

# RIESGO MICROBIOLÓGICO EN AMBIENTES INDUSTRIALES Y RESISTENCIA A LA DESINFECCIÓN.

Virginia Montero Campos, Ph.D  
Instituto Tecnológico de Costa Rica

bacteriófago Q $\beta$   
24 nm

adenovirus  
90 nm

bacteriófago T4

225 nm

VIH (virus del SIDA)  
100 nm

célula hepática humana  
alrededor de 30  $\mu$ m de  
diámetro  
(30 000 nm)

poliovirus  
30 nm

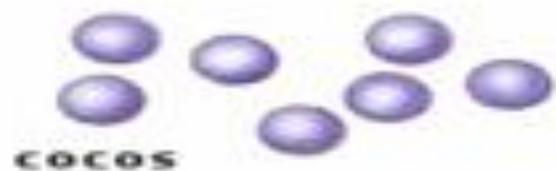
virus vaccinia  
300 nm  $\times$  200 nm  $\times$  200 nm

virus del mosaico del tabaco  
250 nm  $\times$  18 nm

virus de la rabia  
170 nm  $\times$  70 nm

Escherichia coli (bacteria)  
3  $\mu$ m  $\times$  1  $\mu$ m (3000 nm  $\times$  1000 nm)

# FORMA (0,5 a 3 $\mu\text{m}$ )



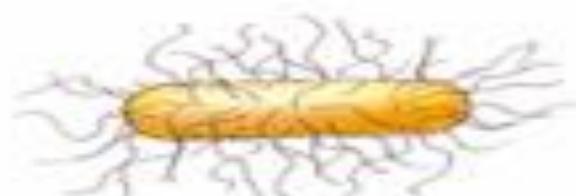
**cocos**



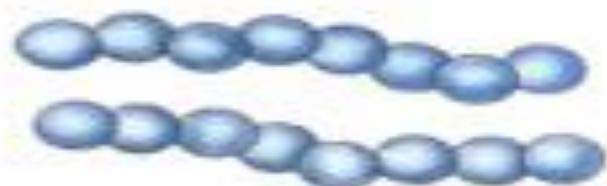
**esporos bacterianos**



**diplococos**



**bactéria flagelada**



**estreptococos**



**estafilococos**



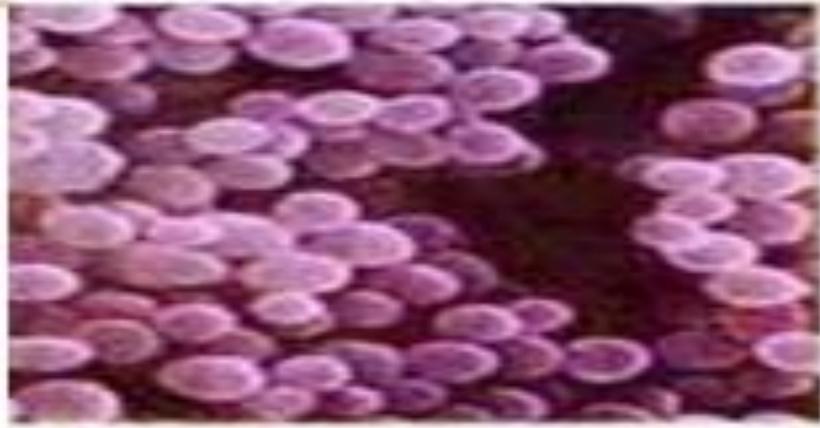
**vibriões**



**espirilos**

**bacilos**

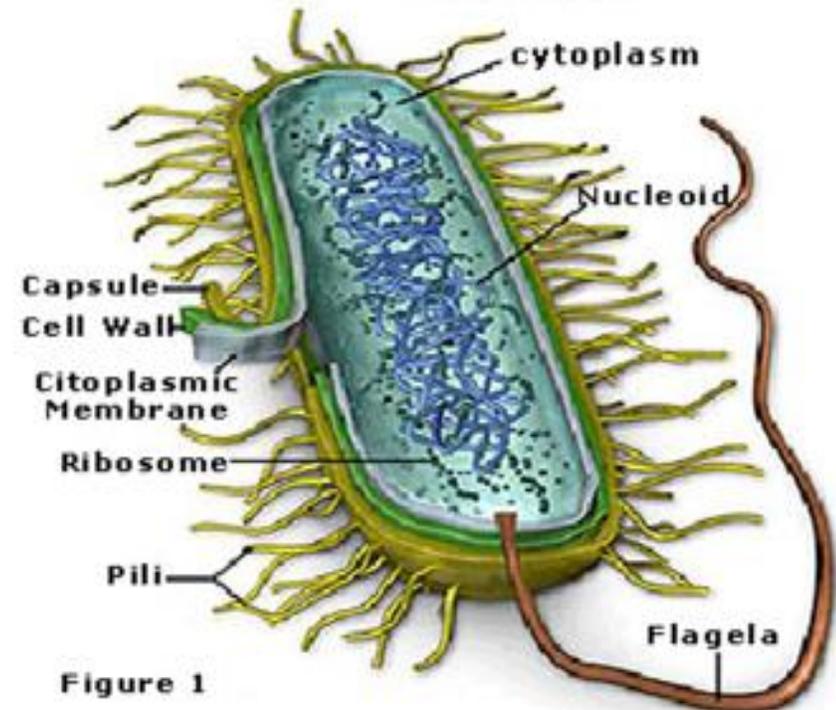




# FACTORES QUE AFECTAN LA ACCIÓN DE LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

- Debido a que los microorganismos son entes biológicos, muchas de sus características estructurales influyen sobre su comportamiento frente a un desinfectante.

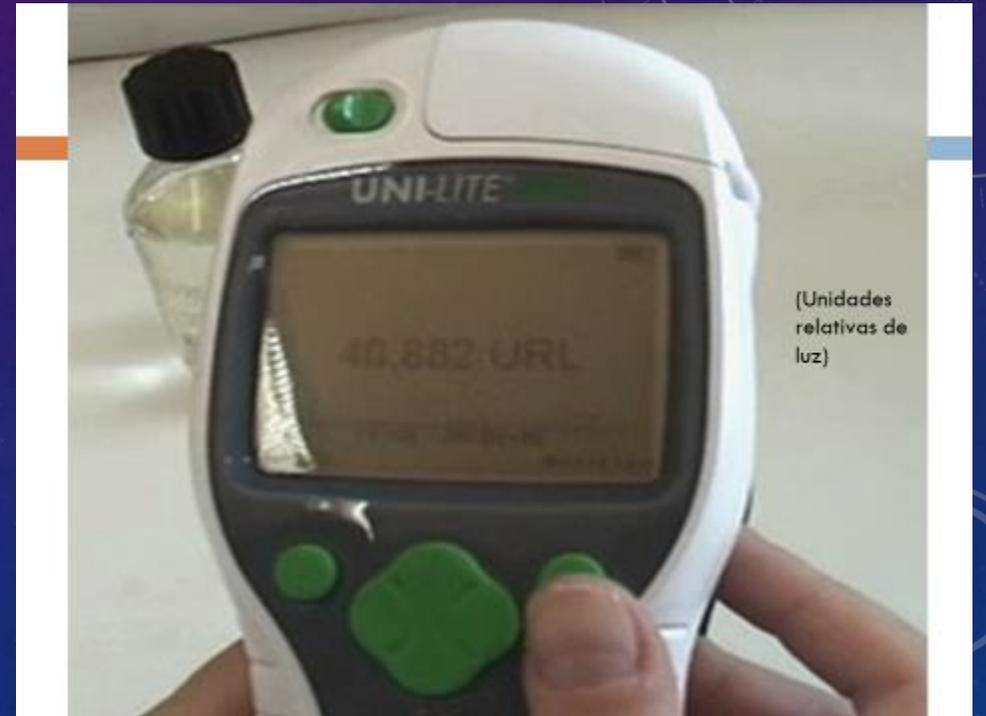
## ESTRUCTURA:



## NO SE PERMITE EN UNA PLANTA DONDE SE MANIPULEN ALIMENTOS:

- También, influyen ciertas condiciones del ambiente y los materiales industriales sobre la eficacia del agente desinfectante (plásticos, maderas, superficies porosas) no se pueden desinfectar adecuadamente.

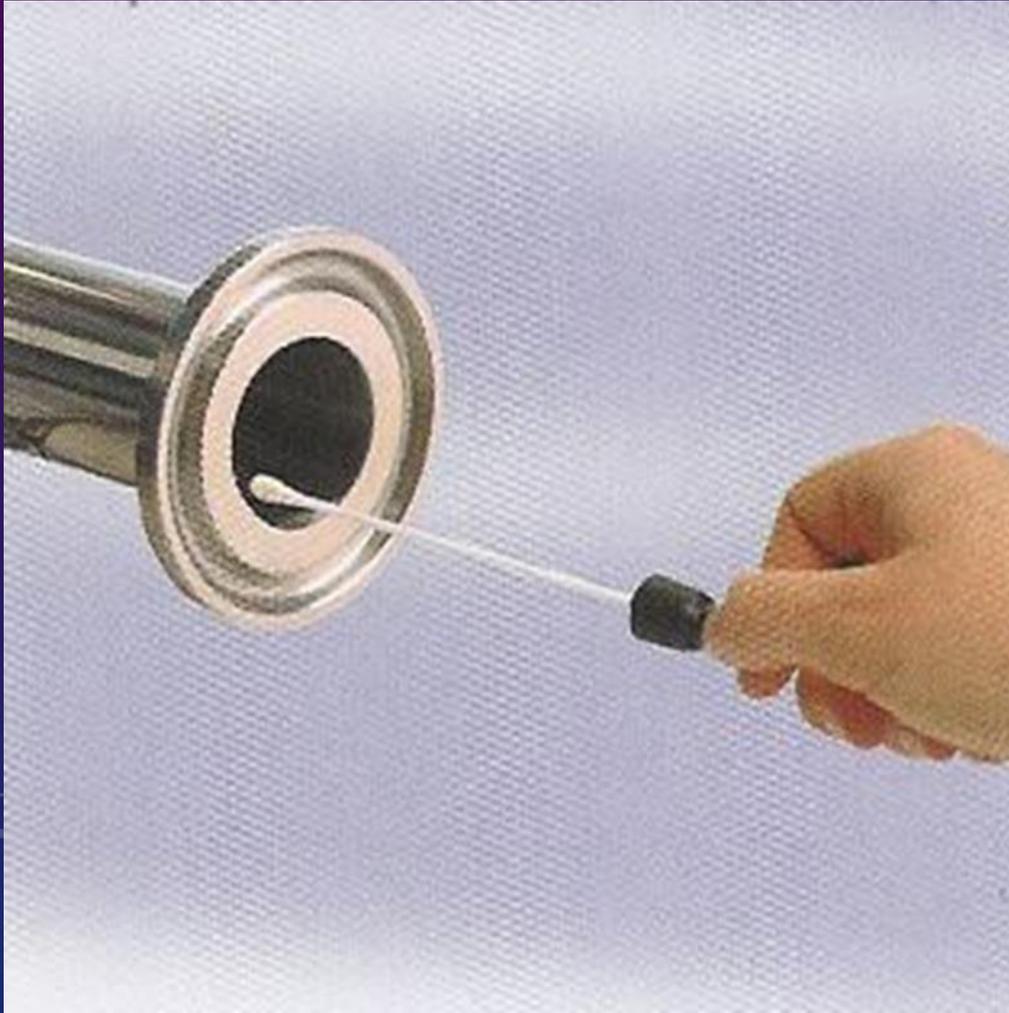








# SITIOS DE DIFÍCIL DESINFECCIÓN



| Recuentos (ufc/m <sup>3</sup> ) | Nivel           |
|---------------------------------|-----------------|
| 0-100                           | Limpio          |
| 101-140                         | Aceptable       |
| 141-200                         | Contaminado     |
| >201                            | Muy Contaminado |

