

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y**  
**AGROPECUARIAS**



**TESIS DE LICENCIATURA**

**“SENSIBILIDAD DE *Staphylococcus aureus* AISLADO DE PIE  
DIABÉTICO FRENTE A DIFERENTES AGENTES  
ANTIMICROBIANOS”**

**PRESENTA:**  
**MARIA SARA ACEVEDO MANRIQUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**  
**DR. En C. JOSEFINA CASAS SOLIS**

**ASESOR:**  
**M. en C. ROSA MARÍA DOMÍNGUEZ ARIAS**



**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y**  
**Agropecuarias**

*Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura*  
*en Biología*

904/ C. C. BIOLOGÍA

**C. MA. SARA ACEVEDO MANRIQUEZ**  
**PRESENTE**

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **Tesis e Informes** opción **Tesis** con el título: **"SENSIBILIDAD DE *Staphylococcus aureus* AISLADO DE PIE DIABÉTICO FRENTE A DIFERENTES AGENTES ANTIMICROBIANOS"** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: **DRA. JOSEFINA CASAS SOLIS** y el Asesor/a es el/la: **M en C. ROSA MARÍA DOMINGUEZ ARÍAS.**

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

**ATENTAMENTE**

**"PIENSA Y TRABAJA"**

**Las Agujas, Zapopan., 21 de Noviembre del 2006.**

**"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.**

**Don Benito Juárez García"**

**DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**M en C. ISELA LETICIA ALVAREZ BARAJAS**  
**SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**



**COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE**  
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**BIBLIOTECA CUCBA**

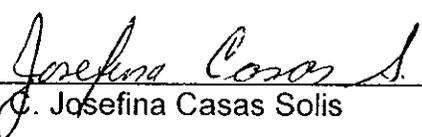
Dr. Carlos Álvarez Moya.  
Presidente del Comité de Titulación.  
Carrera de Licenciado en Biología.  
CUCBA.  
Presente

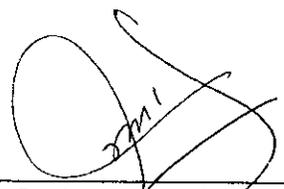
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad de TESIS, ocon el título: "SENSIBILIDAD DE *Staphylococcus aureus* AAISLADO DE PIE DIABÉTICO FRENTE A DIFERENTES AGENTES ANTIMICROBIANOS" que realizó la pasante Maria Sara Acevedo Manriquez con número de código 395283365 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

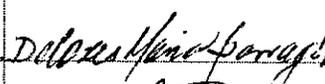
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

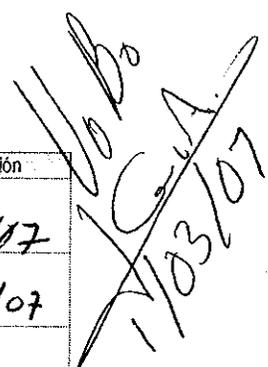
Atentamente

Guadalajara, Jal., a 18 de enero del 2007

  
Dr. en C. Josefina Casas Solís

  
M. en C., Rosa María Domínguez Arias

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
M. en C., Margarita Bonilla Moreno		22/02/07
QFB., Adolfo Cárdenas Ortega		28/02/07
M. en C., Dolores Marina Barragan Reinaga		28-02-07
Supl. Biologo Sergio Álvarez Barajas		28-02-07

  
1/03/07

## AGRADECIMIENTOS

Antes que ganada agradezco a la vida por darme una madre ejemplar como la que tengo espiritualmente, aunque ya no la tengo físicamente la tengo en mi corazón y en mi mente, gracias a ella estoy aquí presentando mi tesis, ella fue y será mi amiga pero sobre todo mi MADRE, el ser humano que me dio la vida y que más amo, ella me demostró que con amor, paciencia, dedicación, humildad y sencillas todo se puede lograr en la vida, mamita gracias por confiar en mi y por todo lo que me enseñaste, no me cansare de decirte mamita te QUIERO MUCHO, se que donde quiera que te encuentres me escuchas y siempre estas conmigo, gracias por ser mi conejito de india como te dije al principio de tu piesito malito, gracias a ti pude con ayuda de varias personas realizar este trabajo para poder ayudar a más personas. Gracias te quiero mucho Nenita!

Gracias papa por darme la oportunidad de ser un profesionalista, por darme ese coraje de luchar para obtener algo en la vida que aunque caigamos siempre hay que levantarse con la frente muy en alto, pero nunca sin olvidar de donde vengo, por tu sabiduría y por todo ese apoyo que me haz brindado desde que nací.

Tomas eres un modelo de hombre sin tu **apoyo** y amor yo no estaría aquí, me faltan palabras para decirte tantas cosas, lo único que engloba una parte es gracias por ser mi hermano.....

Lupita gracias por despertar todos los días a ese niño que llevamos dentro y por toda tu ternura, aunque todavía eres una niña tienes una madurez grande que nos ayuda a todos a seguir adelante.

Marina te agradezco todo el apoyo que me has dado aunque este trabajo fue difícil para ambas por fin lo logramos y aunque no esta mi mamá para decir animo hijas ustedes pueden sabemos que podemos seguir adelante con la cabeza muy en alto.

Agradezco a mi familia Acevedo Manriquez de la cual me enorgullezco de ella y como mi familia no hay dos, los quiero mucho siempre los llevo en mi corazón y en mi mente.

Agradezco a mis amigos en especial a: Claudia, Jeza, Vicky, Karla, Alejandra, Moy y Mauricio, que me dieron todo su apoyo moral y emprendedor cuando más lo necesite, por saber que existen amigos que en las buenas y en las malas están ahí presentes.

Agradezco a mis profesores ya que ellos me han ayudado a formarme como un profesionista.

Agradezco a mis profesores que forman parte de mi profesión y de mi vida: Mtra. En C., Rosa Ma. Domínguez Arias por confiar en que podía terminar la carrera y sobre todo titularme, por ser mi asesor de tesis, por estar siempre ahí presente físicamente y con sus palabras de aliento.

Dra. Anne Santerre Lucas gracias por ese silencio que dice más que mil palabras, por que en el brillo de sus ojos se vió reflejado el apoyo brindado.

