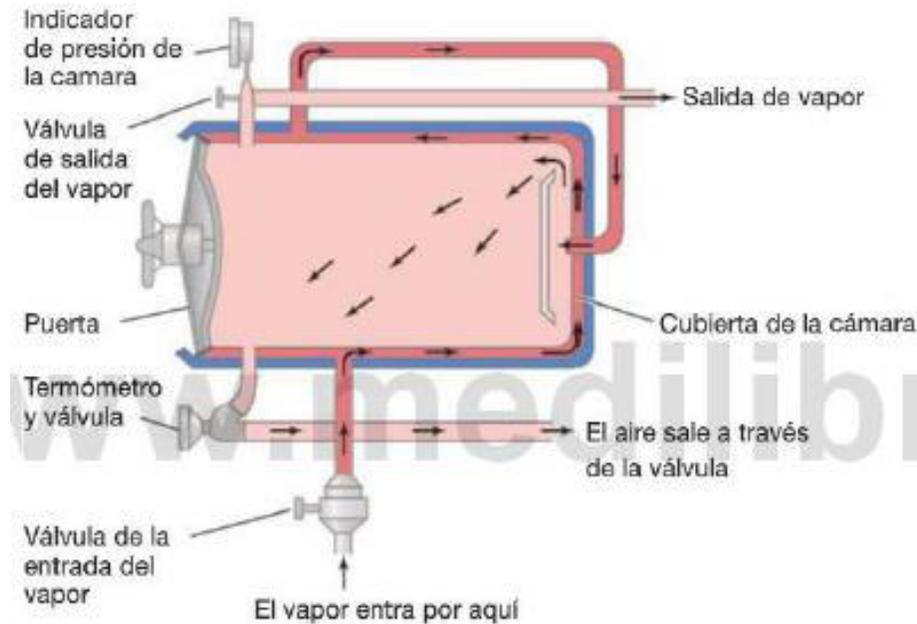
# AUTOCLAVE

Dispositivo sellado de calentamiento que permite la entrada de vapor de H<sub>2</sub>O bajo presión elevada.



- ❖ Para matar las endosporas resistentes al calor se necesita un calentamiento a temperaturas por encima de 100°C, el punto de ebullición del agua bajo una presión atmosférica normal.
- ❖ Esto se consigue mediante la aplicación de vapor de agua bajo presión.
- ❖ El autoclave emplea vapor bajo una presión de 1,1 kg/cm<sup>2</sup>, lo que permite alcanzar una temperatura de 121°C.
- ❖ A esta temperatura, el tiempo de esterilización suele ser de ≈ 15 minutos.

# FLUJO DEL VAPOR A TRAVÉS DE UN AUTOCLAVE



- ❖ Una vez que un medio de cultivo ha sido preparado y esterilizado para eliminar todos los microorganismos, puede ser inoculado (se añaden al medio) con microorganismos y luego el cultivo es incubado en condiciones que favorezcan el crecimiento microbiano.
- ❖ Se tratará de un inóculo procedente de un cultivo puro: de un cultivo que contiene un único tipo de microorganismo.

# AUTOCLAVE

Ley general de los gases

$P \times V = n \times R \times T$   $\longrightarrow$  Al  $\uparrow$  la Presion,  $\uparrow$  la  $T^\circ$  de ebullición

$T^\circ_{\text{Autocl}} = 120,6^\circ\text{C}$   $\longrightarrow$  Presión Absoluta  $_{\text{Autocl}} = 2,066 \text{ kg/cm}^2$

Cte                      La que soporta el fluido encerrado                       $\approx$  Cte

Presión Absoluta = Presión manométrica + Presión atmosférica local

Ajustar la Presión manométrica

Presión manométrica = Presión Absoluta - Presión atmosférica local

Presión atmosférica S.S de Jujuy  $\approx 0,88 \text{ kg/cm}^2$

$P_{\text{man S.S}} = 2,066 \text{ kg/cm}^2 - 0,88 \text{ kg/cm}^2 = 1,186 \text{ kg/cm}^2 \approx 1,2 \text{ kg/cm}^2$

Presión atmosférica La Quiaca  $\approx 0,67 \text{ kg/cm}^2$

$P_{\text{man LQ}} = 2,066 \text{ kg/cm}^2 - 0,67 \text{ kg/cm}^2 = 1,396 \text{ kg/cm}^2$

$\approx 1,4 \text{ kg/cm}^2$



# AUTOCLAVE MODERNO

**Puerta de cierre hermético**



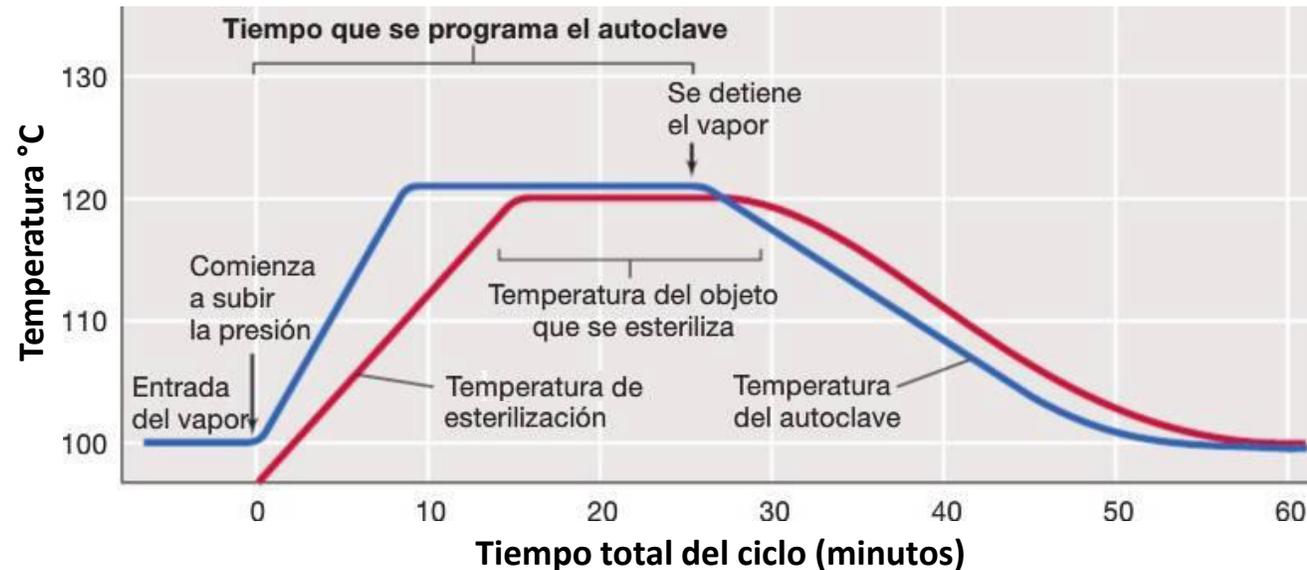
**Controles automáticos de los ciclos de esterilización**

**Válvulas de entrada y salida del vapor**

# CICLO TÍPICO DE UN AUTOCLAVE



- ❖ La temperatura del objeto se eleva más lentamente que la temperatura del autoclave.
- ❖ El objeto debe alcanzar la temperatura deseada, y ésta se debe mantener durante 10-15 minutos para garantizar la esterilización, independientemente de la temperatura y el tiempo registrados en el autoclave.