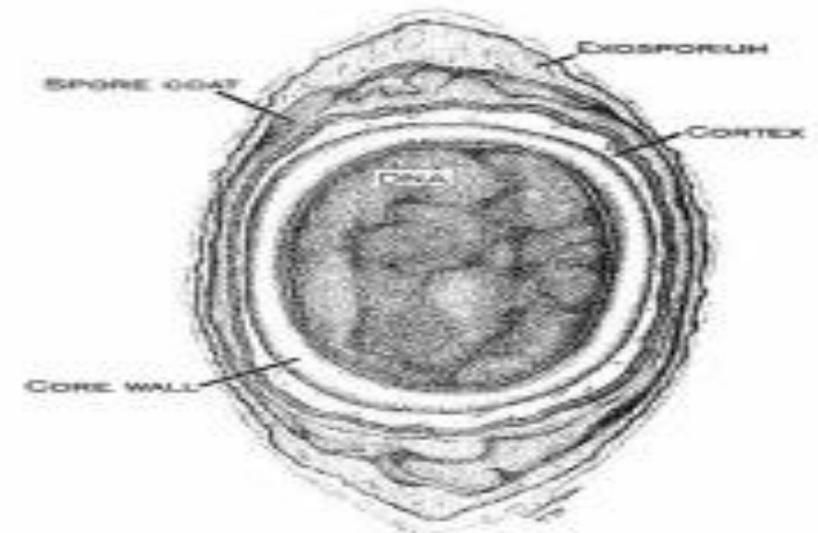
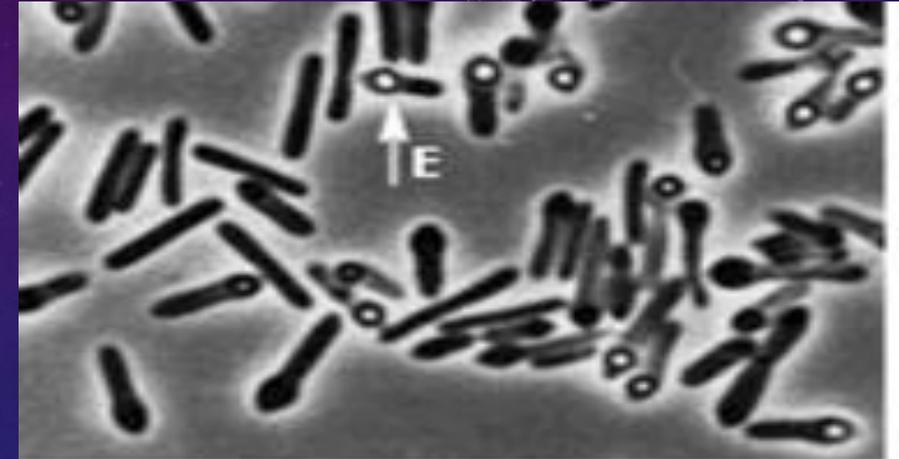


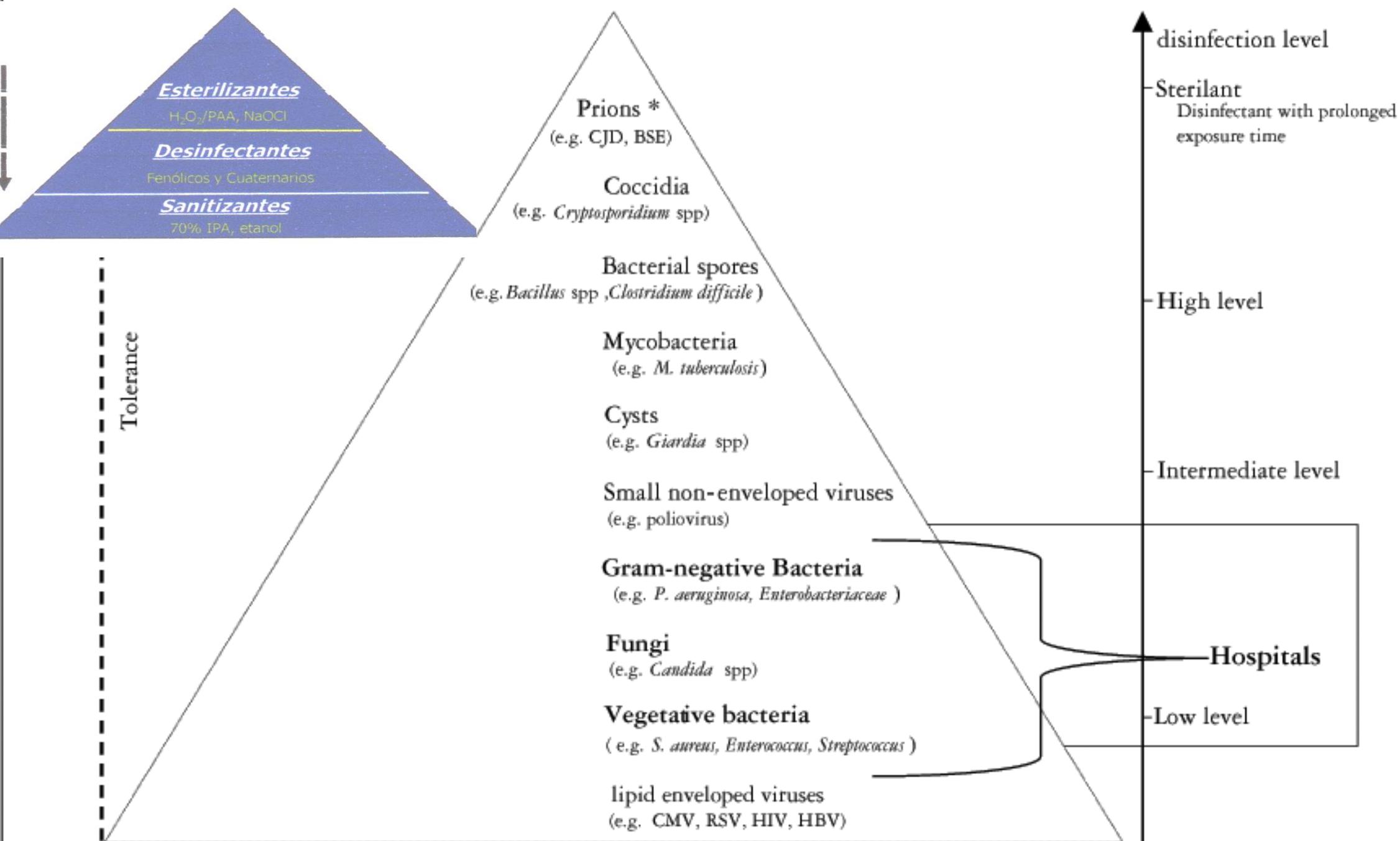
Así dependiendo del tipo de empresa hay temor a la contaminación con ciertos tipos específicos de microorganismos:

- Industria láctea, leche en polvo: termodúricos esporulados.
- Industria farmacéutica, cremas: *Pseudomonas aeruginosa*
- Industria de refrescos no carbonatados: acidúricos esporulados.
- Industria cervecera: Levaduras salvajes, acidúricos, coliformes totales

# FACTORES QUE AFECTAN LA ACCIÓN DE LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

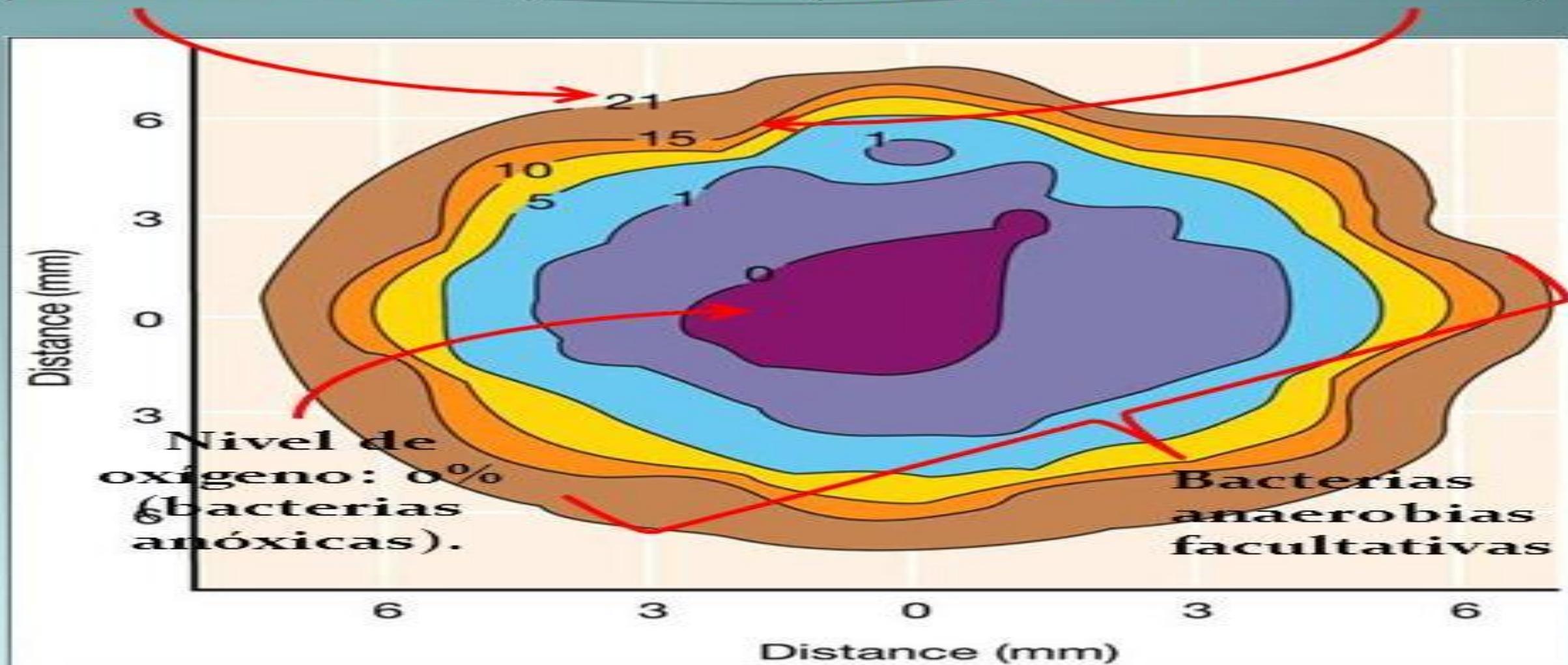
- Tipo de microorganismo: los diferentes microorganismos varían en su susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, tomando en cuenta la formación de esporas bacterianas o estructuras de resistencia.