Dra. Josefina Casa Solis, gracias por ser mi profesora, directora de tesis y sobre todo mi amiga (hermana), por compartir conmigo mis alegrías, tristezas y formación académica, por no dejar que me derrumbara cuando estaba a punto de llegar a la cima de la montaña, por darme todas esas palabras de aliento para poder conseguir el fin de una parte de mi vida.

## INDICE

<b>INDICE</b>	<b>PAG.</b>
Figuras	I
Tablas	III
Abreviaturas	IV
<b>RESUMEN</b>	V
<b>1 ANTECEDENTES</b>	1
Uso de antisépticos sobre las heridas	13
Características de un antiséptico y desinfectante	14
Mecanismos de acción de los antisépticos y desinfectantes	17
Diversos antisépticos utilizados en infecciones	18
Métodos para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos	21
Métodos que miden directamente la actividad de antimicrobianos en forma directa	21
Consideraciones generales para métodos de prueba	22
<b>2 JUSTIFICACION</b>	24
<b>3 HIPOTESIS</b>	24
<b>4 OBJETIVO GENERAL</b>	25
<b>5 OBJETIVOS PARTICULARES</b>	25
<b>6 METODOLOGIA</b>	26
Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Preparación de concentraciones de antimicrobianos	27
Determinación de la sensibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones de antimicrobianos, concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB)	27
Determinación de sensibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método de difusión en agar a diferentes concentraciones de antimicrobianos	30
<b>7 RESULTADOS</b>	32
<b>8 DISCUSIÓN</b>	45
<b>9 CONCLUSIÓN</b>	51
<b>10 RECOMENDACIÓN Y SUGERENCIAS</b>	52
<b>11 BIBLIOGRAFIA</b>	53

## FIGURAS

FIGURAS	PAG.
Fig. 1 Complicaciones a largo plazo de la diabetes	3
Fig. 2 Patología de las lesiones del pie del diabético	5
Fig. 3 La cadena de la infección	8
Fig. 4 Métodos para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana	27
Fig. 5 Método de concentración mínima inhibitoria	28
Fig. 6 Cuantificación de UFC	30
Fig. 7 Método de difusión en agar	31
Fig. 8 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones de yodo por el método de dilución en tubo	33
Fig. 9 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones de ácido acético por el método de dilución en tubo	33
Fig. 10 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones de permanganato de potasio por el método de dilución en tubo	33
Fig. 11 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones de agua oxigenada por el método de dilución en tubo	34
Fig. 12 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del permanganato de potasio por el método de cilindro	35
Fig. 13 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del ácido acético por el método de difusión en agar	35

Fig. 14 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del agua oxigenada por el método de difusión en agar	36
Fig. 15 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes concentraciones del yodo por el método de difusión en agar	36
Fig. 16 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> aislada de pacientes con pie diabético a diferentes concentraciones del yodo por el método de dilución en tubo	37
Fig. 17 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> aislada de pacientes con pie diabético a diferentes concentraciones de ácido acético por el método de dilución en tubo	38
Fig. 18 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de pacientes con pie diabético a diferentes concentraciones de permanganato de potasio por el método de dilución en tubo	39
Fig. 19 Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> aislada de pacientes con pie diabético a diferentes concentraciones de agua oxigenada por el método de dilución en tubo	40
Fig. 20 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del yodo por el método de difusión en agar	41
Fig. 21 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del ácido acético por el método de difusión en agar	42
Fig. 22 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del permanganato de potasio por el método de difusión en agar	43
Fig. 23 Determinación del halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de paciente con pie diabético a diferentes concentraciones del agua oxigenada por el método de difusión en agar	44

## TABLAS

<b>TABLAS</b>	<b>PAG.</b>
Tabla 1 Clasificación de Wagner	4
Tabla 2 Clasificación de la Universidad de Texas para las heridas del pie diabético	4
Tabla 3 Microorganismos más frecuentes en pie diabético	9
Tabla 4 Características diferenciales del género <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Tabla 5 Criterios de elección de un antiséptico y desinfectante	14
Tabla 6 Clasificación de los antisépticos y desinfectantes según el grupo químico	16
Tabla 7 Concentración de diferentes agentes microbianos utilizados para CMI	29

## ABREVIATURAS

%	Porcentaje
%/mL	Porcentaje por mililitro
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI.	Concentración mínima inhibitoria
Cols.	Colaboradores
DM.	Diabetes mellitus
Fig.	Figura
gr	Gramos
ml.	Mililitros
mm	Milímetros
°C	Grados centígrados
PD.	Pie diabético
UFC.	Unidades formadoras de colonias
UFC/mL	Unidades formadoras de colonias por mililitro
µL	Microlitros
µm	Micrómetros
µgr/mL	Microgramos por mililitros

## RESUMEN

El uso indiscriminado de antibióticos generan una susceptibilidad adversa en pacientes diabéticos que presentan ulceraciones en las extremidades dando origen a pie diabético. Debido a que estos pacientes no pueden tener ingesta de dosis elevadas de antibióticos por las complicaciones, entre la más importante insuficiencia renal aunando el proceso de granulación que favorece a la presencia de infecciones, las cuales pueden ser inofensivas o severas, por lo que es necesario el uso de antisépticos de forma tópica.

La evaluación de sensibilidad de los antisépticos ayuda a la elección del compuesto adecuado para el tratamiento de una infección bacteriana como puede ser el caso de soluciones diluidas de diferentes agentes quimioterápicos, en este estudio se determinaron: la sensibilidad, las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas de *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético y de enfermedades nasofaríngeo, por dos métodos: macrométodo (en tubo por diluciones seriadas) y el micrométodo (por difusión en agar) a diferentes agentes microbianos permanganato de potasio, agua oxigenada, ácido acético e isodine estos utilizados como grupo experimental y un tubo con solo medio de cultivo como grupo control.

Posteriormente se incubaron por 24 horas a 37 °C, transcurrido el tiempo se comparó los tubos de las diferentes concentraciones de cada uno de los agentes antimicrobianos con el control.

Se cuantificó la concentración de las UFC y la sensibilidad de la bacteria al agente antimicrobiano inoculado solamente los tubos de más baja concentración que el grupo control en agar soya tripticaseína en extensión en placa y se incubaron por 24 horas a 37 °C. Para determinar el porcentaje de inhibición, así mismo la CMI y CMB.