# ESTERILIZACIÓN POR RADIACIÓN

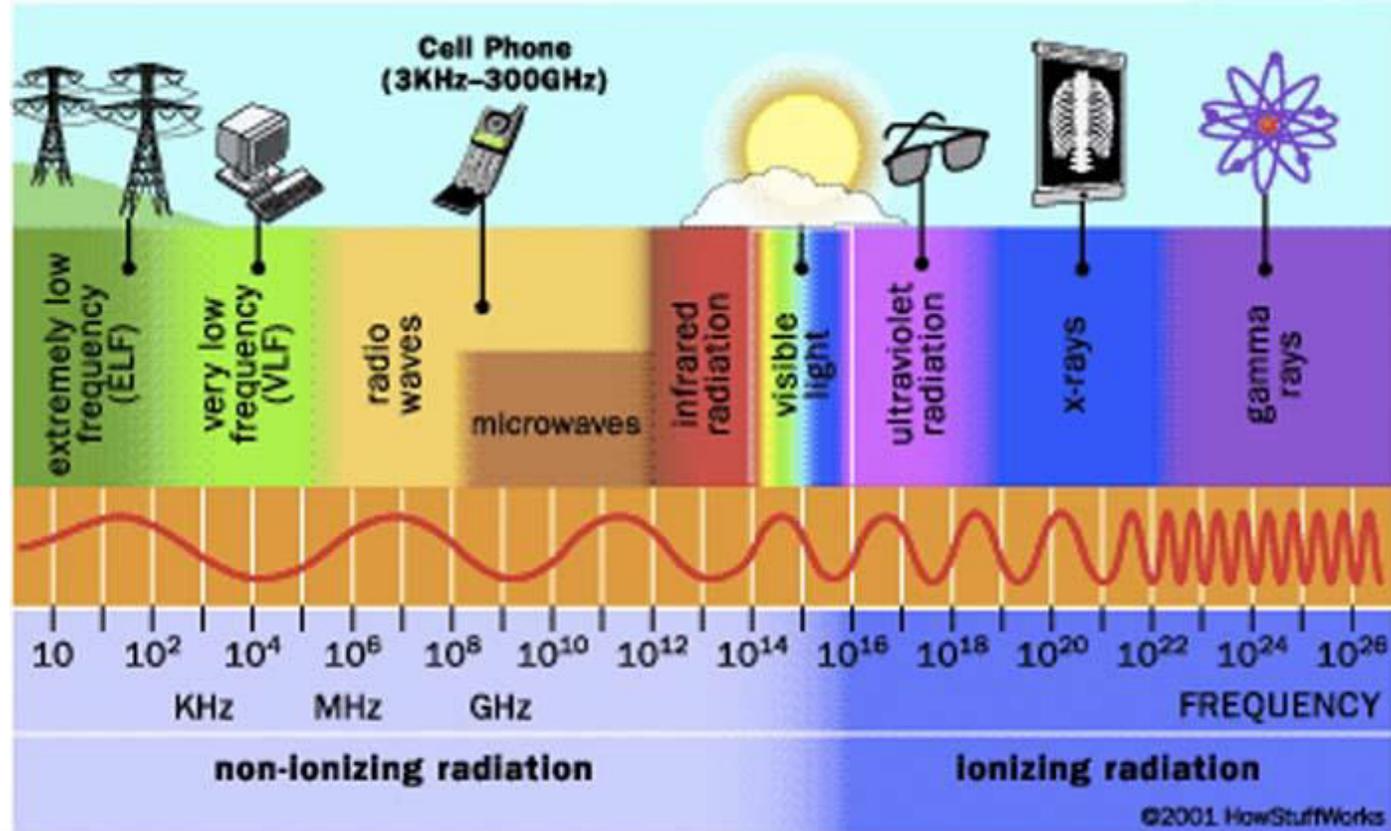
## Propagación de energía por el espacio

Principales tipos de radiaciones que pueden tener efectos sobre los seres vivos:

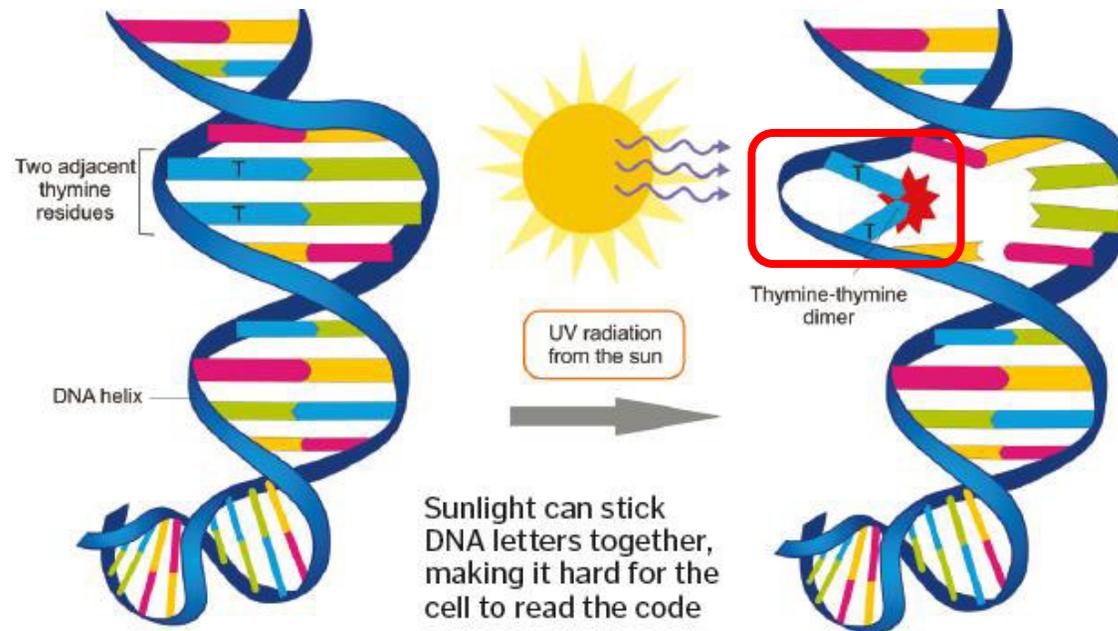


Radiación electromagnética	$\lambda$ (nm)
radiación infrarroja (IR)	780 – 1000.000
radiación visible	400 - 780
ultravioleta (UV)	100 - 400
rayos X	0,01-10
rayos $\gamma$	0,001-0,14
rayos cósmicos	< 0,001

- ❖ El calor es sólo una de las formas de energía que se emplean para esterilizar o reducir la carga microbiana.
- ❖ Las microondas, la radiación UV, los rayos X, las radiaciones gamma ( $\gamma$ ) son tipos de radiación que pueden reducir el crecimiento microbiano de forma eficaz si se aplican en la dosis y tiempo adecuados.
- ❖ Cada tipo de radiación actúa de un modo específico.



