



Resistencia antimicrobiana hacia los desinfectantes Virkon^S

En las últimas décadas se ha venido hablando sobre la falta de efectividad de los agentes biocidas y de la resistencia de los agentes patógenos hacia los desinfectantes, haciendo que fracasen los experimentos en programas de rotación de desinfectantes con uso indiscriminado.

Como punto de partida hay que aclarar el uso del concepto y definir el término de resistencia el cual está siendo tratado con mayor prudencia en cuanto a la aplicabilidad hacia los agentes biocidas.

Cuando hablamos de sensibilidad o resistencia de los microorganismos estamos haciendo referencia a la existencia de material genético que codifica para diversos mecanismos de resistencia ante la presencia de agentes antimicrobianos que no permiten la acción de los mismos. Dentro de la célula bacteriana la resistencia es mediada por cromosomas o plásmidos; en el primer caso puede deberse a una mutación genética o un cambio en la regulación genética, mientras que para el segundo caso es consecuencia de la síntesis de enzimas inactivadoras de antibióticos, entre otros. Como vemos, ambas formas de resistencia inducen mecanismos bioquímicos accesorios o producen proteínas que actúan específicamente en contra de las sustancias letales.

A diferencia de los antibióticos, el término resistencia o aumento del MIC (concentración mínima inhibitoria) de un agente biocida, no necesariamente tiene correlación con la dosis terapéutica. Un aumento del MIC de un antibiótico puede tener consecuencias significativas en la efectividad indicando que el microorganismo o agente patógeno no resulta afectado por la acción antimicrobiana de este producto, situación que no se presenta con el uso de los agentes biocidas, donde muchas veces el incremento del MIC ha sido interpretado como un indicador de resistencia, sin embargo es necesario aclarar que no necesariamente resulta en una falla en la efectividad para eliminar al microorganismo. Esto es importante mencionar ya que existen diversos factores que afectan la acción de un producto y deben tomar en cuenta en el momento de la aplicación del mismo.

Por estas razones el término de adaptación o incremento de la tolerancia resulta más apropiado que el de resistencia. Si bien es cierto que algunos microorganismos pueden llegar a manifestar mecanismos de adaptación en presencia de algún desinfectante a bajas concentraciones, por norma general más que de forma específica, se trata de sistemas de defensa antioxidativo, es decir, de

protección a las membranas celulares o de control de la acidificación intracelular. Cuando se somete al microorganismo a las concentraciones rutinarias de acción o las MIC es claro que se logra la disminución en los conteos bacterianos.

Mecanismos de resistencia:

La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo, por alteraciones en la permeabilidad de la membrana o el acceso del biocida al interior de la célula bacteriana, llamado resistencia intrínseca o bien la conseguida por mutaciones o adquisición de plásmidos (ADN extracromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles) llamada resistencia adquirida.

1.- 1. Resistencia adquirida

- a. **Conjugación:** es la transferencia de material genético como plásmidos entre una célula bacteriana donadora y una receptora. Los plásmidos pueden contener uno o más genes que confieren resistencia.
- b. **Transducción:** un virus (bacteriófago) toma un gen de resistencia de una bacteria y lo inyecta en otra célula bacteriana distinta.
- c. **Transformación.** Las bacterias incorporan restos de ADN de las células muertas y lo incorporan a su genoma, la bacteria debe estar en un estado de competencia que ocurre después de la falta de nutrientes y una densidad celular elevada.

2.- Resistencia natural

Está asociada a la naturaleza misma del agente, donde la efectividad del antimicrobiano se ve afectada por su mecanismo de acción y el tipo de microorganismo patógeno que se va a enfrentar, es decir, la falta de efectividad del antimicrobiano es inherente a características propias de la bacteria.

3.- Resistencia intrínseca

Es una propiedad natural debida a fenómenos de adaptabilidad

- a. Asociado a las superficies sólidas y la generación de biofilms así como fallas en procesos de lavado.
- b. Impermeabilidad adaptativa.
- c. Bombas de eflujo son proteínas transportadoras de membrana. Transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula. En este mecanismo se ven involucrados principalmente los amonios cuaternarios.
- d. La adaptabilidad asociada a cambios en la estructura y composición de la membrana externa de las bacterias.

“La resistencia a los biocidas está ligada a los mecanismos intrínsecos”.

Ilustración de mecanismos intrínsecos y adquiridos para la reducida susceptibilidad a los biocidas en bacterias



Las bombas de eflujo son proteínas transportadoras de membrana que se encargan de sacar sustancias tóxicas desde el interior de las células hacia el medio externo. Estas pueden ser específicas para un sustrato o pueden transportar una amplia variedad de compuestos químicos totalmente diferentes, generándose así el término de Resistencia a Múltiples Drogas o MDR por sus siglas en inglés (Multiple Drug Resistance).