Además Se realizó la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar, coparado con gentamicina como control positivo.

A continuación se compararon y evaluaron los dos métodos para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético a diferentes agentes antimicrobianos, finalmente se valoró el agente antimicrobiano y la concentración más eficaz contra esta bacteria.

En base a los resultados concluimos que los antisépticos probados como: el ácido acético con las concentraciones del 25% al 1.56%, el yodo a las concentraciones 5% a 0.625% y permanganato de potasio a las concentraciones 25% y 12.5% presentaron un porcentaje

de inhibición de 99.9% lo que indica que tienen una acción bactericida, sin embargo el agua oxigenada a las concentraciones de 10% y 5% no tiene acción bactericida ya que presentó una inhibición de 97.1% y 98% respectivamente, se observó que a concentraciones bajas del 5% presentó una mayor resistencia a este agente quimioterápico.

## ANTECEDENTES

Entre los trastornos del páncreas, se incluye la endocrinopatía más frecuente, la diabetes mellitus enfermedad crónica que afecta a casi 12 millones de personas y ocupa el cuarto lugar entre las causas de muerte por enfermedad a nivel mundial (Tortora, 2002), en particular en México la diabetes mellitus ocupa el tercer lugar en mortalidad (INEGI, 2005), principalmente a causa de sus efectos cardiovasculares generalizados. La diabetes mellitus consiste en un grupo de enfermedades que se caracteriza por la incapacidad para producir o utilizar la insulina (Tortora, 2002).

Existen dos tipos de esta enfermedad: la diabetes mellitus tipo I, se debe a la deficiencia absoluta de insulina, también llamada diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) y la diabetes mellitus tipo II o no insulino dependiente (DMNID), esta última ocurre habitualmente en personas mayores de 35 años con sobrepeso, los síntomas clínicos son leves y la glucemia se puede controlar mediante la dieta, ejercicio físico y reducción ponderal (Tortora, 2002).

La diabetes tipo 1 se manifiesta en los pacientes después de 20 años, se caracteriza clínicamente por poliuria, polidipsia, polifagia y cetoacidosis, todo ello a consecuencia de las alteraciones metabólicas. La insulina es una de las principales hormonas anabólicas del organismo, cuando esta hormona deja de funcionar no solo afecta al metabolismo de la glucosa, sino también a las grasas y proteínas, así mismo la asimilación de la glucosa por el tejido muscular y adiposo sufre una disminución o incluso queda inhabilitada, interrumpe la formación de depósitos de glucógeno en el hígado y músculos, finalmente agota las reservas existentes. Todo esto conlleva a una intensa hiperglucemia en ayunas con glucosuria que induce una diuresis osmótica, se manifiesta por poliuria, provocando una intensa pérdida de agua y electrolitos.

La probabilidad de que un paciente muera de su enfermedad es mayor en al diabetes tipo 1 que en la tipo 2. Las causas de muerte por orden descendente de importancia son: el infarto del miocardio, la insuficiencia renal, la enfermedad cererovascular, la cardiopatía isquémica y las infecciones de la piel, (Contran, 2000).

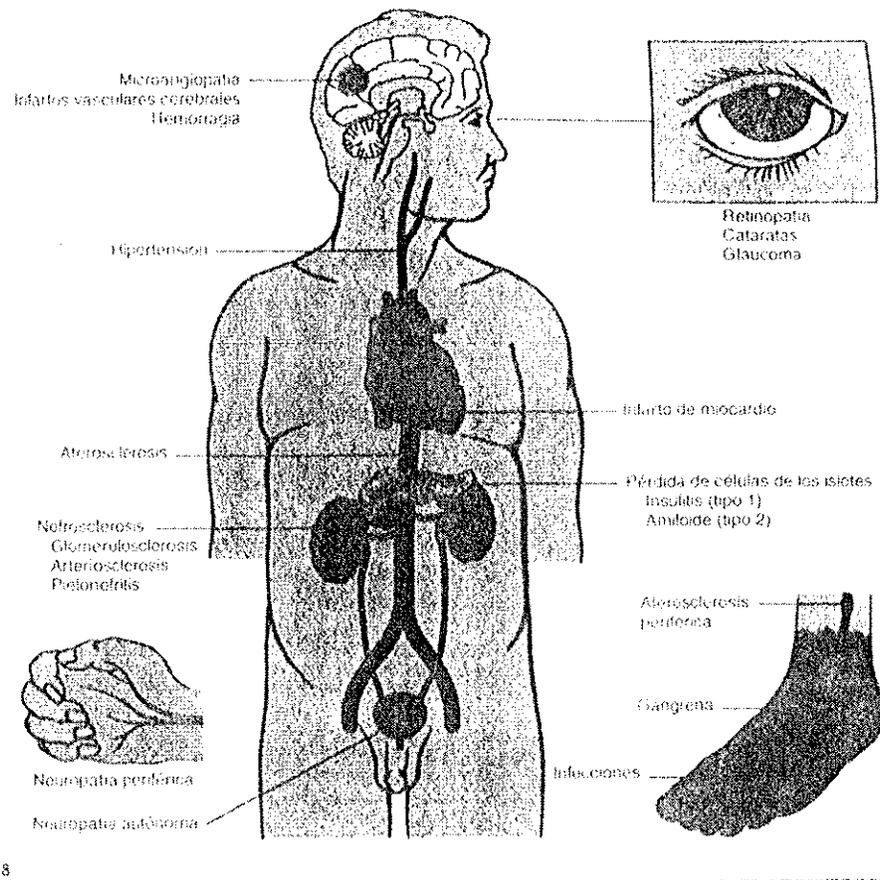
Las personas con Diabetes Mellitus (DM) desarrollan úlceras en los pies y las extremidades inferiores, lo cual es un problema que se manifiesta clínicamente con daño neurológico sensitivo-motor-autónomo (Contran, 2000) e infecciones que tienen

como consecuencia amputaciones parciales o totales de miembros inferiores en la mayoría de los casos y que representan un desafío tanto en su vertiente diagnóstica como terapéutica. Los diabéticos son susceptibles a infecciones que producen traumatismo originando la puerta de entrada a microorganismos (Aragón, 2002)

Estas infecciones pueden llevar a la pérdida de extremidades causando un 5% de fallecimiento (Contran, 2000) y por otra parte alteración clínica de base etiopatogénica neuropática que es inducida por la hiperglucemia mantenida, en la que con o sin coexistencia de isquemia, y previo desencadenante traumático, produce lesión o ulceración del pie definida como pie diabético (PD) por la Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascul ar ver Fig. 1 ([http:// www.piediabetico.com](http://www.piediabetico.com)).