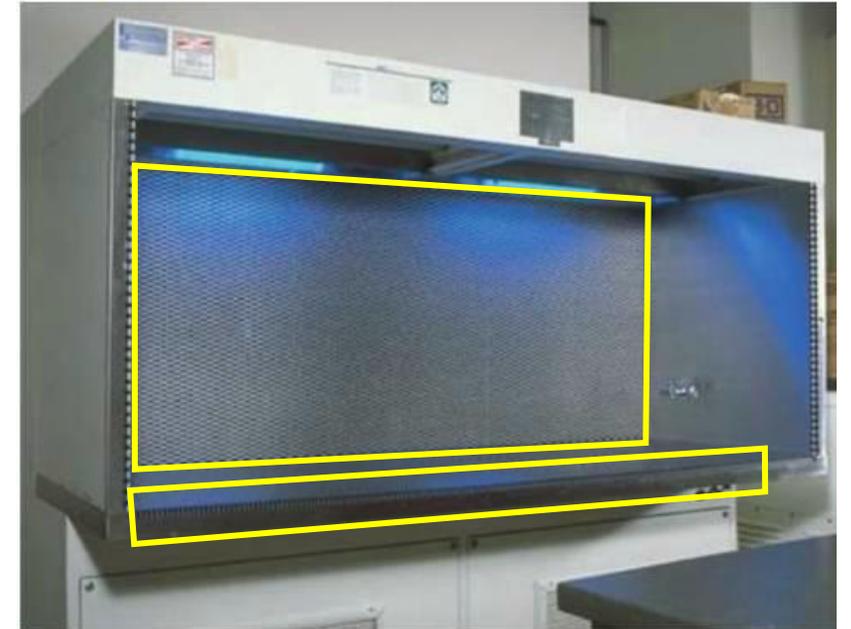
- ❖ La radiación UV entre 220 y 300 nm de  $\lambda$  tiene suficiente energía para causar modificaciones o incluso roturas en el ADN, que en ocasiones provocan la alteración del mismo y la muerte del organismo expuesto.
- ❖ Esta luz UV «casi visible» se utiliza para desinfectar superficies, aire y otros materiales como el agua que no absorben la radiación UV.
- ❖ Las cabinas de los laboratorios de biología vienen equipadas con una lámpara microbicida de luz UV para descontaminar su superficie antes o después de ser utilizadas.
- ❖ La luz UV no penetra las superficies sólidas, opacas y su utilidad se limita a la desinfección de las superficies expuestas.



# CABINA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA



- ❖ Está dotada de una fuente de radiación UV (lámpara de vapor de mercurio), para descontaminar las superficies del interior.
- ❖ La rejilla de metal al fondo cubre un filtro de aire particulado de alta eficacia (HEPA).
- ❖ El aire se toma del exterior de la cabina y se bombea a través del filtro HEPA, el cual retiene las sustancias contaminantes como microorganismos y así entra en la cabina.
- ❖ El aire que está en el interior de la campana se impulsa a través de los conductos de ventilación que rodean la parte frontal, y se redirige hacia el filtro HEPA.
- ❖ La cabina está diseñada para proveer un espacio de trabajo libre de sustancias contaminantes al mismo tiempo que protege al personal investigador, al impedir que el aire fluya directamente hacia el exterior de la cabina.



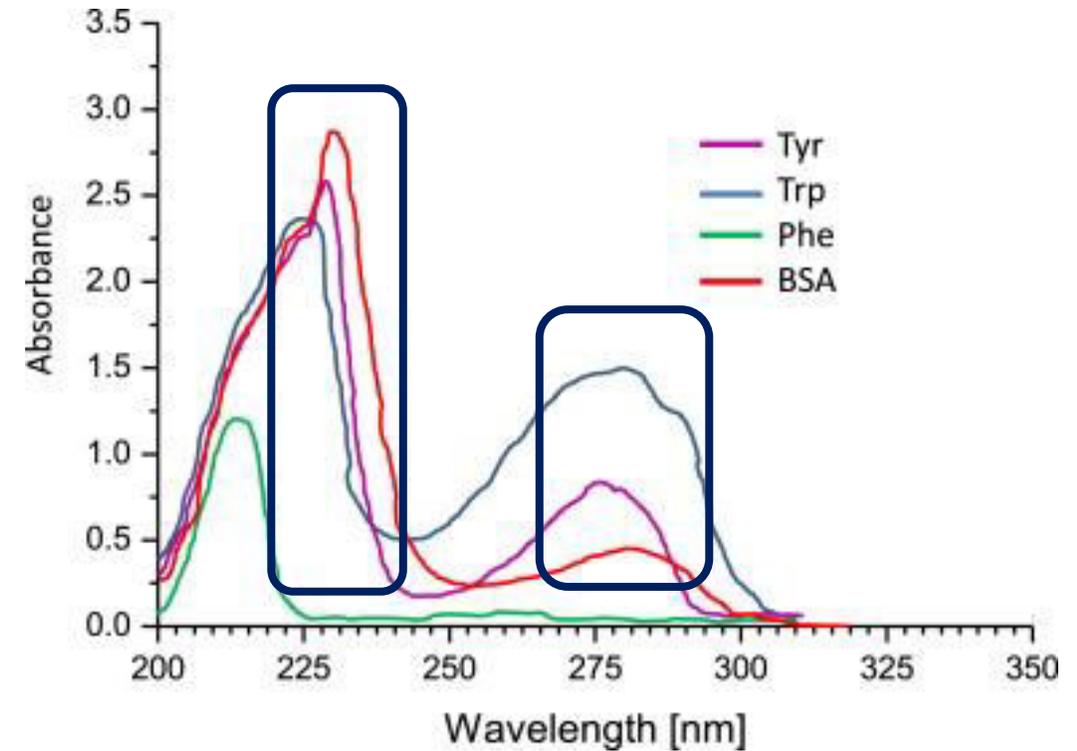
# RADIACIÓN UV

Tiene un efecto letal y mutagénico, que depende de la absorción selectiva de  $\lambda$  por parte de ciertas moléculas biológicas:

## PROTEÍNAS

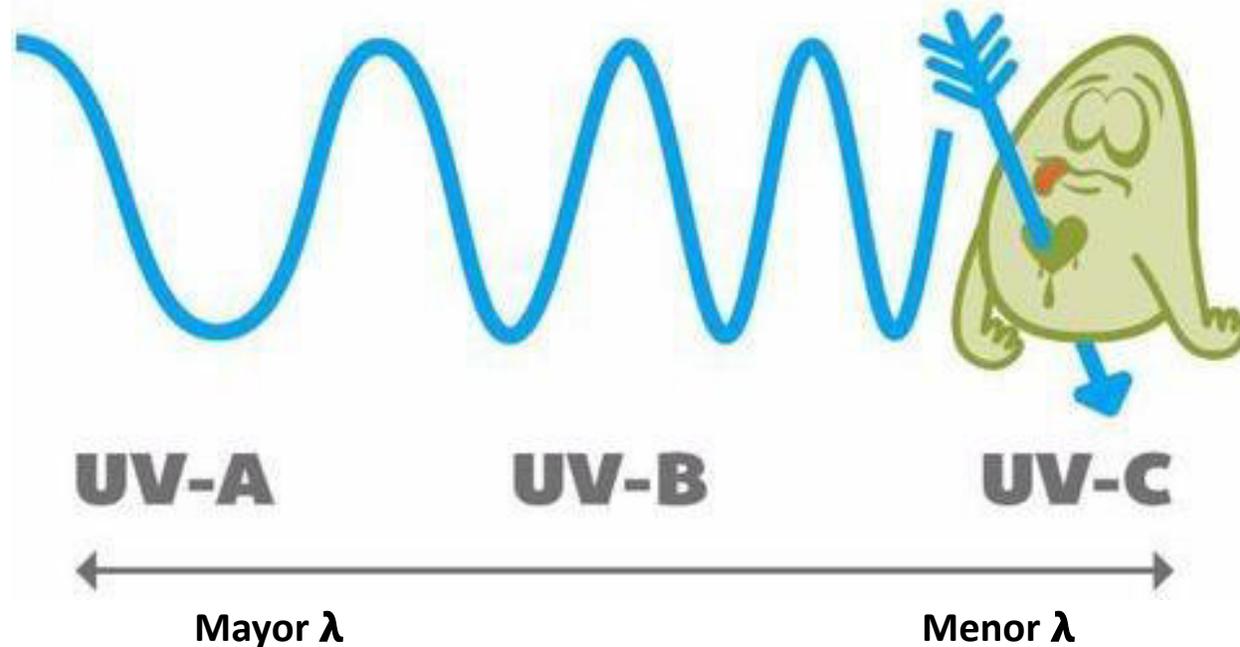
Tienen 2 picos máximos de absorción:

- ✓ uno a 280 nm, debido a los aminoácidos aromáticos (Trp, Tyr, Phe), y
- ✓ otro a 230 nm, debido a los enlaces peptídicos.



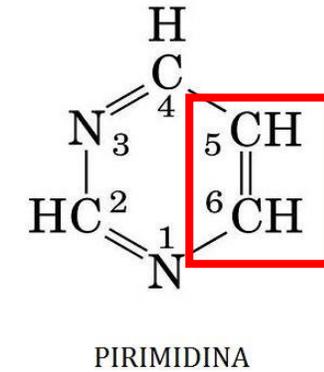
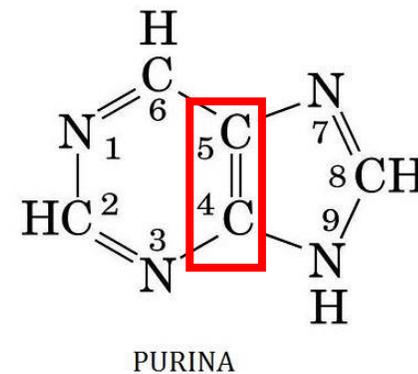
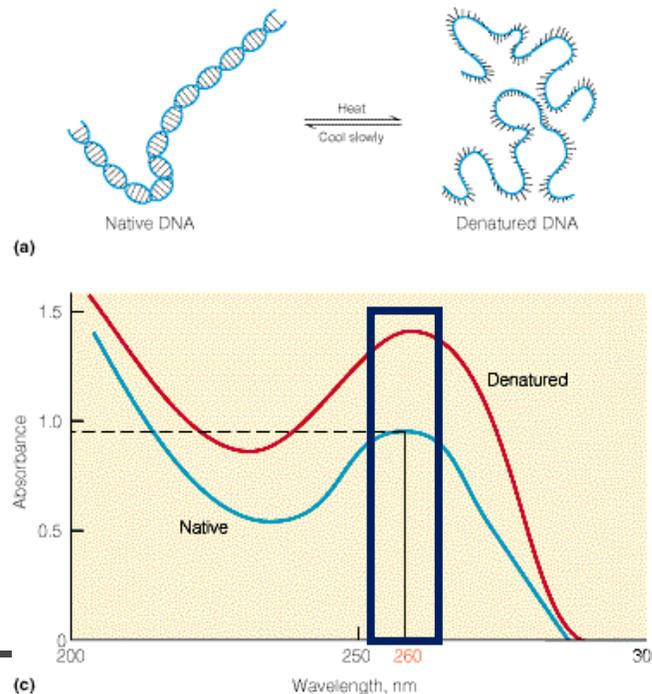


- ❖ Las consecuencias de inactivar proteínas o ARN no se dejan sentir a efectos de letalidad, ya que existen muchas copias de cada uno de estos tipos de macromoléculas, y se pueden volver a sintetizar.
- ❖ En cambio, la inactivación del único cromosoma de los procariontas tiene efectos letales primarios y efectos mutagénicos secundarios.
- ❖ Por lo tanto, el espectro de acción biológica de la luz UV equivale al de absorción del UV por el ADN (260 nm).



# ADN y ARN

- ❖ Absorben a 260 nm, debido al doble enlace entre las posiciones 4 y 5 de las bases púricas y 5 y 6 de las pirimidínicas.
- ❖ Los rayos UV NO TIENEN actividad ionizante, pero provocan cambios químicos en las moléculas absorbentes, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas FOTOPRODUCTOS.
- ❖ Los fotoproductos originan la inactivación de macromoléculas, aunque, el ADN dispone de mecanismos para reparar o eliminar estas modificaciones potencialmente dañinas.