Nivel de oxígeno: 21%  
(bacterias aerobias)

Nivel de oxígeno: 10-15%  
(bacterias microaeróbilas)



*A escala microbiana, una partícula de suelo consiste de múltiples microambientes en los cuales se distribuyen gradientes de nutrientes o gases esenciales (fuente: Brock, 12th edition).*

# MECANISMOS DE ACCIÓN

TABLE 2. Summary of mechanisms of antibacterial action of antiseptics and disinfectants

| Target                                    | Antiseptic or disinfectant  | Mechanism of action   |
|---|---|---|
| Cell envelope (cell wall, outer membrane) | Glutaraldehyde<br>EDTA, other permeabilizers                        | Cross-linking of proteins<br>Gram-negative bacteria: removal of $Mg^{2+}$ , release of some LPS   |
| Cytoplasmic (inner) membrane              | QACs<br>Chlorhexidine<br><br>Diamines<br>PHMB, alexidine<br>Phenols | Generalized membrane damage involving phospholipid bilayers<br>Low concentrations affect membrane integrity, high concentrations cause congealing of cytoplasm<br>Induction of leakage of amino acids<br>Phase separation and domain formation of membrane lipids<br>Leakage; some cause uncoupling |
| Cross-linking of macromolecules           | Formaldehyde<br>Glutaraldehyde                                      | Cross-linking of proteins, RNA, and DNA<br>Cross-linking of proteins in cell envelope and elsewhere in the cell   |
| DNA intercalation                         | Acridines   | Intercalation of an acridine molecule between two layers of base pairs in DNA   |
| Interaction with thiol groups             | Silver compounds  | Membrane-bound enzymes (interaction with thiol groups)  |
| Effects on DNA                            | Halogens<br>Hydrogen peroxide, silver ions                          | Inhibition of DNA synthesis<br>DNA strand breakage  |
| Oxidizing agents                          | Halogens<br>Peroxygens  | Oxidation of thiol groups to disulfides, sulfoxides, or disulfoxides<br>Hydrogen peroxide: activity due to from formation of free hydroxy radicals ( $\cdot OH$ ), which oxidize thiol groups in enzymes and proteins; PAA: disruption of thiol groups in proteins and enzymes                      |

# ESTRATEGIAS DE LOS MICROORGANISMOS PARA RESISTIR LOS DESINFECTANTES

## Propias o adquiridas

- Producción de enzimas que destruyen el agente antimicrobiano antes que este alcance su blanco o modifican el agente antimicrobiano de tal forma que ya no puede ser reconocido por su blanco.
- La pared celular se vuelve impermeable al agente antimicrobiano.
- El sitio de ataque es alterado por mutación, de tal manera que ya no permite la unión del agente antimicrobiano.

- El microorganismo posee una bomba de eflujo que expelle al agente antimicrobiano de la célula antes que este alcance su blanco.
- Las rutas metabólicas específicas dentro de la bacteria son alteradas genéticamente para que el agente antimicrobiano no pueda provocar efecto.

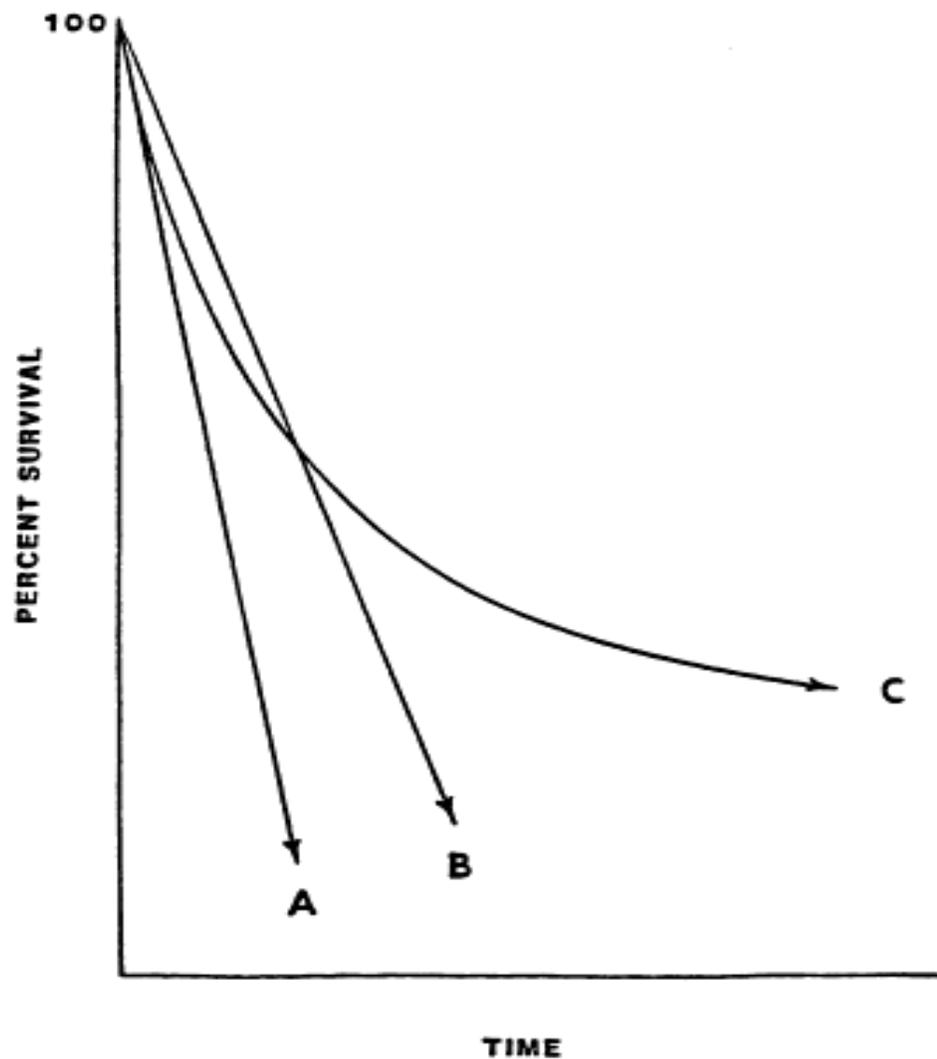


FIGURE 2. Effects of microorganism type and state on disinfection survival curves: (A) sensitive homogeneous populations; (B) more resistant homogeneous population; (C) heterogeneous population or partially protected by aggregation, etc.

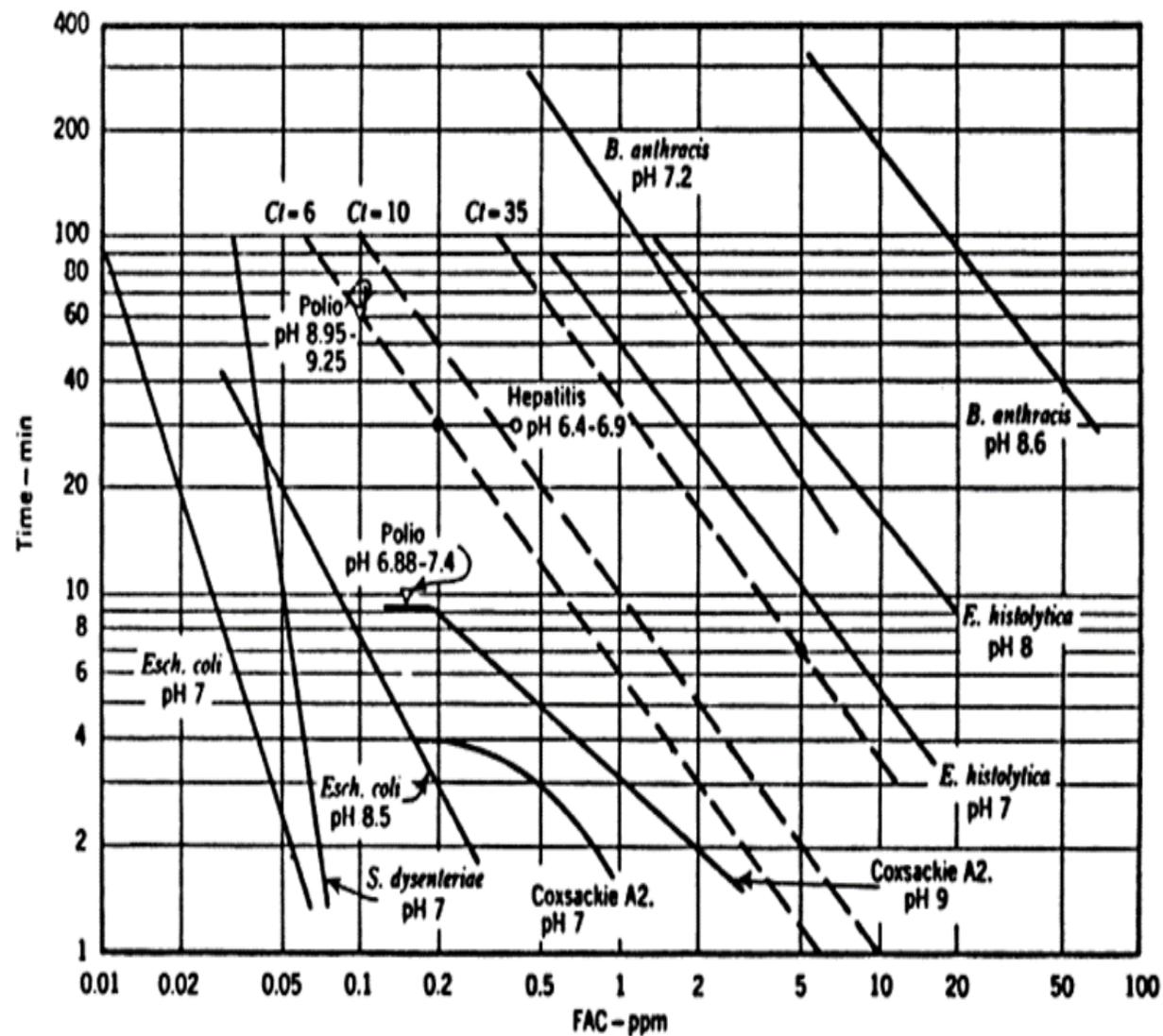


FIGURE 1. Inactivation of microorganisms by free chlorine at 20-29°C. From Baumann and Ludwig (2). Reproduced with permission.

# RESISTENCIA EN BIOFILMES

TABLE 8. Biofilms and microbial response to antimicrobial agents

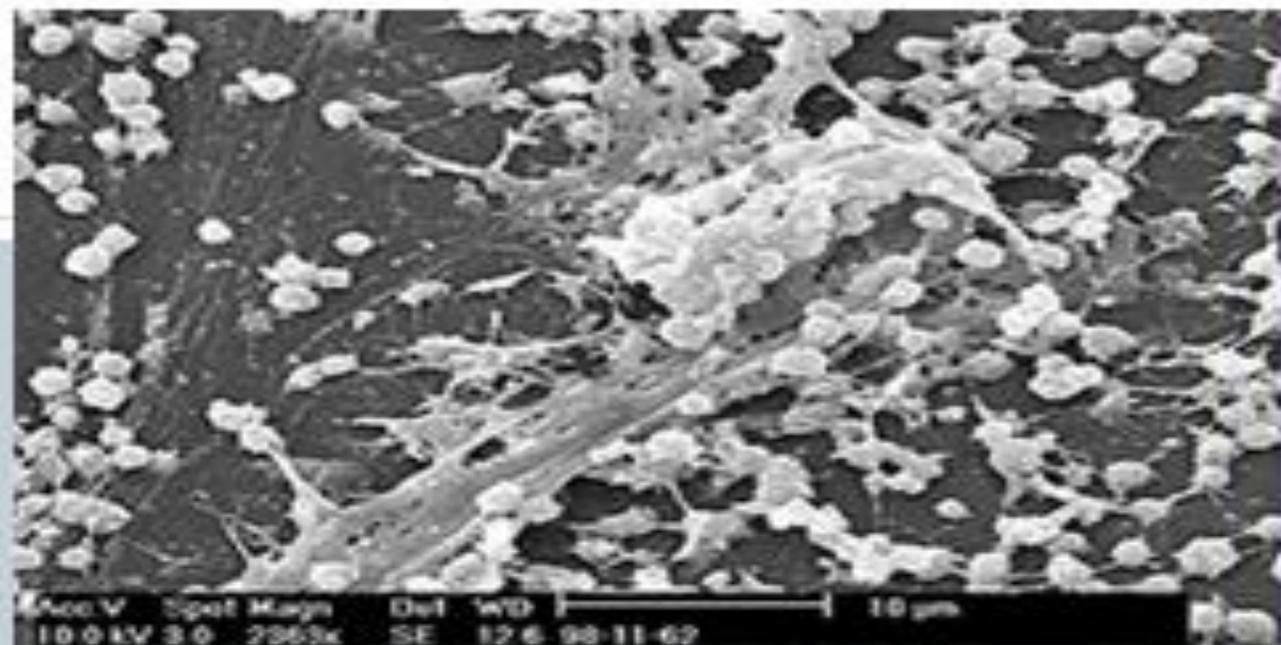
| Mechanism of resistance associated with biofilms                                  | Comment   |
|---|---|
| Exclusion or reduced access of antiseptic or disinfectant to underlying cell..... | Depends on (i) nature of antiseptic/disinfectant, (ii) binding capacity of glycocalyx toward antiseptic or disinfectant, and (iii) rate of growth of microcolony relative to diffusion rate of chemical inhibitor |
| Modulation of microenvironment .....  | Associated with (i) nutrient limitation and (ii) growth rate  |
| Increased production of degradative enzymes by attached cells.....                | Mechanism unclear at present  |
| Plasmid transfer between cells in biofilm?.....                                   | Associated with enhanced tolerance to antiseptics and disinfectants?  |