La extremidad isquémica no responde a la infección con incremento de la perfusión local, formación de edema e infiltración leucocitaria de la misma forma que la extremidad bien vascularizada, por lo tanto los antibióticos no llegan al lugar de la infección en concentración adecuada, debido a la perfusión tisular, los diabéticos tienen una probabilidad 5 veces mayor de sufrir múltiples operaciones y 46 veces mayor de acabar con una amputación del miembro inferior que los no diabéticos. Nunca se debe de olvidar que una infección aparentemente banal puede provocar la pérdida del miembro (Aragón, 2002).

De acuerdo a la severidad de las infecciones en la piel se clasifican en: leves, moderadas y severas. En las infecciones leves existen úlceras superficiales, pus y celulitis, no presentan síntomas ni signos de diseminación, las moderadas la úlcera es profunda, hay absceso plantar, con celulitis del pie al tobillo, presenta fiebre moderada y leucocitosis, por último las severas en donde los pacientes tienen descompensación, estado séptico, difusión a la pierna, fiebre alta, gas y crepitación en el tejido. Conforme las lesiones son de grado superior, aumenta la posibilidad de sufrir una amputación mayor e incrementa asimismo la mortalidad asociada (Della, 1994).



**Fig. 1** Complicaciones a largo plazo de la diabetes (Contran, 2000)

Aunque se han desarrollado varias clasificaciones de las heridas, ninguna ha sido universalmente aceptada. Muchos médicos clasifican las úlceras del pie diabético según la clasificación de Wagner (Tabla 1), que es sencilla, pero sólo determina la profundidad, la neuropatía o la isquemia y la infección de la úlcera, no ofrece la información necesaria, por lo que se requiere complementar con la clasificación modificada por Harkless y Cols, de la Universidad de Texas (Diabetic Foot Classification) que incluye categorías de riesgo del pie diabético, así como un sistema de clasificación de las heridas del pie (Tabla 2), y más detalles sobre la isquemia y la infección (Gill, 2001).

Grado	Lesión
0	Ausencia de úlcera
I	Úlcera superficial
II	Úlcera profunda
III	Osteomielitis
IV	Gangrena del antepié
V	Gangrena de todo el pie

**Tabla 1.** Clasificación de Wagner (Wagner, 1981)

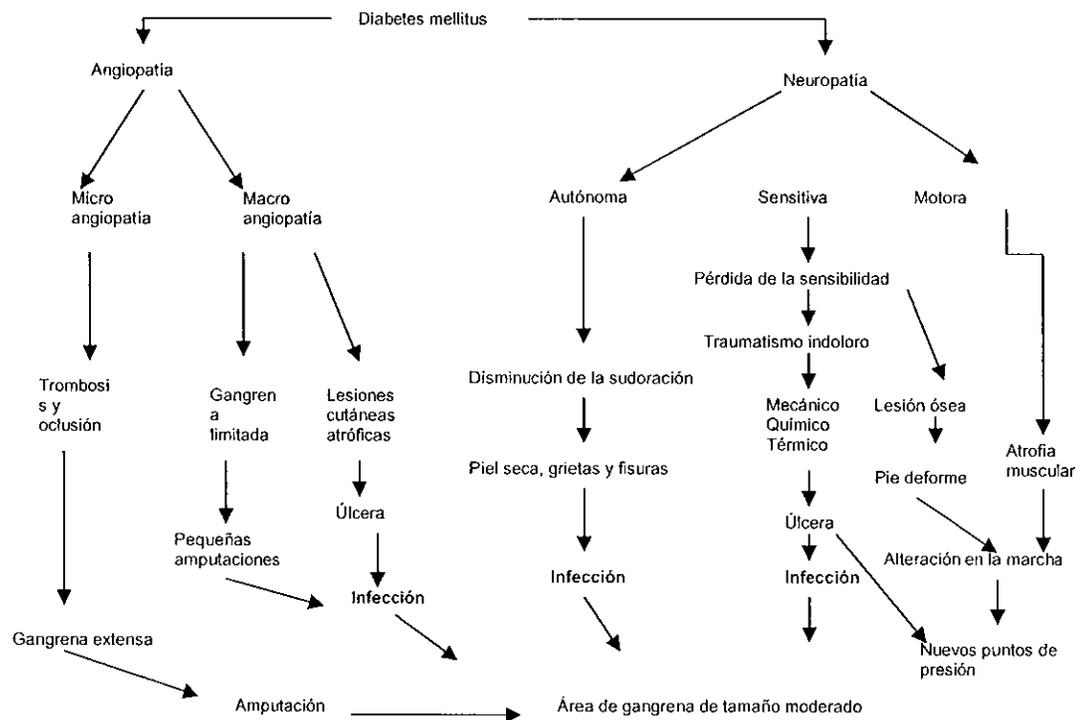
	0	1	2	3
A	Lesión pre o postulcerada completamente cicatrizada	Herida superficial	Herida penetrante a tendón o a cápsula	Herida penetrante en articulación y hueso
B	Infección	Infección	Infección	Infección,
C	Isquemia	Isquemia	Isquemia	Isquemia
D	Infección e isquemia	Infección e isquemia	Infección e isquemia	Infección e isquemia

**Tabla 2.** Clasificación de la Universidad de Texas para las heridas del pie diabético

En el pie diabético intervienen múltiples factores que causan ulceración, mismos que actúan en forma conjunta para determinar en particular la fragilidad del pie diabético, los dos principales factores son de carácter:

- a) Intrínseco; neuropatía periférica, alteración vascular periférica (angiopatía) o combinación de ambas, proceso infeccioso, deformidad estructural, limitación del movimiento articular y obesidad.
- b) Traumático; la presión es el factor desencadenante de la lesión, se encuentra la disminución de la sensibilidad, el cual ocasiona formación de una úlcera que no sana, que a su vez se complica con un proceso séptico, lo que obliga a un tratamiento radical (Fig. 2).