# FOTOPRODUCTOS DEL ADN OCASIONADOS POR LA LUZ UV



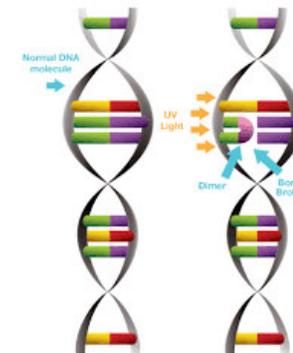
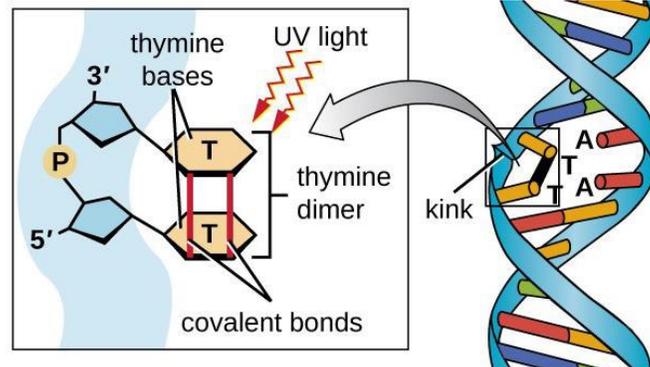
Los fotoproductos generados por la luz UV en el ADN derivan principalmente de alteraciones en las bases PIRIMIDÍNICAS (CITOSINA, TIMINA):

**DÍMEROS DE PIRIMIDINA**  
(anillo ciclobutano)

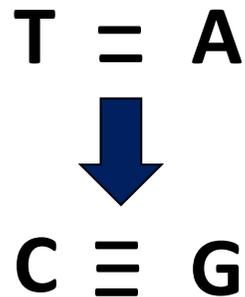
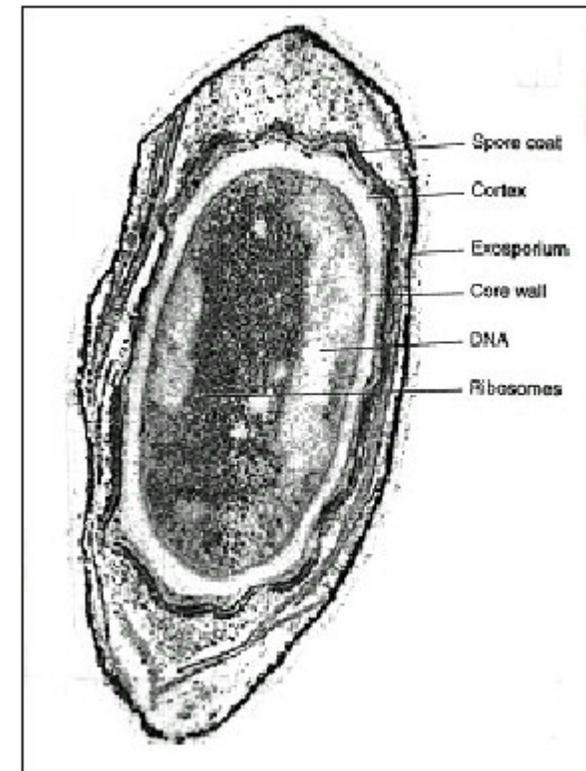
**HIDRATOS DE**  
**PIRIMIDINA**

**FOTOPRODUCTO DE LA ENDOSPORA**  
(5-timinil-5,6-dihidrotimina)

- ❖ Los DÍMEROS DE PIRIMIDINA son los fotoproductos más importantes en las células vegetativas procariotas.
- ❖ El principal es el DÍMERO DE TIMINA (T-T), también se producen T-C y C-C.
- ❖ Son uniones entre 2 pirimidinas adyacentes en la misma hebra de ADN, mediante la creación de un anillo de ciclobutano.
- ❖ Su efecto principal es la distorsión local de la configuración de la doble hélice, que interfiere en el normal emparejamiento de bases complementarias, provocando una interferencia en la replicación y transcripción, y secundariamente en el crecimiento y la respiración.



El fotoproducto de la spora es la 5-timinil-5,6-dihidrotimina.  
Se forma en la endospora bacteriana debido al alto grado de deshidratación, pudiendo ejercer igualmente efectos inactivantes.

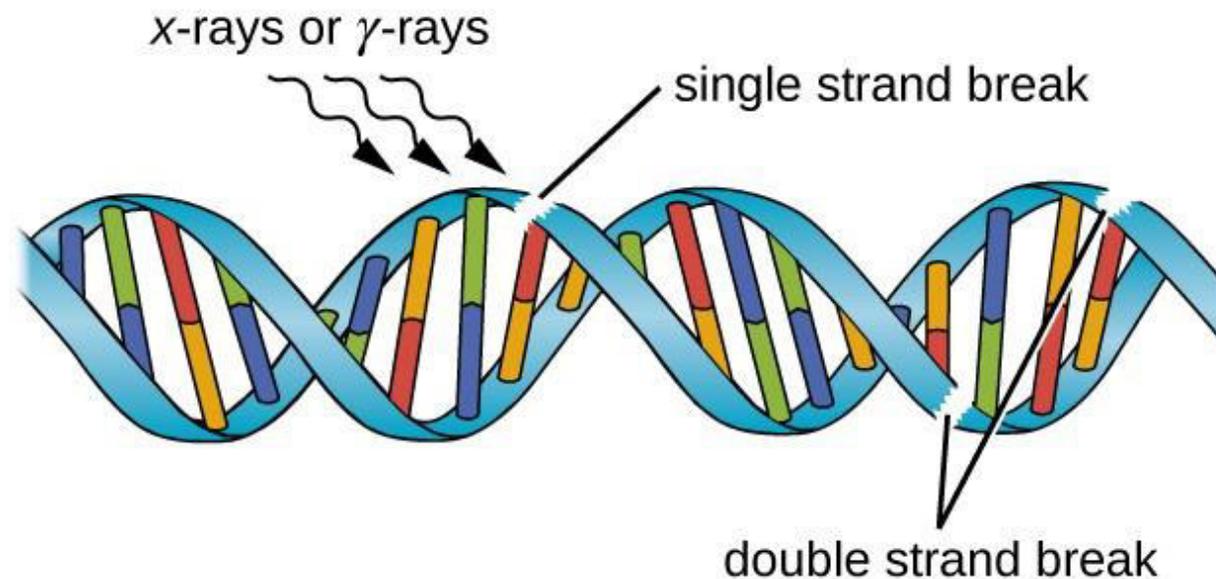


Los hidratos de pirimidina (como la 6-hidroxi-5,6-dihidrotimina) se forman a altas dosis de luz UV. Tienen efecto mutagénico (no letal), favoreciendo la aparición de transiciones T=A a C≡G.

# RADIACIÓN IONIZANTE



- ❖ Tipo de radiación electromagnética con suficiente energía para producir iones y otras especies moleculares reactivas con las que colisionan las partículas de radiación al desprender  $e^-$  de sus orbitales.
- ❖ La radiación ionizante produce  $e^-$ , radicales hidroxilo ( $OH^-$ ) y radicales hídrido ( $H^-$ ).
- ❖ Cada una de estas moléculas reactivas es capaz de degradar y alterar macromoléculas como el ADN y las proteínas.
- ❖ La ionización y la posterior degradación de estas moléculas biológicas importantes provocan la muerte de las células irradiadas.