# Biofilms o biopelículas

- Son comunidades bacterianas englobadas en una matriz de polisacáridos producidos por las propias bacterias y secretados al exterior como exopolisacáridos y adheridas a una superficie viva o inerte.

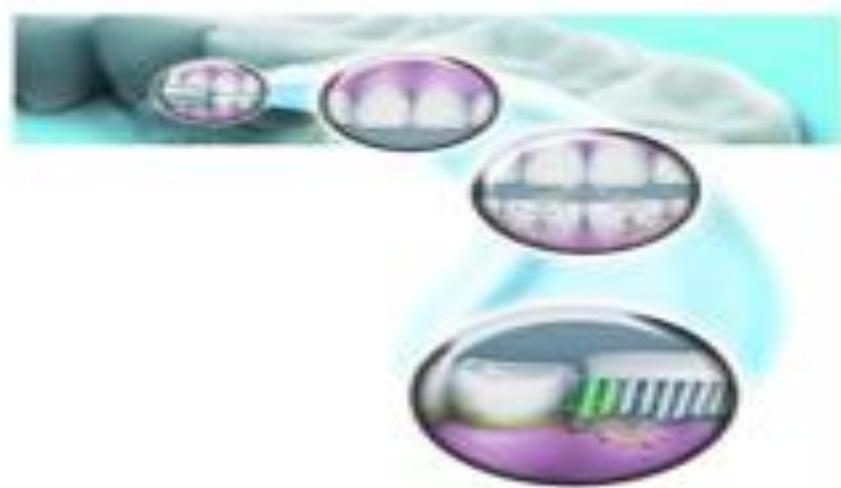


Comunidades bacterianas

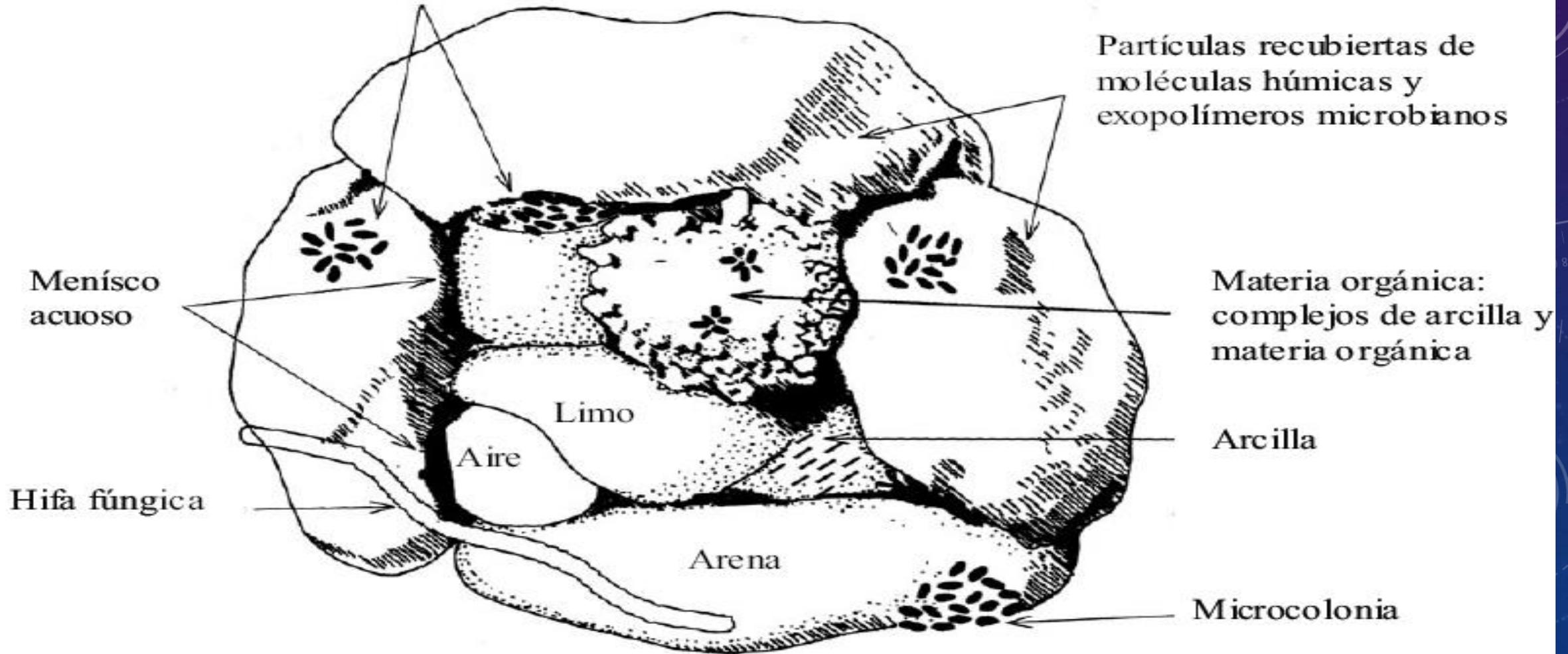


- Los biofilmes bacterianos colonizan cualquier superficie húmeda, como las piedras de un río, las paredes de los desagües, los dientes, las superficies de las plantas acuáticas, es decir, cualquier superficie animada o inanimada.

Los biofilmes son la fuente principal de *Legionella* en los sistemas de agua caliente y torres de refrigeración.