Al paciente se le hace un interrogatorio, acerca de: antecedentes de amputación, estado general, tiempo de evolución de la DM, cronicidad de la lesión, estado socioeconómico, tipo de calzado, obesidad, vejez, actitudes psicológicas de negación. La exploración física: inspección visual, palpación, percusión, antecedentes de neuropatía y vascular: parestesia, hiperestesia, anhidrosis, revisión ósea, pulsos, llenado capilar, presencia de infección, entre otras complicaciones de DM a largo plazo como: insuficiencia renal, compromiso oftalmológico significativo, disminución de la agudeza visual, problemas ortopédicos que interfieran en el cuidado correcto de los pies, artritis de rodilla, cadera o columna (Alpizar, 2003). Las dos lesiones básicas que se presentan en alguna etapa de la evolución de la diabetes son: la neuropatía (pie indoloro o sin dolor) y la angiopatía, tanto en la macro circulación como en la micro circulación (pie sin pulso), y son el origen de las complicaciones isquémicas e infecciosas que se presentan en el PD.



**Fig. 2** Patología de las lesiones del pie del diabético

Las lesiones en la piel son la vía de entrada de las infecciones bacterianas (Islas, 1999), se han diseñado herramientas auxiliares para el diagnóstico:

Estudios y pruebas para examen del pie		
Sensitivo	Sensación de pinchazo de alfiler, sensación de vibración	Pruebas de discriminación térmica
Motor	Debilidad por consunción, ausencia de reflejos tendinosos	Prueba electrofisiológica
Sistema autónomo	Sudoración reducida Textura cutánea, callo, venas dorsales del pie dilatadas, palidez	Prueba cuantitativa de sudor Prueba de laboratorio Doppler penetración corporal
Presentación clínica	Deformación del dedo	Radiografía del pie

(Alpizar, 2003)

Joslin en 1934 mencionó en forma contundente: "Las complicaciones más graves en el pie se pueden evitar siguiendo unas cuantas reglas básicas en la educación del paciente" (Islas, 1999). Para prevenir ulceración en el paciente diabético existe normas la prevención primaria:

Las complicaciones más graves en el pie diabético se pueden evitar siguiendo reglas básicas en la educación del paciente, entre ellas:

- ❖ Mantenimiento del control de glucosa y lípidos.
- ❖ Limpieza y nutrición de la piel.
- ❖ Mantenimiento de la temperatura.
- ❖ Evitar cualquier tipo de lesiones traumáticas.
- ❖ Prevención de las infecciones (Alpizar, 2003).

La prevención de las lesiones de los pies es una asignatura sanitaria pendiente, porque la mejora de los resultados no depende de recursos técnicos, sino de medidas preventivas (Della, 1994).

Tratamiento del pie diabético según los grados

Grado 0.- Se debe de enseñar al paciente los cuidados de los pies y evitar los factores de riesgo de la arteriosclerosis.

Grado 1.- Evaluar al paciente en su totalidad y determinar la causa que ocasionó la úlcera, evitar la presión del pie mediante el reposo. Se utilizan yesos, botas, zapatos

quirúrgicos. Las curaciones se realizan alternando humedad y sequedad, después de un desbridamiento. Se debe utilizar solución fisiológica.

Grado 2 y 3.- Realizar una radiografía en la zona. Debe de hacerse un desbridamiento quirúrgico continuo y agresivo, con cultivo y antibiograma del tejido profundo. Comenzar el tratamiento con un antibiótico de amplio espectro. En caso del grado 3 hay que internar al paciente.

Grado 4.- Se debe de internar a los enfermos en un centro especializado y realizar una cuidadosa evaluación vascular, efectuando en muchos casos un tratamiento quirúrgico para mejorar el flujo.

Grado 5.- Lo habitual es la amputación primaria. Se debe de cuidar la otra pierna, pues tiene gran riesgo. Las amputaciones pueden ser:

Menores; dedos y cabezas de metatarsianos, transmetatarsiano o mediotarsianos.

Mayores; supra e infracondílea.

Para evaluar donde realizar la amputación se tiene que tomar en cuenta lo siguiente:

1.- Se debe de buscar la zona apta para un calzado o una prótesis.

2.- No debe haber infección (Gill, 2001).

Existen seis elementos en la cadena de la infección:

**Agente causal.-** La intensidad con la que un microorganismo es capaz de provocar una infección depende del número de agentes presentes, en la virulencia y potencia de los mismos (patogenicidad), la capacidad del microorganismo para penetrar en el cuerpo humano, la susceptibilidad del huésped y la capacidad del microorganismo para vivir en el cuerpo del huésped.

**Reservorio.-** Algunas fuentes habituales son otros seres humanos, los microorganismos del propio huésped, las plantas, los animales o el ambiente.

**Puerta de salida.-** Antes de que se establezca una infección en un huésped, el microorganismo debe abandonar su reservorio. Si el reservorio es humano, el microorganismo dispone de múltiples salidas, en función del lugar donde se encuentre el reservorio.

**Mecanismo de transmisión.-** Una vez que el microorganismo abandona su fuente o reservorio, necesita un medio de transmisión para alcanzar a un huésped, a través de una puerta de entrada: Existen tres mecanismos de transmisión:

1.- Transmisión directa. Implica la transferencia inmediata y directa de microorganismos de personas a persona, a través del tacto, mordeduras, besos o relaciones sexuales.

2.- Transmisión indirecta. Puede ser a través de un vehículo o a través de un vector.

a.- A través de vehículo. Es cualquier sustancia que actúa como intermediario en el transporte.

b.- A través de vector. Un vector es un animal/ insecto que actúa como intermediario en el transporte de un agente infeccioso.

3.- Transmisión aérea. Residuos de gotitas evaporadas que pueden permanecer en el aire durante períodos prolongados, emitidas por un huésped infectado o bien cuando partículas de polvo que contienen el agente infeccioso se transmiten a través de corrientes de aire hasta una puerta de entrada susceptible, que suelen ser las vías respiratorias de otro sujeto.