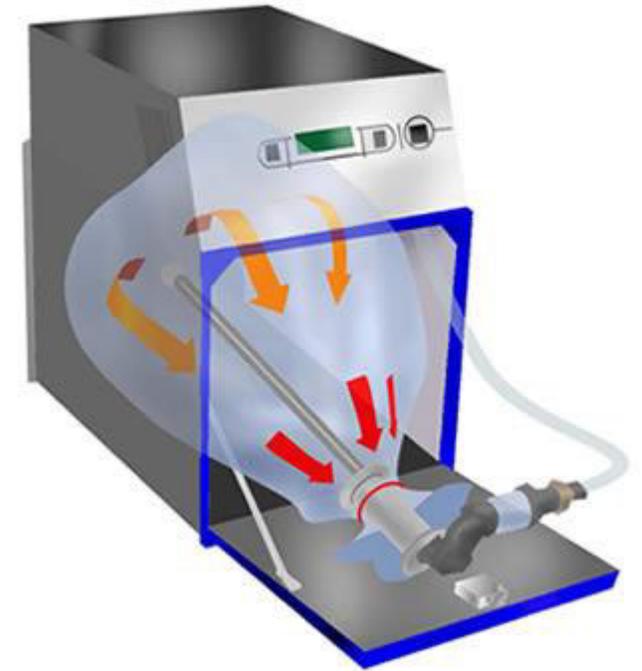


# QUIMIOESTERILIZADORES GASEOSOS

## ESTERILIZACION POR GASES

Para compuestos susceptibles a procesos de calor o radiación

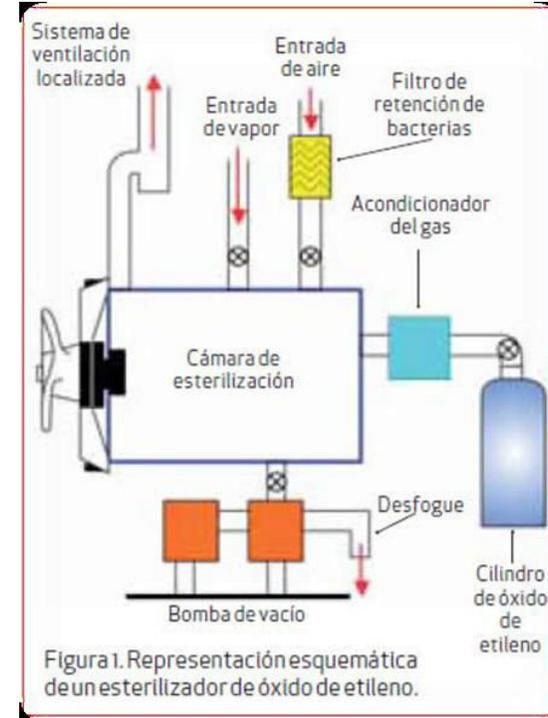
- ❖ La esterilización de polvos secos usando gases resulta inapropiada debido a la incapacidad de los gases para penetrar materiales sólidos.
- ❖ Se trata de un proceso exento de presión.
- ❖ La mayoría de los procesos de esterilización emplean Oxido de Etileno.
- ❖ OE, Ozono, Óxidos de nitrógeno mezclados y dióxido de cloro.



# ESTERILIZACION POR OXIDO DE ETILENO



- ❖ Es un agente químico con alto poder microbicida (bactericida, fungicida y antiviral) que puede ser utilizado para esterilizar artículos sensibles al calor y a la humedad.
- ❖ Actúa como agente alquilante, provocando una modificación irreversible en enzimas inhibiendo su actividad.
- ❖ Es un proceso de esterilización a baja temperatura (55°C).
- ❖ Es un gas o líquido incoloro, puro que penetra con facilidad a través de materiales de goma y plástico en estado gaseoso.
- ❖ Es un agente esterilizante muy eficaz ya que esteriliza todos los materiales termo sensibles que no se pueden esterilizar con vapor.
- ❖ El material esterilizado requiere aireación para eliminar los residuos del gas (≈12 h).





## **MATERIALES QUE PUEDEN ESTERILIZARSE CON ÓXIDO DE ETILENO**

- ❖ Plásticos.
- ❖ Gomas sensibles.
- ❖ Instrumental óptico.
- ❖ Material eléctrico.
- ❖ Implantes.
- ❖ Prótesis.

## **MATERIALES QUE NO DEBEN ESTERILIZARSE CON ÓXIDO DE ETILENO**



- ❖ Materiales y dispositivos capaces de reaccionar químicamente con el agente esterilizante, neutralizando su actividad como tal.
- ❖ Proteínas naturales como colágeno.
- ❖ Material textil de algodón (gasas, ropa, etc.).
- ❖ Soluciones acuosas.
- ❖ Grasas y Aceites.
- ❖ Polvos.

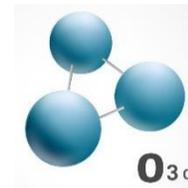


- Eficaz en la esterilización de elementos termo sensibles.
- Penetra todo el material poroso.
- El uso de controles automáticos excluye el error humano.
- No deja residuos.



- Se deben realizar pruebas biológicas antes de utilizar los materiales esterilizados.
- La esterilización lleva mucho tiempo y alarga el proceso al igual que el tiempo de aireación es muy lento.
- Puede formar productos secundarios.
- Con el continuo uso puede causar o dejar residuos tóxicos.
- Es altamente toxico al contacto e irritante.
- A largo plazo pude producir leucemias o neuropatías.
- Es explosivo.

# ESTERILIZACIÓN CON OZONO



- ❖ Se obtiene a partir del oxígeno y se esteriliza mediante oxidación, ya que destruye la materia orgánica e inorgánica, penetra en la membrana celular y las hace estallar.
- ❖ Su funcionamiento es sencillo y económico, utilizando oxígeno, agua y electricidad.
- ❖ Es una alternativa para la esterilización con OE, para la mayoría de artículos sensibles al calor y la humedad.
- ❖ No afecta al titanio, cromo, silicona, neopreno y teflón.
- ❖ NO requiere de aireación, NO deja residuos y se convierte en O<sub>2</sub> en poco tiempo.
- ❖ Puede resultar corrosivo al acero, hierro, cobre, latón y aluminio, y destruir artículos de goma, látex y plásticos.





# ESTERILIZACIÓN CON DIÓXIDO DE CLORO

- ❖ Es un gas esterilizante efectivo.
- ❖ Es metaestable.
- ❖ No es carcinogénico, ni inflamable y resulta efectivo a temperatura ambiente.
- ❖ Su capacidad para penetrar materiales puede ser menor que la del OE.