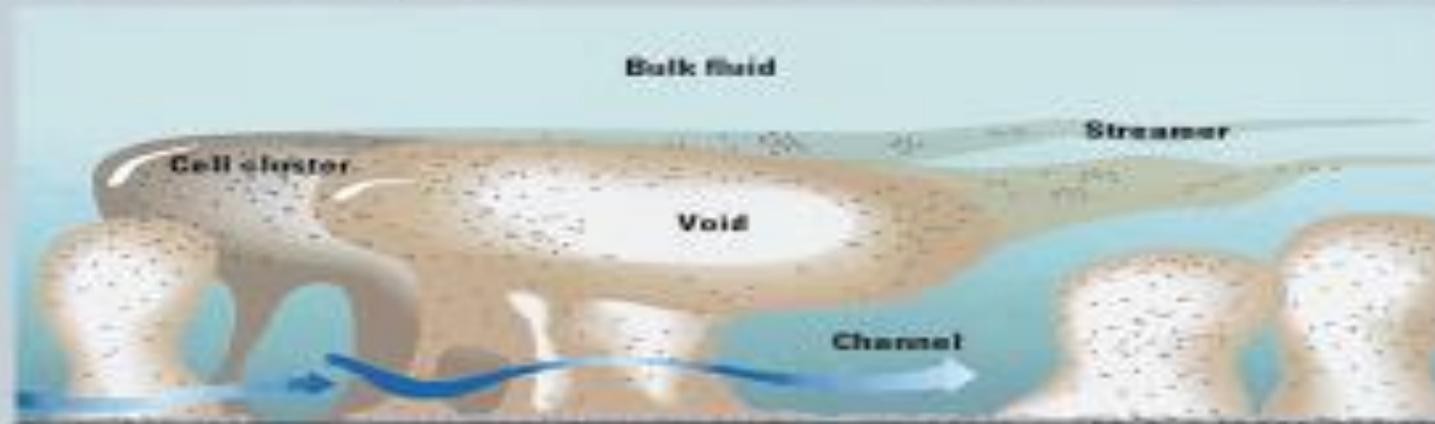


Microorganismos  
en film acuoso



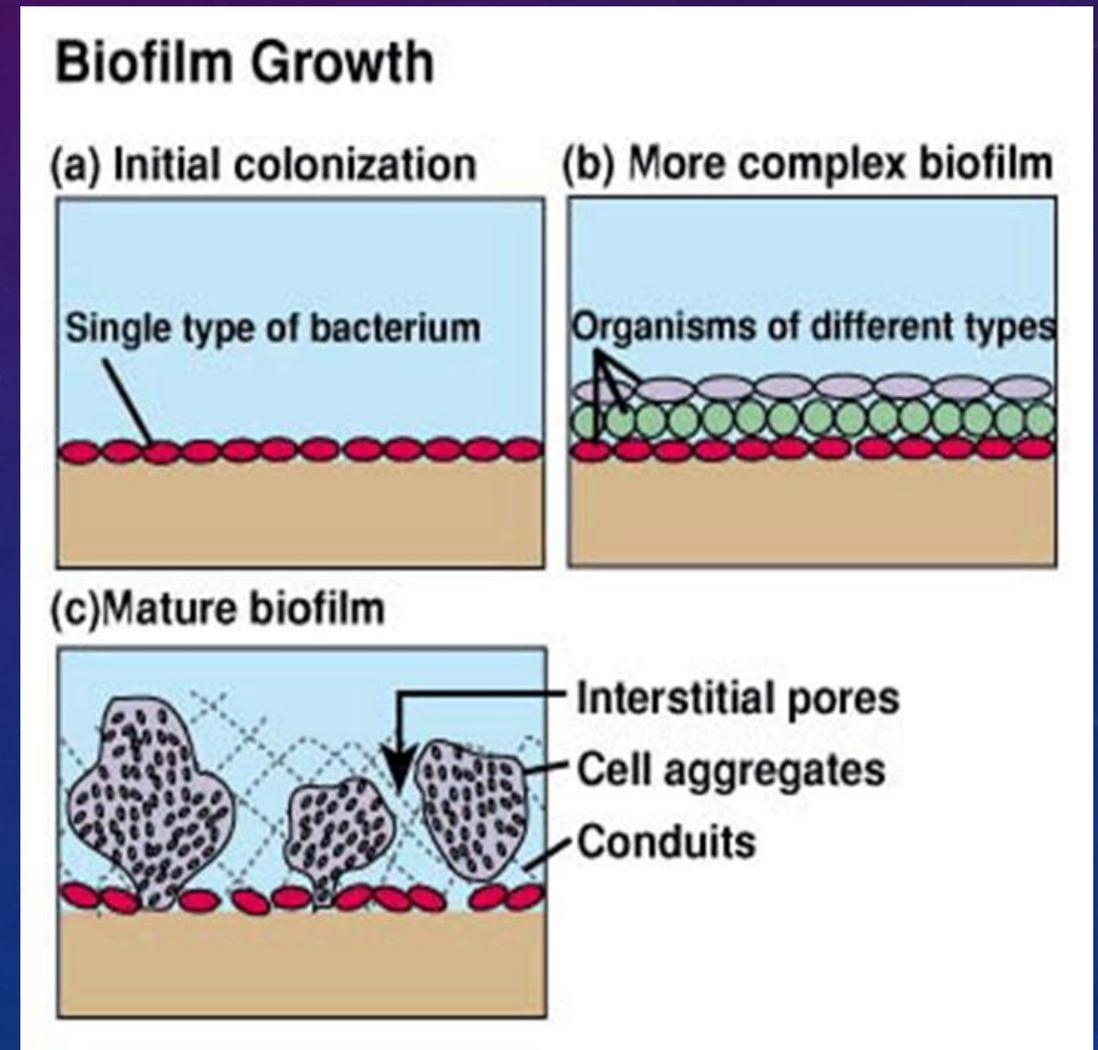


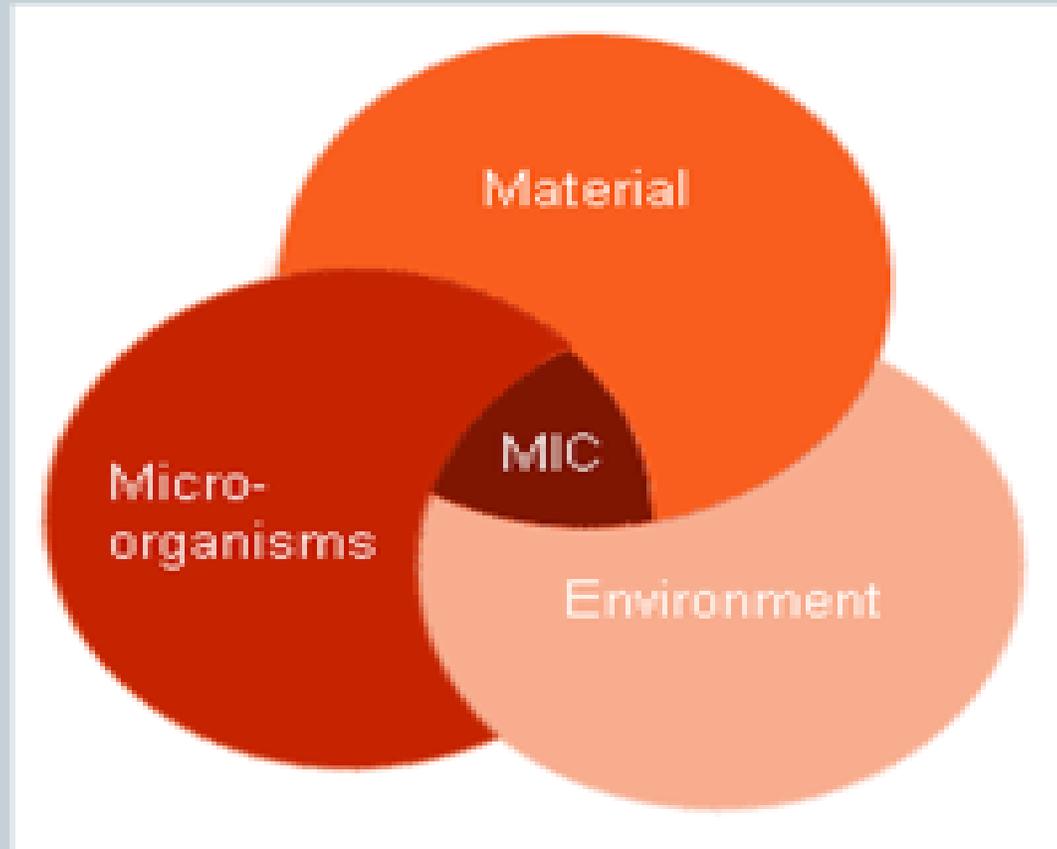
- La película biológica proporciona un asilo seguro para las bacterias donde pueden reproducirse y donde pueden residir librándose del arrastre de las corrientes y donde pueden defenderse mejor de los cambios y componentes nocivos del agua. Es decir, dentro del biofilm se encuentran protegidas.



# BIOCORROSION

- La corrosión microbiana se debe a la presencia de un biofilm sobre la superficie del metal.
- El biofilm se estructura en tres compartimentos: el líquido superficial, el biofilm o biopelícula y el sustrato (en este caso el metal).
- Los biofilms influyen en la corrosión debido a que causan cambios electroquímicos en las proximidades de la superficie del metal. Ambos procesos, corrosión y acumulación de biofilm, son procesos dinámicos.





- La biocorrosión (BC) y biofouling o bioensuciamiento (BE), ambos procesos dependen de una propiedad genética microbiana para la **síntesis de muco - polisacáridos (MPS)**, que son compuestos orgánicos necesarios para que los microorganismos se adhieran a la superficie del metal, que retiene los minerales circundantes estimulantes de la BC en el sitio.

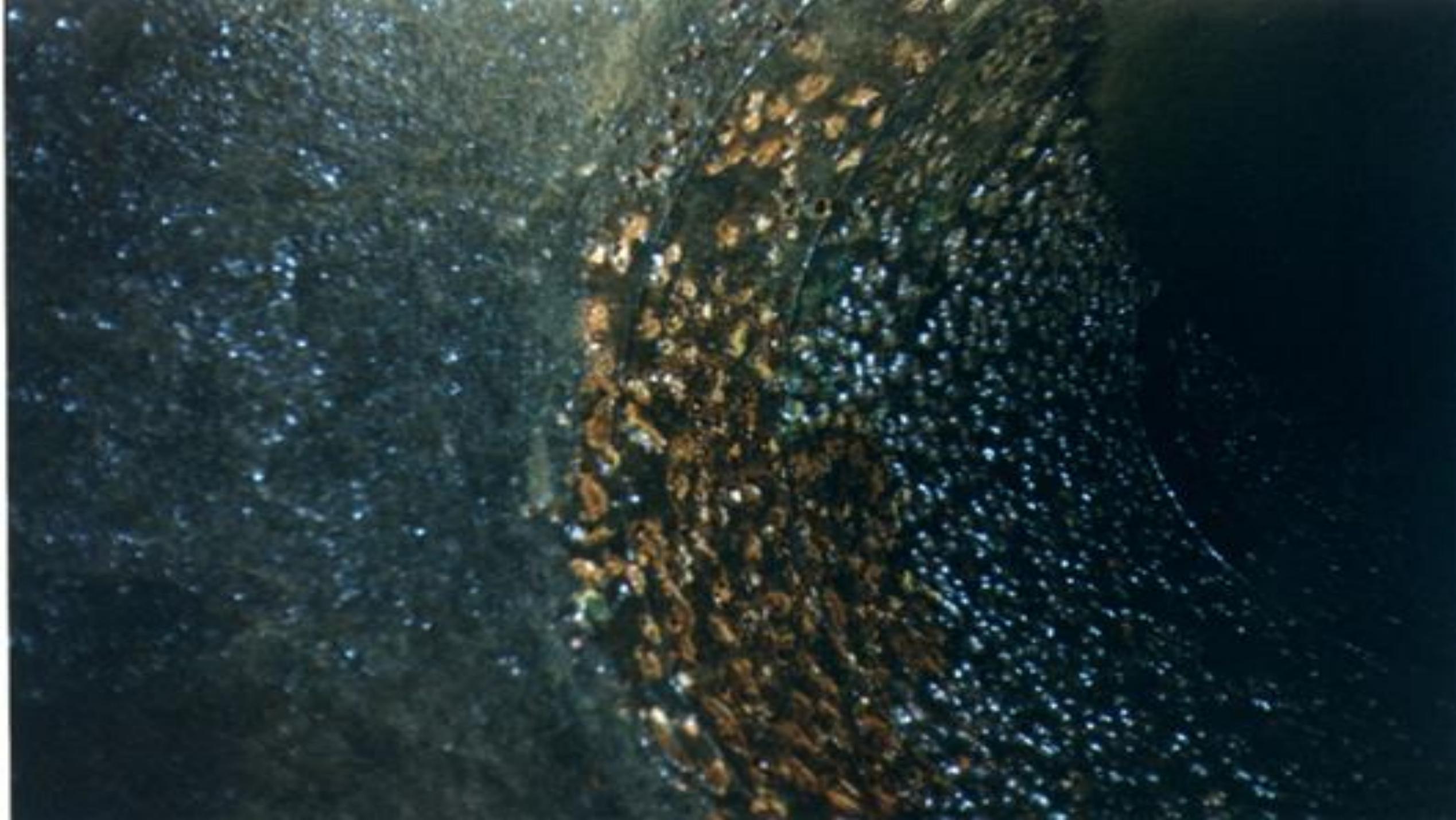
Microorganismos  
(quimiolitotrófos)

M es un metal divalente  
S el azufre elemental o reducido  
El producto M es un metal oxidado