**Puerta de entrada.** Antes de que una persona resulte infectada, los microorganismos deben penetrar en su cuerpo. La piel es una barrera para los agentes infecciosos.

**Huésped susceptible.** Es toda persona que se encuentra en situación de riesgo de padecer una infección. Los huéspedes comprometidos son personas con un riesgo elevado, las cuales presentan mayor riesgo que las demás de contraer una infección, por una o más razones (Fig. 3) (Koizer, 2000).

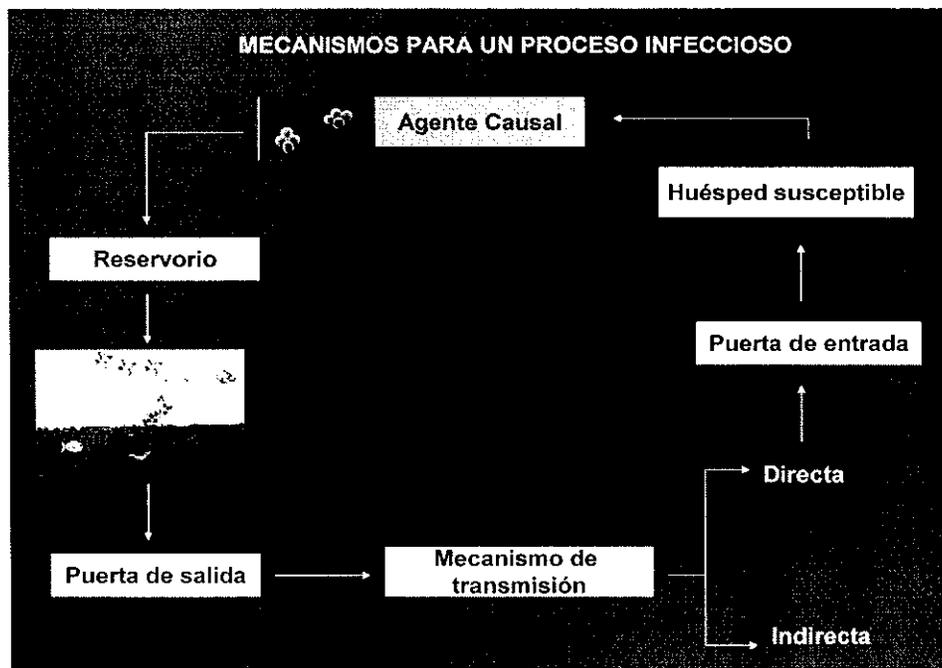


Fig. 3. La cadena de la infección tomado de (Kozier, 2000)

Las infecciones mas comunes son de origen bacteriana encontrados en los cultivos de las úlceras del pie diabético, siendo los más frecuentes: *Escherichia coli* (22%), *Pseudomonas aeruginosa* (18%) y *Staphylococcus aureus* (18%) (Sarmiento, 2005) ver (Tabla 3):

Microorganismo	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	(22%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(18%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(18%)
<i>Enterobacter aeruginosa</i>	(16%)
<i>Proteus mirabilis</i>	(12%)
<i>Streptococcus</i> betahemolítico del grupo B	(12%)
<i>Candida albicans</i>	(4%)
<i>Proteus vulgaris</i>	(4%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(4%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	(4%)
<i>Estreptococcus feacalis</i>	(2%)
<i>Citrobacter freudii</i>	(2%)

**Tabla 3.** Microorganismos más frecuentes en pie diabético

El género de *Staphylococcus* de acuerdo con el Manual Bergey, en la sección de parte 14 dentro del grupo a de cocos Grampositivos aerobios o anaerobios facultativos

Familia I *Micrococcaceae*

Género I *Micrococcus*

Especies *luteus*

*roseus*

*varians*

II *Staphylococcus*

*aureus*

*epidermidis*

*saprophyticus*

III *Planococcus*

*citreus* (Schaechter, 1994).

El género *Staphylococcus* corresponde a cocos Gram positivos, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, no formadores de esporas con un tamaño que oscila entre 0.5 y 2  $\mu\text{m}$  (Granados, 1997), se agrupan en forma de racimos de uvas (Ingraham, 1998), producen en su metabolismo catalasa y por fermentación degradan los azúcares (Granados, 1997). Se encuentran entre las bacterias piógenas o productoras de pus, originando abscesos locales en casi cualquier parte del cuerpo, desde la piel hasta la médula ósea (osteomielitis) (Schaechter, 1994). Lo localizamos entre las bacterias más resistentes a agentes físicos y químicos. Se destruyen por calor a 60°C en 30 minutos, siempre que estén en suspensión. En ausencia de suero, pus o albúmina, se pueden eliminar con fenol al 2% en 15 minutos; con peróxido de hidrógeno al 3% en tres minutos; y con etanol al 70% en una hora. El violeta (cristal) de genciana al 1:500 000 y el verde brillante al 1:10 000 000 son inhibidores de su crecimiento (Delaat, 1983).

*Staphylococcus aureus* es una de las especies más patógenas, agente etiológico de muchas infecciones, conocido como estafilococo dorado por el pigmento no difusible de color amarillo que forma. Bioquímicamente produce coagulasa y fermenta el manitol (Tabla 4). En su pared celular se han encontrado aproximadamente a 30 antígenos distintos, siendo los más importantes el polisacárido A, formado por ácido teicoico y polímeros de fosfato de ribitol, que induce a la formación de anticuerpos (Granados, 1997). Está presente normalmente sobre nuestra piel, se comporta como oportunista, invadiendo tejidos cuando una persona sufre lesiones pequeñas o graves. Su poder de invasión tiene relación con su capacidad para producir la enzima coagulasa, esta enzima es la característica principal por la cual se diferencia a la especie *Staphylococcus aureus*. Se encuentra entre las más resistentes de las bacterias patógenas y es difícil de eliminar del medio ambiente humano (Schaechter, 1994).