# ESTERILIZACIÓN CON DIÓXIDO DE NITRÓGENO

- ❖ Es un gas esterilizante efectivo a temperatura ambiente.
- ❖ Se convierte en gas al introducirse en la cámara de esterilización.
- ❖ No es explosivo, sus residuos no son carcinogénicos, citotóxicos ni teratogénicos.
- ❖ Es incompatible con materiales celulósicos tales como el papel y cartón.



# MONITORIZACIÓN DEL CICLO DE ESTERILIZACIÓN



a) **CONTROLES FÍSICOS**: antes de cada ciclo debe verificarse que los sistemas de registro (de temperatura, humedad, concentración de óxido de etileno) están dispuestos para su correcto funcionamiento; después del ciclo se valora que los parámetros registrados en gráficos y/o impresos son los correctos.

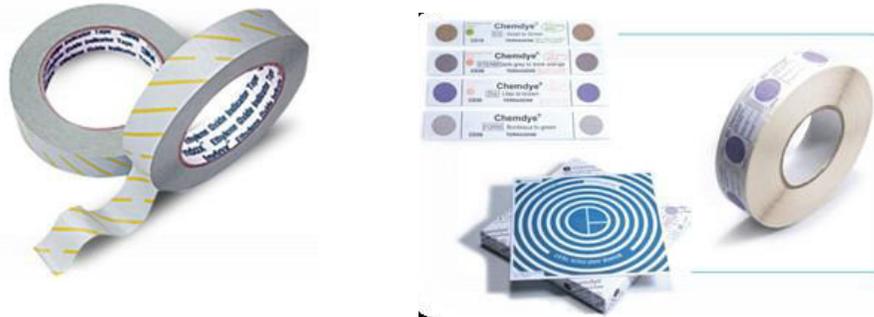
b) **CONTROLES QUÍMICOS ESPECÍFICOS PARA ÓXIDO DE ETILENO**: antes de esterilizar se envuelve el material y se precinta externamente con cinta adhesiva, la cual lleva incorporado un indicador químico; este indicador externo sirve para comprobar externamente de forma fácil que el material o equipo ha sido sometido al proceso de esterilización.

c) **CONTROLES BIOLÓGICOS**: a través de portadores inoculados con esporas de *Bacillus subtilis* que se colocan dentro de un contenedor o bolsa que también se esteriliza, colocado en el lugar donde el OE accede con mayor dificultad.

Según el tipo de portador utilizado, después de la esterilización se incuba en el laboratorio.

# QUÍMICOS

- ❖ Las etiquetas indicadoras de validación se introducen dentro del paquete en la parte central durante un ciclo de esterilización.
- ❖ Están diseñadas por bandas de color ROJO que al concluir el ciclo de esterilización cambian a color VERDE, cubriendo los parámetros: Temperatura, tiempo, humedad y concentración de óxido de etileno.



# BIOLÓGICOS



- ❖ Ampollas que en su interior contienen caldo de cultivo con esporas de *B. subtilis*.
- ❖ Terminado el periodo de incubación si el color del caldo de cultivo cambió a color AMARILLO, la esterilización no fue efectiva.
- ❖ La forma ideal de control biológico es en cada carga o turno, o una vez al día en cada esterilizador, y en el último de los casos comprobar en cada esterilizador una vez por semana.



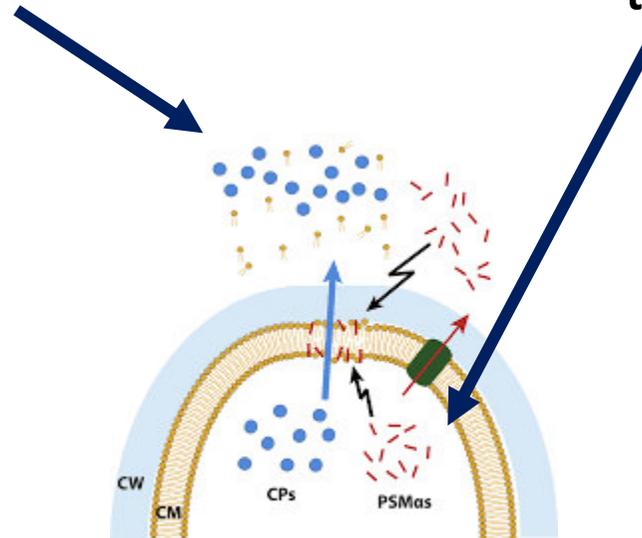
# AGENTES QUE DAÑAN LA MEMBRANA CELULAR



Los solventes orgánicos (fenoles, alcoholes) y los desinfectantes tensioactivos (detergentes) dañan la integridad estructural de la membrana (la disposición ordenada de lípidos y proteínas), de modo que interfieren con su función, ejerciendo un efecto neto de:

Salida de pequeñas moléculas de la célula

Interferencia con procesos de transporte y metabolismo energético





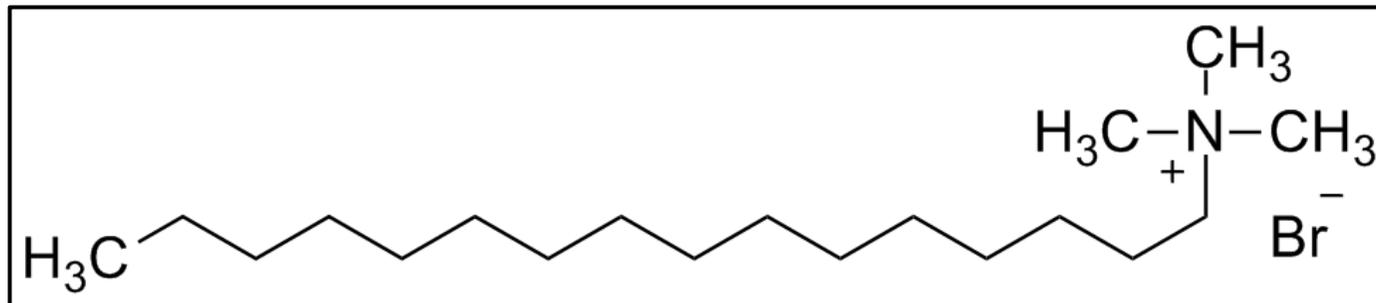
# DETERGENTES CATIÓNICOS

Son los detergentes más potentes en cuanto a su actividad desinfectante, siendo activos contra bacterias Gram + y Gram -.

Los principales son los compuestos de amonio cuaternario

Sales de amonio cuaternario, sobre todo aquellas que van como cloruros o bromuros.

Las sales de amonio cuaternario más activas son aquellas que tienen 3 grupos alquílicos cortos y un grupo alquílico largo: cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio.