Dentro de los factores que favorecen la presencia de este tipo de respuesta de tipo adaptativo, está la asociación de microorganismos con los sólidos de la superficie que promueven la generación de un biofilm o biopelícula, el cual es definido como un consorcio de microorganismos organizado con una extensiva formación de exopolímeros exopolysacáridos, en donde en muchos casos esta formación está ligada a deficiencias en los procedimientos de limpieza, en los que durante largos periodos se presentan diversos acúmulos de microorganismos, minerales, etc. que favorecen la supervivencia dentro de esta capa generando persistencia de los agentes patógenos dentro de las instalaciones. Esta asociación nos genera adicionalmente:

- 1.- Reducción del acceso del desinfectante a las células.
- 2.- Interacción química entre el desinfectante y el biofilm mismo.
- 3.- Modulación del microambiente.
- 4.- Producción de enzimas de degradación (y neutralizante de químicos).
- 5.- Cambios genéticos entre las células en el biofilm.

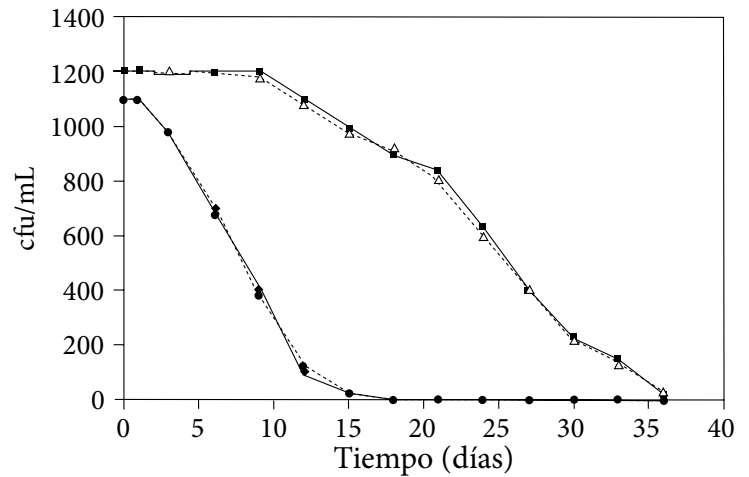


Tabla. Curva de supervivencia Bacterias-comparación entre cepas de bacteria con biofilm (Ab033, ■; Ab053, Δ) y no biofilm (Ab001, ◆; Ab143, ●). Fuente: Journal of Hospital Infection 2012 80, 56-60

Es importante reconocer que mientras mas tiempo permanezca un cultivo en una superficie éste se va volviendo menos sensible a la acción de los agentes biocidas y puede persistir más tiempo en el ambiente. El tema de biopelícula se tratara en un artículo aparte.

Mecanismos para incrementar la efectividad en la eliminación de agentes patógenos

Dentro de las soluciones que se le ha dado a la falta de eficiencia de muchos agentes biocidas generado por procesos adaptativos, está la rotación de agentes desinfectantes como parte integral del programa de bioseguridad. Sin embargo, actualmente se han presentado problemas adicionales por el uso indiscriminado de programas de rotación, donde se han detectado casos de adaptación cruzada entre los diferentes agentes biocidas, esto favorece a la inefectividad de los mismos. Indiscutiblemente el mejor sistema que poseemos para evitar la formación de biofilms es el utilizar productos que inhiban la formación de esta biopelícula, por ejemplo los agentes oxidantes como peroxigenados, dióxido de cloro, ácido peracético, **Virkon** y, adicionalmente efectuar planes de rotación de detergentes con pH ácidos y alcalinos en los procedimientos de limpieza, limitando así la diseminación de los agentes patógenos.

Como es bien sabido, la acción de un agente desinfectante está muy ligada al contacto directo con la superficie de bacterias, virus, hongos, etc; ya que el contacto que el biocida tenga con éste, afectará de manera directa su viabilidad. En la actualidad, los diferentes agentes biocidas dentro de su formulación traen compuestos que ayudan a mejorar su efectividad, tales como agentes surfactantes, quelantes (EDTA), secuestrantes, etc.



Factores que afectan la acción del biocida:

- 1.- Limpieza.
- 2.- pH.
- 3.- Aguas duras.
- 4.- Presencia de aditivos.
- 5.- Temperatura.
- 6.- Concentración del biocida.
- 7.- Tiempo de exposición.
- 8.- Presencia de materia orgánica.
- 9.- Tipo de microorganismo.

Importancia de el buen uso de los agentes biocidas.