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulasa	+	-	-
Manitol	+	-	-
Toxina alfa	+	-	-
Proteína A	+	-	-
Sensibilidad novobicina	+	+	-

**Tabla 4.** Características diferenciales del género *Staphylococcus aureus* (Granados, 1997)

Es una de las bacterias patógenas que con más frecuencia se aíslan en los laboratorios de los hospitales en los Estados Unidos. Este microorganismo es responsable de enfermedades tan diversas como la intoxicación alimentaria estafilocócica, el síndrome de shock tóxico e infecciones cutáneas (Ingraham, 1998). La ingesta de cantidades relativamente pequeñas de enterotoxinas produce vómito y diarrea a las seis horas. Por otra parte, la exotoxina causa necrosis de la piel y lisis en los eritrocitos durante la formación y evolución de abscesos localizados. De estas inflamaciones locales, los organismos se diseminan frecuentemente por conducto de los vasos linfáticos y del torrente sanguíneo. De allí que las infecciones estafilocócicas se vuelvan a menudo enfermedades graves tales como: neumonía, meningitis, endocarditis, osteomielitis, epidermitis, entre otras.

Las infecciones se originan con mayor frecuencia en traumatismos, quemaduras u otras lesiones de la piel. También se presentan en pacientes con enfermedades como: cáncer, cirrosis hepáticas o diabetes mellitus (Delaat, 1983), en cultivos de úlceras de pie diabético se ha aislado el 18% (Sarmiento, 2005).

El desarrollo de resistencia y la facilidad de reinfección son sin embargo, limitantes serios para el tratamiento eficaz; a mediados del siglo pasado, se han utilizado sustancias químicas aplicadas en la piel, con la finalidad de evitar las infecciones. La mayoría de las bacterias con importancia clínica son capaces de adquirir y expresar resistencia a los agentes antimicrobianos que habitualmente se usan para tratarlas. Por consiguiente, una vez que un microorganismo es aislado en el laboratorio, su

caracterización incluye pruebas para demostrar la resistencia a antimicrobianos, que se detectan por pruebas de sensibilidad.

Para que las pruebas de laboratorio determinen la resistencia del microorganismo con precisión, hay que minimizar la posible influencia de los factores del medio sobre la actividad antibiótica y antimicrobiana. La estandarización intenta cumplir con tres propósitos importantes:

- 1.- Optimizar las condiciones de desarrollo bacteriano.
- 2.- Optimizar las condiciones para mantener la integridad y actividad del antimicrobiano.
- 3.- Mantener la reproducibilidad y la coherencia de los resultados de manera que el mismo microorganismo produzca el mismo perfil de resistencia.

Los componentes de las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos, estandarizados y controlados, son los siguientes:

- ❖ El tamaño del inóculo bacteriano.
- ❖ El medio de desarrollo.
- ❖ La atmósfera de incubación.
- ❖ La temperatura de incubación.
- ❖ La duración de la incubación.
- ❖ Las concentraciones de antimicrobianos probados.

El cloruro de mercurio fue usado por los médicos árabes, en la edad media, para prevenir la sepsis en heridas abiertas. En 1777 comenzó a utilizarse el sulfato de cobre como conservador y en 1815, el cloruro de zinc, sin embargo, los antisépticos empiezan a usarse en medicina como: la soda calcinada y el hipoclorito, fueron introducidos en 1825 para el tratamiento de las heridas infectadas, la tintura de yodo en 1839, y desde 1850 el permanganato de potasio se comenzó a usar como antiséptico (Sánchez, 2005). En 1929, Fleming aisló la penicilina a partir de un hongo, *Penicillium notatum*, hasta nuestros días han sido puestos a nuestra disposición para la lucha contra las enfermedades bacterianas. Los antibióticos son definidos como sustancias químicas producidas por microorganismos o derivados semisintéticos de éstas. Sin embargo no todas las bacterias tienen la misma sensibilidad, por lo cual son usados distintos antibacterianos y quimioterápicos que algunos son productos de síntesis química, pero con la propiedad común de estar dotados de actividad antimicrobiana como los llamados antisépticos y desinfectantes

(Díaz, 2003). Los antimicrobianos son sustancias que actúan sobre o dentro de un tejido vivo inhibiendo los gérmenes, son llamados biocidas, pero para destruir las esporas, se necesita más tiempo y una correcta limpieza previa a la desinfección (Ciró, 2003). Un biocida en término general es un agente químico de amplio espectro que inactiva microorganismos, estas sustancias tienen tres grados de actividad que se pueden clasificar según su potencia y efectividad contra los microorganismos:

**Desinfectantes de bajo nivel.** Pueden destruir la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas (Gram positivas como Gram negativas), algunos virus con envoltura lipídica y hongos levaduriformes, pero no *Mycobacterium spp*, y esporas de bacterias.

**Desinfectantes de nivel intermedio.** Inactivan todas las formas bacterianas vegetativas, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, hongos filamentosos y la mayoría de los virus, pero no destruyen las esporas bacterianas.

**Desinfectantes de alto nivel.** Destruyen todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas (Sánchez, 2005).

### **Uso de antisépticos sobre las heridas**

La principal razón para el uso de antisépticos sobre las heridas abiertas es la prevención y tratamiento de infecciones, por consiguiente incrementa el proceso de curación de las heridas. La presencia de microorganismos patógenos interfieren en la curación de las lesiones, a través de diferentes mecanismos tales como: desechos metabólicos y toxinas, producción de mediadores inflamatorios, y el mantenimiento de la actividad de los neutrófilos, los cuales producen enzimas citolíticas y radicales libres de oxígeno. Esta respuesta inflamatoria prolongada contribuye a la injuria del huésped y no trasiende la curación. Por otra parte, la bacteria compite con las células del huésped por nutrientes y oxígeno necesario para la cicatrización, puede conducir a hipoxia del tejido, provocando que el tejido sea hemorrágico y frágil, reduciendo el número de fibroblastos y la producción de colágeno, por consiguiente daño a la reepitelización, siendo, el objetivo primario del cuidado de una herida es la creación de un medio ambiente óptimo, para el proceso de cicatrización.

El objetivo principal del uso de antisépticos sobre las heridas, es prevenir la infección, generalmente los antimicrobianos se utilizan para eliminar todas las

bacterias patógenas de las heridas cutáneas, mientras los antibióticos son efectivos solo sobre ciertas bacterias sensibles a ellos (Sánchez, 2005).