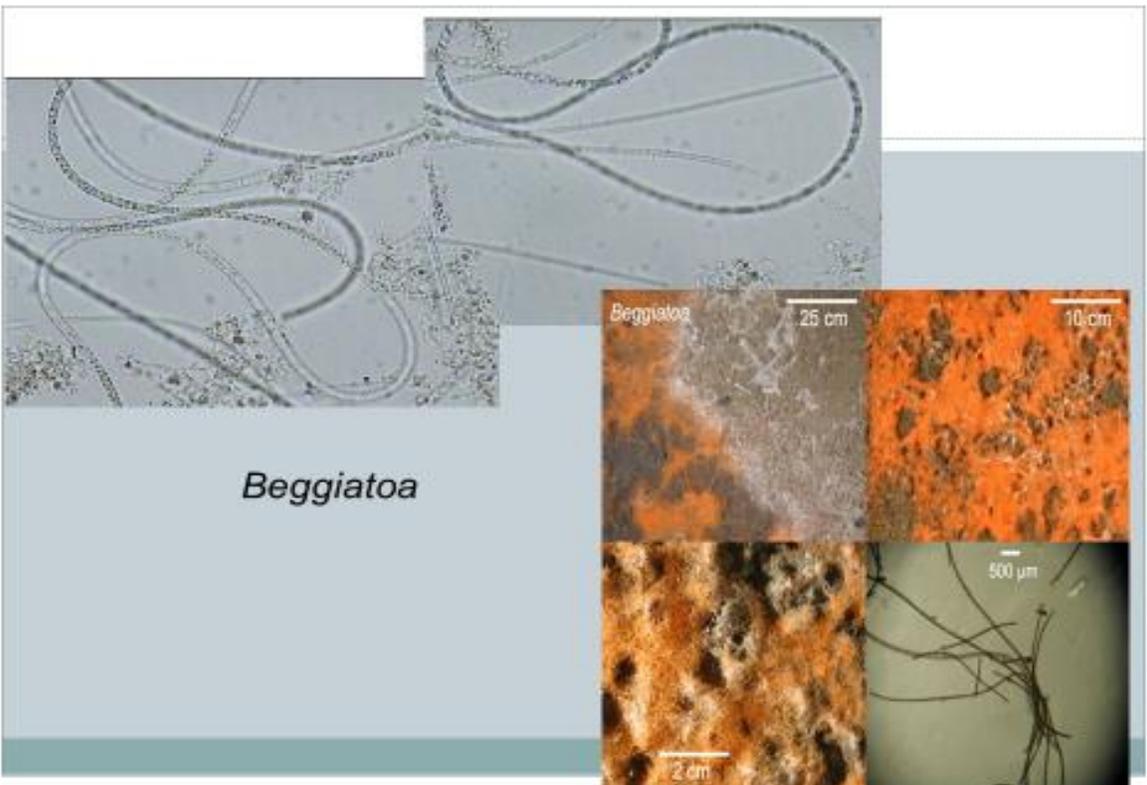
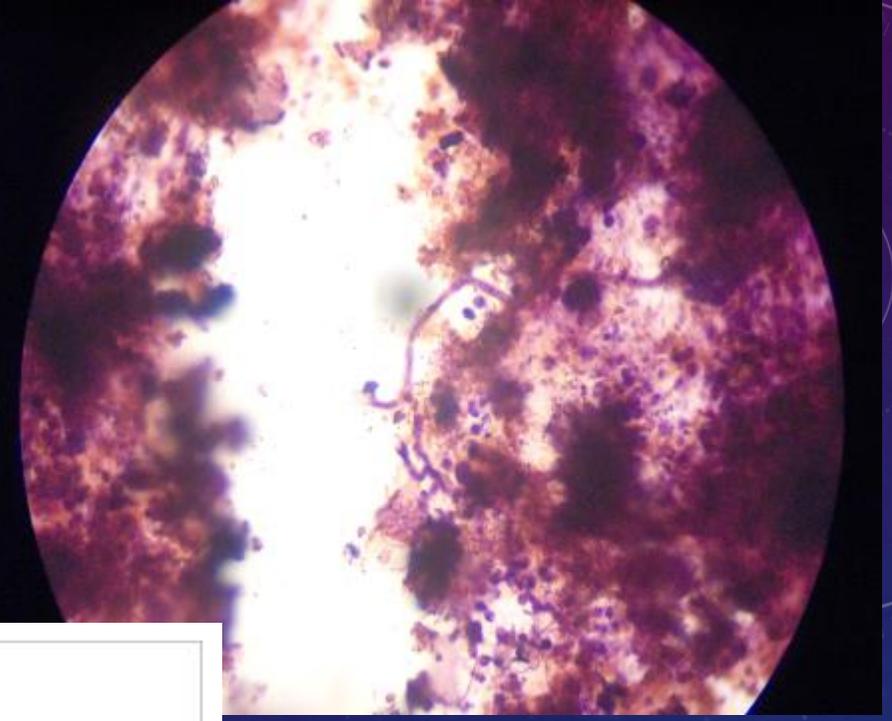
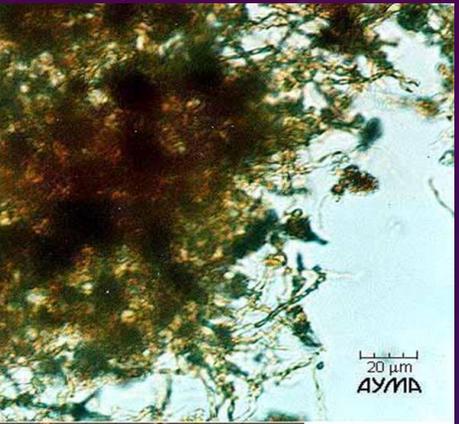
- $MS + 2O_2 + 2 H_2O \longrightarrow MSO_4 + H_2 SO_4$
- $SO_4 + \text{microorganismos} \longrightarrow H_2 S + S^-$

El anión sulfato es el compuesto inorgánico que actúa como aceptor final de electrones y el ácido sulfurico el producto fuerte corrosivo que reacciona con elementos reducidos como el ion ferroso común en aleaciones y que genera sulfuro ferroso, un indicador característico de Biocorrosión (BC).