La eficacia de un agente biocida cambia de acuerdo al agente viral, bacteriano, fúngico, parasitario, etc, que queramos eliminar, así mismo, dentro de cada uno de estas categorías aquellos que persistan en la superficie dificultarán la actividad del agente biocida. Dentro de los géneros bacterianos que se han visto afectados por la adaptación hacia los desinfectantes tenemos a las *Pseudomonas* spp, las cuales han presentado ciertos procesos de adaptabilidad a desinfectantes como los cuaternarios de amonio. Lo anterior nos lleva a revisar los procedimientos de aplicación, dosificación y tiempos de exposición de los agentes biocidas en las superficies, ya que los tiempos de contacto breves, las concentraciones sub-letales o poco tiempo de acción, inducen modificaciones en las estructuras celulares que traen respuestas de tipo adaptativo. Siempre que los procesos de limpieza sean limitados en tiempo, el uso del equipo inadecuado o por reducción de costos se practique la sub-dosificación del producto, no solo favorecerá una disminución en la efectividad del desinfectante, sino que también se facilitará la adaptación de los microorganismos, lo que contribuirá indudablemente a incrementar el riesgo en la incidencia de enfermedades dentro de la instalación.

Acción de los desinfectantes sobre biopelículas.

Dada la naturaleza del agente, hay algunos principios activos que favorecen la formación o diseminación del biofilms y otros que actúan sobre este y contribuyen a su eliminación. Es importante conocer estos aspectos para poder elegir mejor los productos desinfectantes que van a ofrecernos un mejor efecto biocida y generar lo menos posible problemas de resistencia intrínseca hacia los desinfectantes y antibióticos, ya que como es bien sabido, la formación del biofilms contribuye de manera directa a la formación de resistencia intrínseca hacia los antibióticos y desinfectantes. Los agentes oxidantes como los peroxigenados, dióxido de cloro, ácido peracético (**Hyperox**), **Virkon**, ayudan a la remoción del biofilm.

A manera de conclusión, para poder disminuir la incidencia de enfermedades dentro de cada una de nuestras instalaciones debemos poner en práctica primero que todo programa de bioseguridad integral incluyan excelentes medidas de limpieza, continuando con el uso de productos como agentes detergentes o biocidas a las concentraciones adecuadas y en las condiciones que recomienda el fabricante. De esta manera se evitará así los fenómenos de adaptación o resistencia intrínseca. Es claro que los microorganismos pueden adaptarse a una gran variedad de cambios físicos del ambiente y a condiciones químicas, sin embargo es nuestro deber limitarlo.

Revisión bibliográfica por:

Mauricio Castellanos G, DVM.
Technical Manager Disinfectants Latin-American, Virkon

Resumen por:

M.V.Z. Ulises Constantino Cortés.
Key Account Manager Region South, Bayer México

Bibliografía

1. Chopra I. Plasmids and bacterial resistance. In Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (eds.). Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. Oxford: Blackwell Scientific Publications Ltd.; 1982. p. 199-206.
2. Gilbert , P. Das, J ; Jones , M; Allison , D. 2001. Assessment of resistance towards biocides following the attachment of microorganisms to , and Growth on, surfaces. Journal of Applied Microbiology, Vol . 91 No. 2 . pp. 248-254. Agosto 2001.
3. Maillard J.-Y. Bacterial target sites for biocide action. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement 2002, 92, 16S-27S.
4. McDonnell, G., Russell, AD., 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clinical Microbiology Reviews 12,147-179.
5. Adhikari RP, Arvidson S, Novick RP. A nonsense mutation in agrA accounts for the defect in agr expression and the avirulence of *Staphylococcus aureus* 8325-4 traP::kan. Infect Immun 2007; 75: 4534-40.
6. Paulus, W. Directory of microbicides for the protection of materials. 2005. microbial resistance to microbicide Pag. 23 -25
7. Madan Tandukar, † Seungdae Oh, † Ulas Tezel, †, § Konstantinos T. Konstantinidis, and Spyros G. Pavlostathis*, Long-Term Exposure to Benzalkonium Chloride Disinfectants Results in Change of Microbial Community Structure and Increased Antimicrobial Resistance. Environ. Sci. Technol. 2013, 47, 9730-9738.
8. Megan C. Jennings, Kevin P. C. Minbiole, and William M. Wuest*. Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance . ACS Infect. Dis. 2015, 1, pag 296
9. Jansen. Arina, An investigation of resistance to quaternary ammonium compound disinfectants in bacteria. Faculty of natural and agricultural sciences department of microbial, biochemical and food biotechnology . University of the free State Bloemfontein 9300 , South Africa. 1 Feb . 2012
10. Lunden, J., Autio, T, Markkula, A., Hellstrom, S., Korkeala, H. 2003. Adaptive and cross-adaptive responses of persistent and non-persistent *Listeria monocytogenes* strains to disinfectants. International Journal of Food Microbiology 82, 265-272.

Virkon´S

Desinfectante para instalaciones pecuarias.



- ✓ Eficacia comprobada contra Influenza aviar, Newcastle, IBV
- ✓ Puede ser aplicado en diferentes formas y superficies, actuando en 1 minuto
- ✓ Sin resistencia: debido a su mecanismo de acción
- ✓ Seguro: puede ser utilizado en presencia de las aves
- ✓ Amable con el medio ambiente, ya que es Biodegradable



tratar bien
Bayer, bienestar animal