# MECANISMO DE ACCIÓN:



- ❖ La porción hidrófoba penetra en las membranas, mientras que el grupo polar catiónico se asocia con los fosfatos de los fosfolípidos, provocando alteraciones en dichas membranas, reflejadas en la pérdida de su semipermeabilidad, con salida de metabolitos desde el citosol.
- ❖ Es entonces cuando el detergente puede entrar al interior celular, con un efecto secundario de **DESNATURALIZACIÓN DE PROTEÍNAS**.
- ❖ Su actividad se mejora a pH alcalino.
- ❖ Son rápidamente bactericidas a concentraciones muy bajas (del orden de 1 ppm), siempre que en el material a tratar no exista materia orgánica.

## USOS, VENTAJAS E INCONVENIENTES:

- ❖ Tienen baja toxicidad, por lo que se pueden emplear como desinfectantes y antisépticos de la piel.
- ❖ Se emplean igualmente en la desinfección de material de industrias alimentarias.
- ❖ Su actividad se ve neutralizada por jabones y fosfolípidos, precipitando en su presencia.



# DETERGENTES ANIÓNICOS

- ✓ Liberan una carga negativa (anión) en solución acuosa.
- ✓ su parte hidrófila se carga negativamente.

## PORCIÓN HIDRÓFILA:

### Grupos carboxilo

- ✓ jabones
- ✓ saponinas
- ✓ sales biliares
- ✓ ácidos grasos disociables

### Grupos sulfato

SDS: dodecilsulfato sódico / laurilsulfato sódico / sulfonato de alquilbenceno

## MECANISMO:

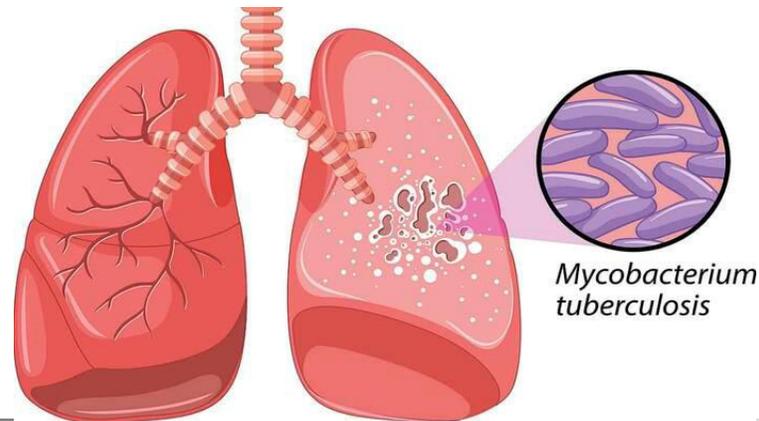
- Provocan una gran disrupción de membranas, con efectos de lisis.
- Son activos sobre todo a pH ácido, preferentemente sobre bacterias Gram +, pero poco sobre Gram -, al estar más protegidas por la barrera del lipopolisacárido de la membrana externa.

## USOS:

- Cuando los detergentes aniónicos se combinan con ácidos, se logran desinfectantes sanitarios muy potentes (debido al efecto sinérgico de ambos componentes) y de rápida actuación (30 seg).

## ACIDOS Y ÁLCALIS FUERTES

- ❖ Son activamente bactericidas, debido a sus grupos  $H^+$  y  $OH^-$  disociados, respectivamente.
- ❖ Su actividad es proporcional al grado de disociación, pero algunos hidróxidos son más potentes de lo sugerido por su mero grado de disociación, debido a la acción tóxica directa que puede ejercer el catión metálico.
- ❖ Existen ciertas especies bacterianas que resisten relativamente bien la acción de bases fuertes como *Mycobacterium tuberculosis*.
- ❖ Esto se aprovecha para aislarlo y purificarlo: se licúa un esputo de enfermo sospechoso en una solución 1M de NaOH y se deja 30 minutos antes de sembrar, sobreviviendo bajo estas condiciones, prácticamente sólo *M. tuberculosis*.



# ÁCIDOS ORGÁNICOS

- ❖ Los ácidos orgánicos, que son poco dissociables, ejercen su efecto en cuanto moléculas intactas (sin dissociar), que penetran a la célula.
- ❖ El ácido benzoico y el ácido sórbico se usan ampliamente como conservantes alimentarios.
- ❖ El acético, láctico, propiónico son conservantes naturales en alimentos fermentados.
- ❖ Estos mismos, así como el cítrico se pueden añadir a otros tipos de alimentos, para prolongar el periodo de posible almacenamiento de los productos.





# AGENTES MODIFICANTES DE GRUPOS FUNCIONALES DE PROTEINAS Y DE ACIDOS NUCLEICOS

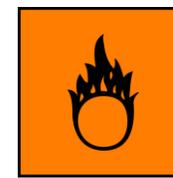
- ❖ Alteran grupos que forman parte de los centros activos de enzimas y otras proteínas.
- ❖ Alteran grupos funcionales de ácidos nucleicos, componentes de pared y de membrana.

- ✓ Metales pesados
- ✓ Agentes oxidantes
- ✓ Tinturas de colorantes
- ✓ Agentes alquilantes

## METALES PESADOS

- Las sales solubles de Hg, As, Ag, Cu, "envenenan" la actividad enzimática .
- También interaccionan con  $-NH_2$ ,  $-COOH$  y radicales fosfato.
- Los más efectivos son los derivados del mercurio y de la plata (actúan a menos de 1 ppm).

# AGENTE OXIDANTE



- ❖ Reactivo que elimina  $e^-$  de otros reactivos en una reacción redox.
- ❖ El agente oxidante toma  $e^-$ , reduciéndose.
- ❖ Un agente oxidante es un aceptor de  $e^-$ .
- ❖ Un agente oxidante también se puede ver como una especie capaz de transferir átomos electronegativos (especialmente oxígeno) a un sustrato.
- ❖ Peróxido de hidrógeno, ozono, oxígeno, nitrato de potasio, y ácido nítrico.
- ❖ Todos los halógenos son agentes oxidantes (cloro, bromo, flúor)
- ❖ Los efectos son la inactivación de proteínas enzimáticas convirtiendo los radicales -SH en disulfuros -S-S-.
- ❖ Los más potentes también atacan radicales amino, el grupo indol (presente en el triptófano) y la tirosina.

# AGUA OXIGENADA



- ❖ El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), en solución al 3%, se usó como desinfectante, pero está actualmente en desuso, debido a que algunas bacterias son resistentes, por poseer catalasas y peroxidasas.
- ❖ Además, en desinfección de heridas abiertas su efecto es muy pobre, porque el agua oxigenada es descompuesta por la catalasa tisular.
- ❖ Usado en desinfección de superficies inertes y equipos quirúrgicos.



**GRACIAS**



**POR SU ATENCION**