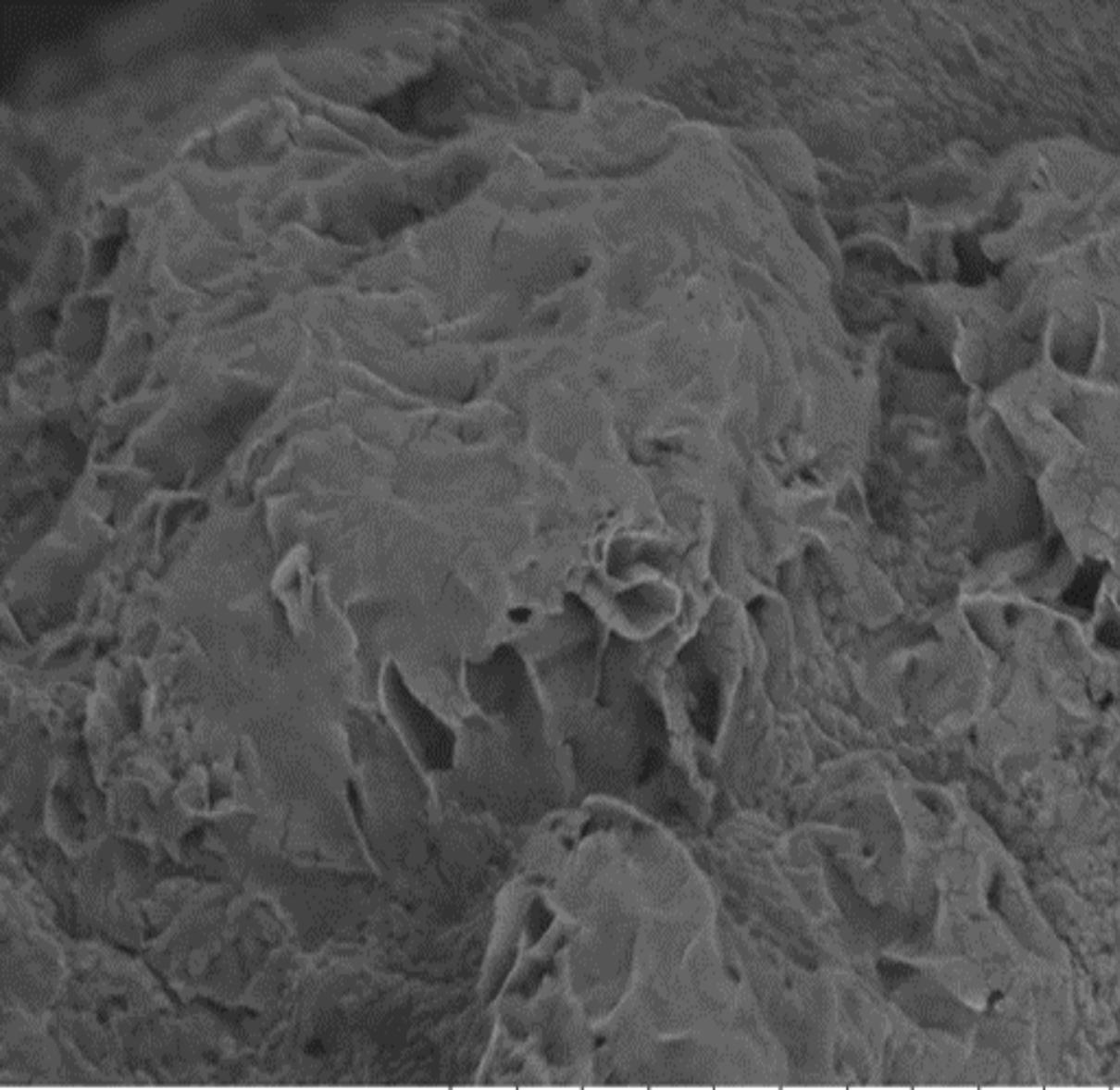




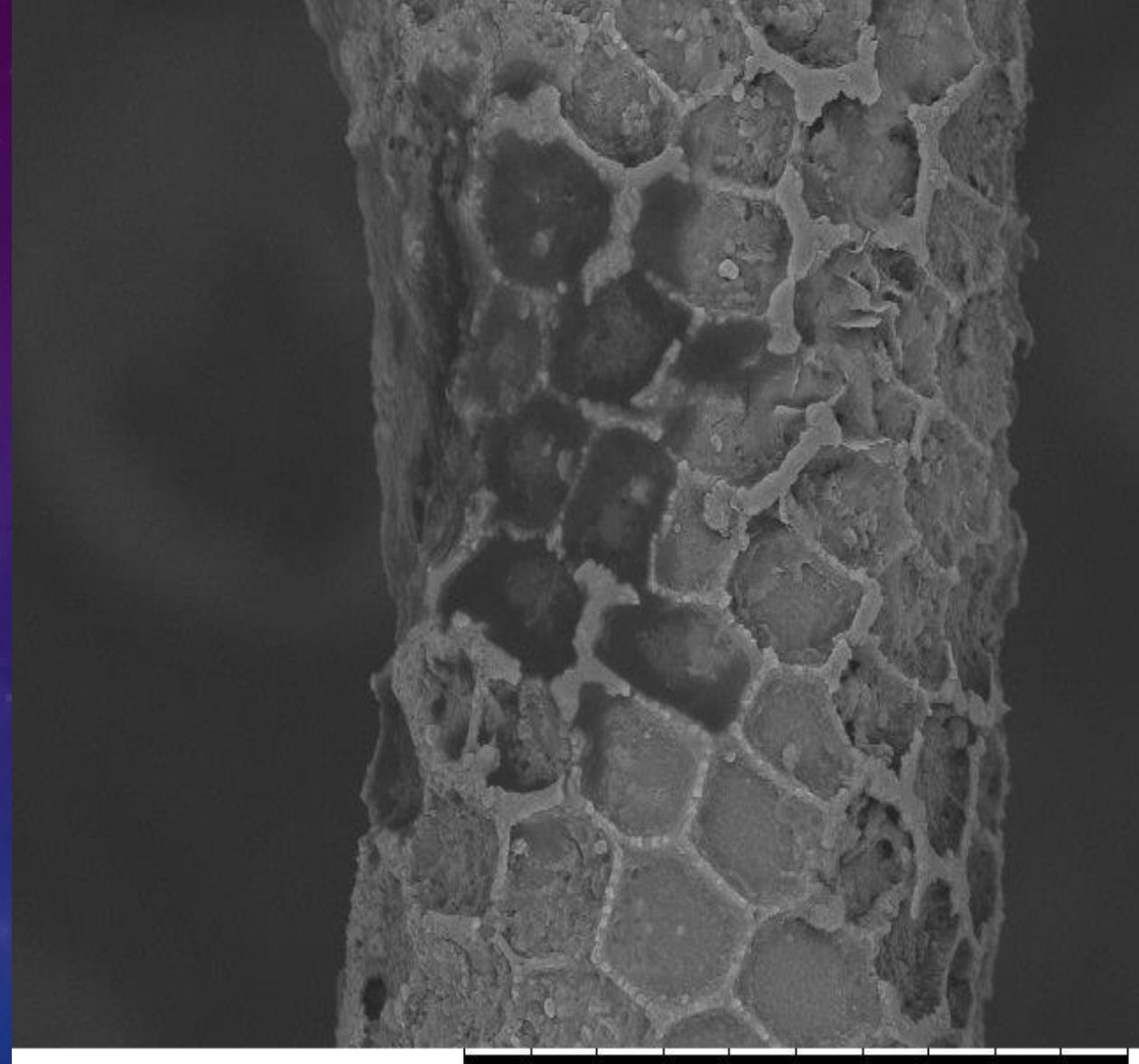




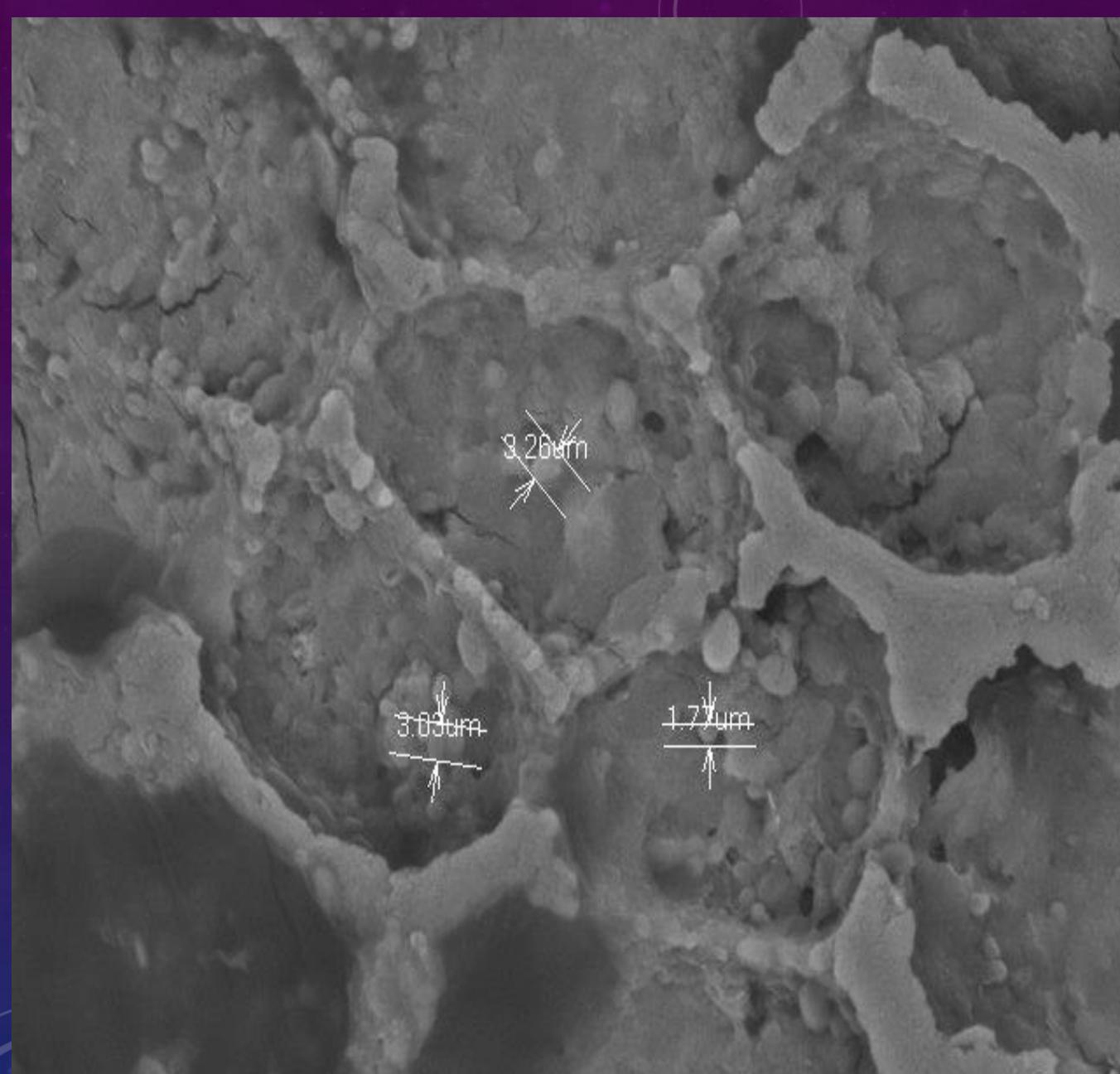




A01 35Min0012 A D5.5 x1.0k 100 um

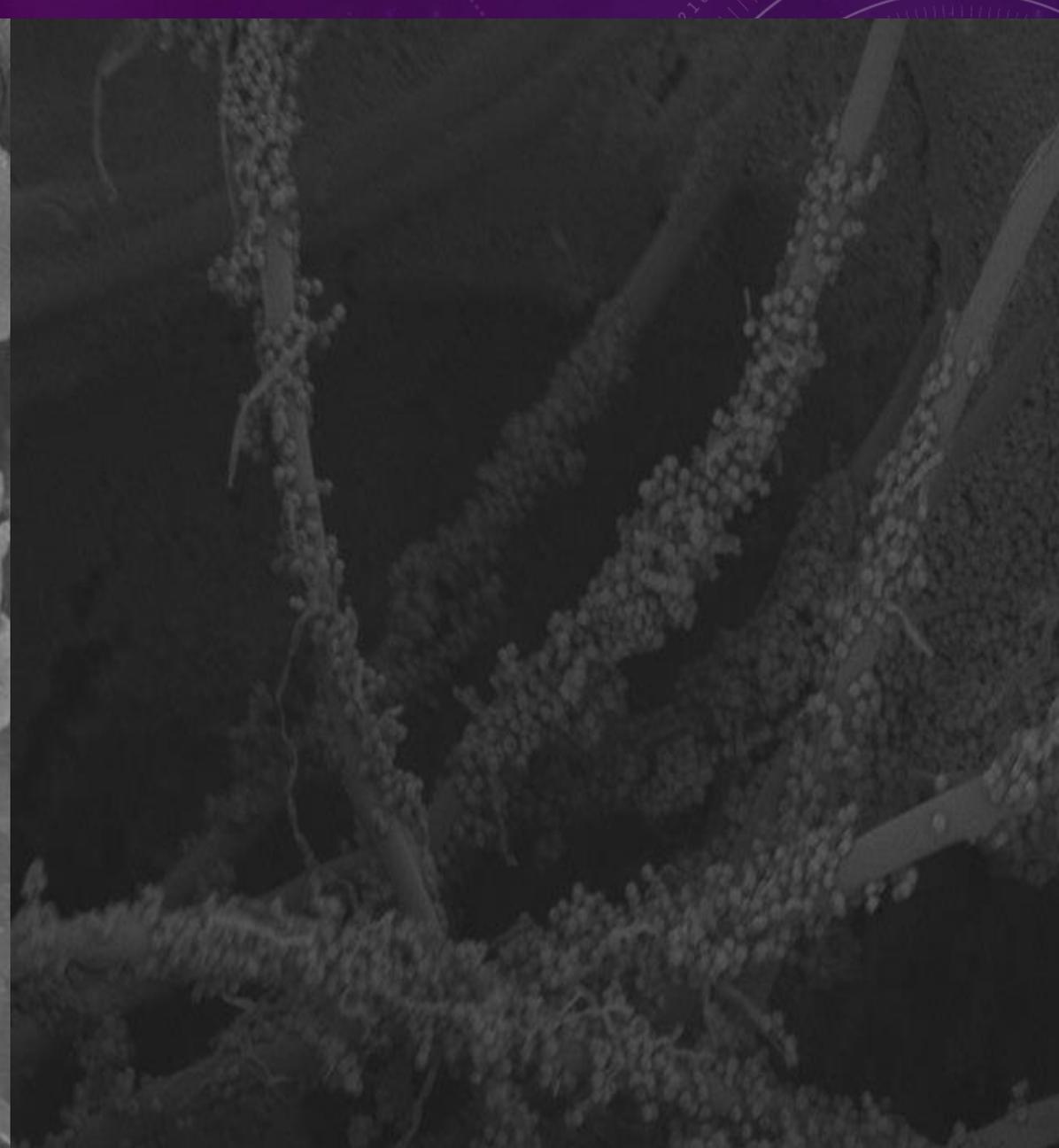


A01 35Min0007 A D5.6 x500 200 um



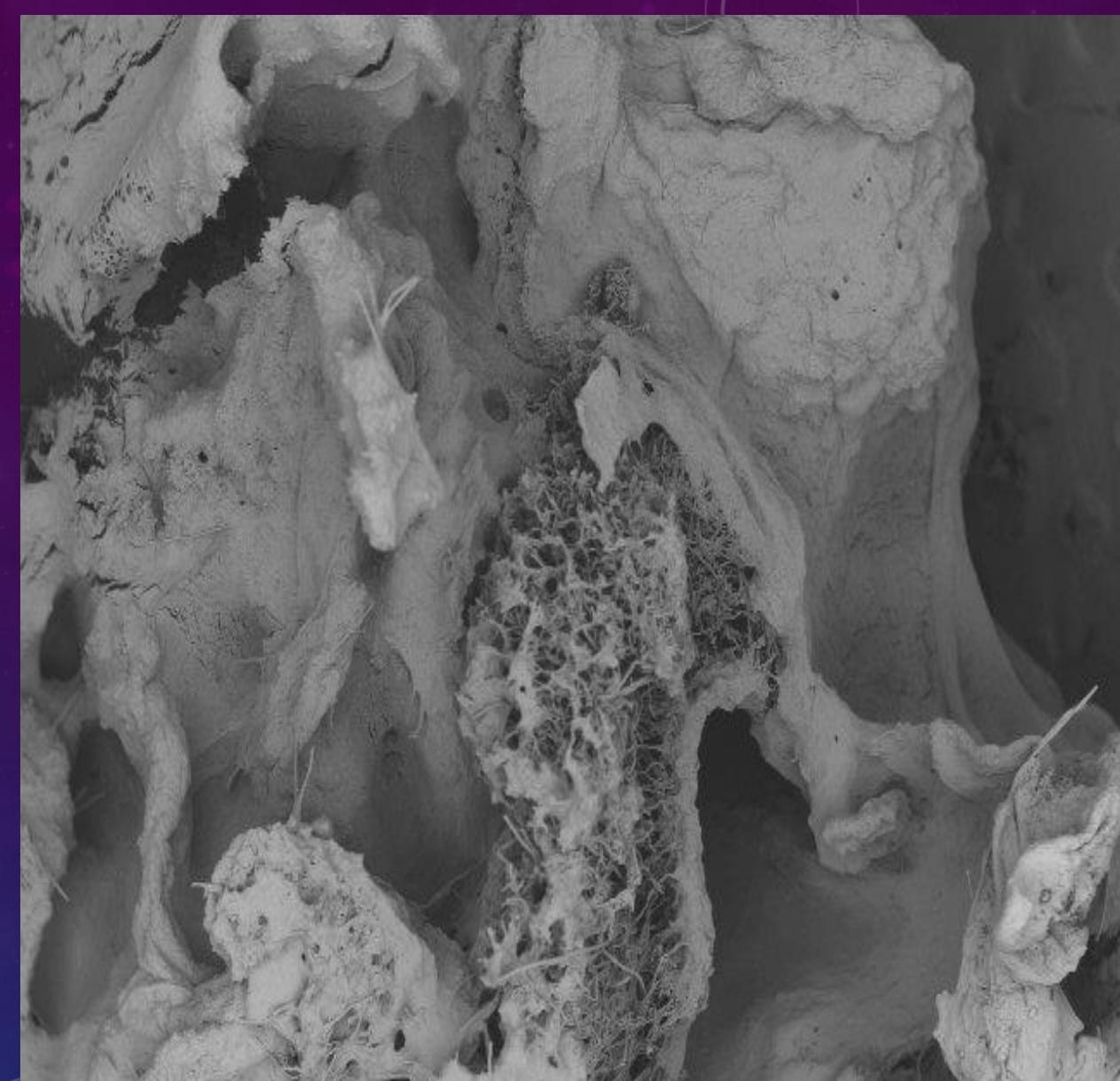
A01 35Min0009

A D5.5 x1.5k 50  $\mu\text{m}$

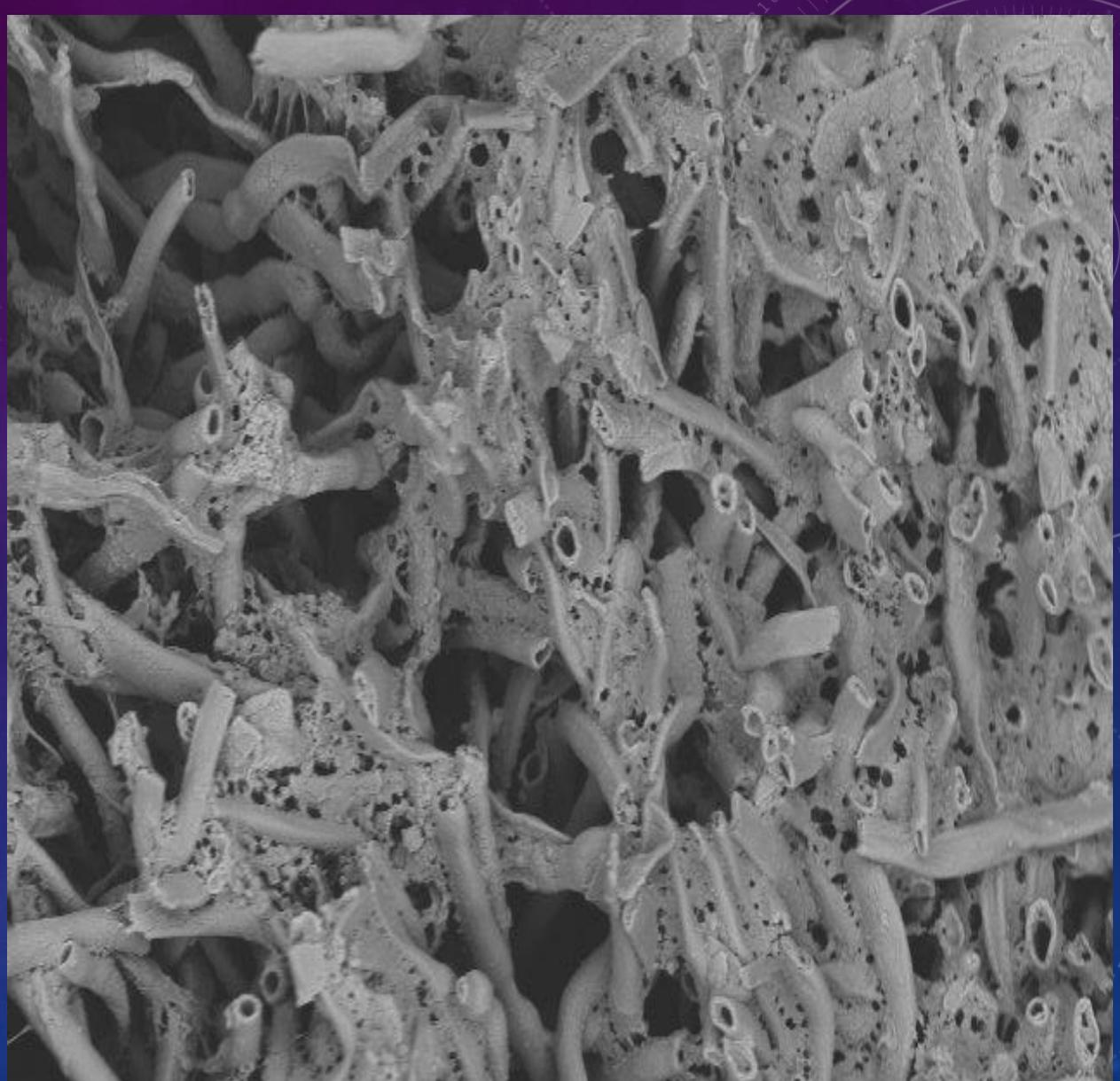


A01 35Min0016

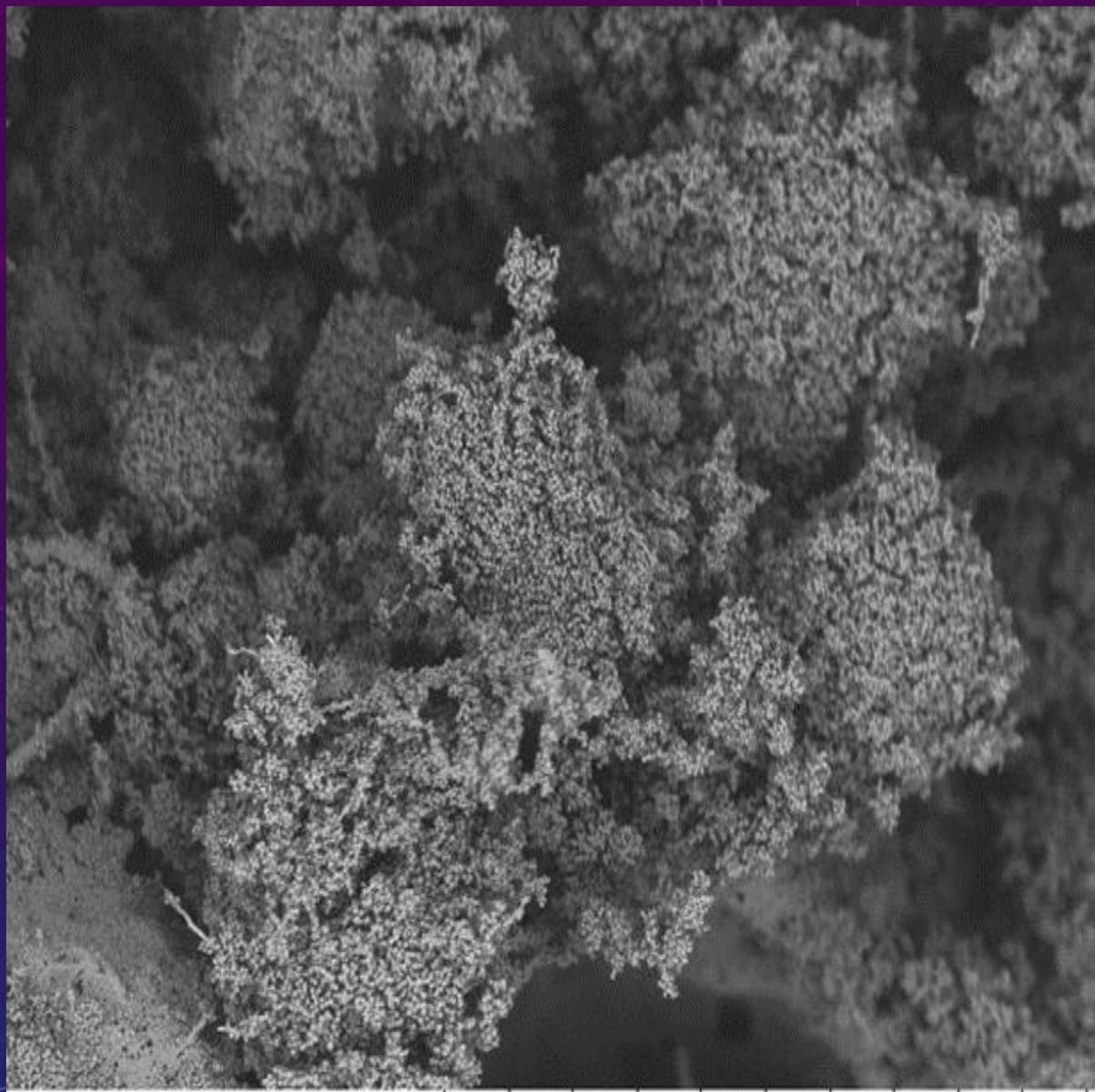
A D6.3 x500 200  $\mu\text{m}$



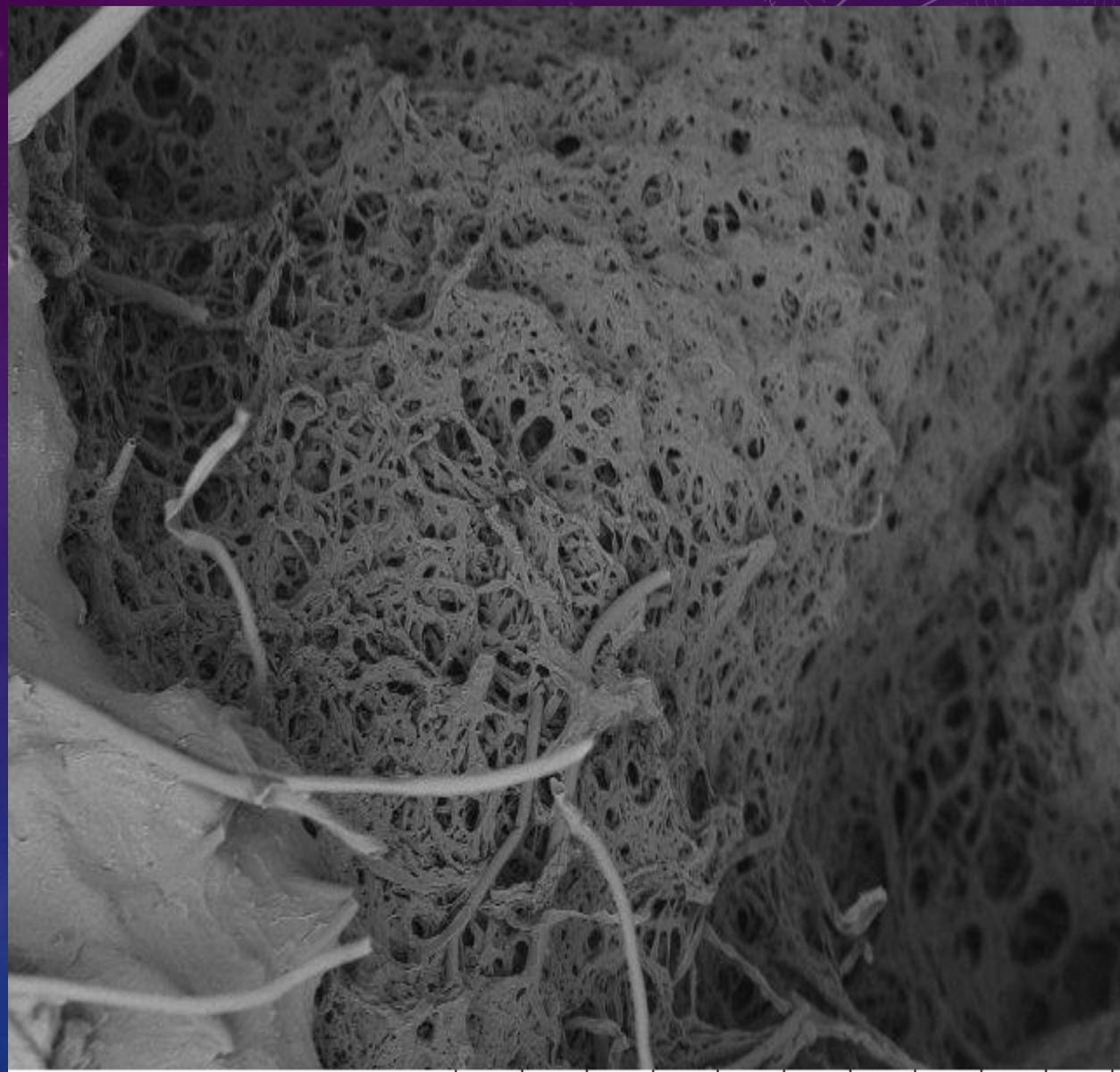
0000 2017/03/02 09:18 A D6.0 x40 2 mm



0001 2017/03/02 09:21 A D5.3 x500 200 um



0005 2017/03/02 09:30 A D5.6 x200 500 um



0016 2017/03/02 09:44 A D6.5 x200 500 um