### **Características de un antiséptico y desinfectante**

Para la elección de un antiséptico ideal debe cumplir con ciertas características (Tabla 5), Los antisépticos y desinfectantes se clasifican de acuerdo a: su mecanismo de acción y según al grupo químico que pertenece, este último es el más utilizado (Tabla 6).

<b>Antisépticos</b>	<b>Desinfectantes</b>
Amplio espectro de actividad	Germicida de amplio espectro
Bajo costo	Bajo costo
Inocuo para tejidos vivos	No ofensivo, no aplicar objetos
No tóxico	Baja toxicidad
Rapidez y eficacia en materia orgánica	Amplia acción
Efecto acumulativo y residual	Disponibilidad
Baja capacidad de generar resistencia	No generar resistencia
No irritante ni sensible	Soluble en agua
No teñir los tejidos	Estabilidad conveniente
No poseer olor desagradable	Sin olor desagradable
Compatible químicamente con otras sustancias	

**Tabla 5.** Criterios de elección de un antiséptico y desinfectante (Sánchez, 2005)

De acuerdo a su mecanismo de acción se clasifican en:

#### Agentes que dañan la membrana

1. Detergentes
  - a. Catiónicos
  - b. Aniónicos
  - c. No aniónicos

2. Compuestos fenólicos
  - a. Fenol
  - b. Cresol
  - c. Difenilos halogenados
  - d. Alquilésteres de para-hidroxibenzoico
  - e. Aceites esenciales de plantas
3. Alcoholes
  - a. Etanol
  - b. Isopropanol

Agentes que destruyen las proteínas

1. Ácidos y bases fuertes
2. Ácidos orgánicos no dissociables

Agentes modificadores de grupos funcionales

1. Metales pesados
  - a. Mercuriales
  - b. Compuestos de plata
  - c. Compuestos de cobre
2. Agentes oxidantes
  - a. Halógenos
  - b. Agua oxigenada
  - c. Permanganato de potasio
  - d. Ácido paracético
3. Colorantes
  - a. Derivados de la anilina
  - b. Derivados de la acridina (flavinas)
4. Agentes alquilantes
  - a. Formaldehído
  - b. Glutaraldehído
  - c. Oxido de etileno

<b>Grupo Químico</b>	<b>Clase</b>	<b>Usos</b>
Alcoholes	Etanol Isopropanol	Antisepsis Desinfección Preservación
Aldehídos	Glutaraldehído Formaldehído	Desinfección Esterilización Preservación
Anilidas	Triclocarbón	Antisepsis
Biguanidas	Clorhexidina Alexidina Biguanidas poliméricas	Antisepsis Preservación Desinfección
Bisfenoles	Triclosán Hexaclorofeno	Antisepsis Desodorante Preservación
Diamidinas	Propamida Dibromopropamida	Antisepsis Preservante
Fenoles Cresoles	Fenol Cresol	Desinfección Preservación
Halofenoles	Cloroxilenol	Antisepsis Preservación
Agentes liberadores de Halógenos	Compuestos de cloro Compuestos de yodo	Desinfección Antisepsis Blanqueador
Metales pesados	Compuestos de plata Compuestos de mercurio Compuestos de cobre Compuestos de zinc	Preservación Antisepsis Desinfección
Peroxígenos (oxidantes)	Peróxido de hidrógeno Ácido paracético Permanganato de potasio Ozono	Desinfección Esterilización

Compuestos de amonio Cuaternario	Cloruro de benzalconio Cetrimida	Desinfectante Antisepsis Preservante Blanqueador
Colorantes	Acridinas Trifenilmetano	Antisepsis

**Tabla 6.** Clasificación de los antisépticos y desinfectantes según el grupo químico (Sánchez, 2005)

Los antisépticos y desinfectantes se usan en hospitales y otros centros del cuidado de la salud, son parte esencial en el control de las infecciones bacterianas (Sánchez, 2005).

### **Mecanismos de acción de los antisépticos y desinfectantes**

Se han realizado considerables progresos en el conocimiento de los mecanismos de acción antibacterianos de los antisépticos y desinfectantes, en contraste, existen escasos estudios sobre este mecanismo contra los hongos, virus y parásitos. Ésta puede ser evidenciada como una interacción del antiséptico o desinfectante con la superficie de la membrana celular del microorganismo, seguida de la penetración dentro de la célula y luego su acción sobre un blanco, alterando las funciones normales del microorganismo. La cantidad absorbida aumenta con el incremento de la concentración del antiséptico. En general, el mecanismo de acción de los antisépticos y desinfectantes depende de tres mecanismos básicos:

- (1) Capacidad de coagular y precipitar proteínas.
- (2) Alterar las características de permeabilidad celular.
- (3) Toxicidad o envenenamiento de los sistemas enzimáticos de las bacterias, que a su vez dependen del grupo químico. Éstos pueden producir la muerte o inhibición celular de las bacterias por oxidación, hidrólisis o inactivación de enzimas, con pérdida de los constituyentes celulares, son más selectivos.

En forma general, los desinfectantes actúan como desnaturalizantes o precipitantes de proteínas, inhiben enzimas y causan muerte celular, son más potentes, más rápidos y termoestables que los antisépticos, algunos son tóxicos (Sánchez, 2005).

## **Diversos antisépticos utilizados en infecciones**

Existen diversas soluciones químicas antisépticas que se utilizan para curar heridas entre ellas tenemos; alcoholes, ácido acético, yodo, cloruro de benzalconio, azul de metileno, hipoclorito de sodio, peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) y permanganato de potasio.

El Ácido paracético es un antiséptico de tipo oxidante, desnaturaliza las proteínas y los lípidos de los microorganismos, lo que conduce a una desorganización de su membrana. En condiciones de saturación de iones  $H^+$  puede tener lugar hinchazón de la célula mediante atracción de agua, es considerado un biocida de mayor potencia que el peróxido de hidrógeno, tiene la ventaja de destruir cualquier tipo de microorganismo y esporas, tiene mejor efectividad en presencia de materia orgánica, es un bactericida, esporicida, virucida y fungicida a concentraciones bajas.

Se usa principalmente como desinfectante y esterilizante en:

- Desinfección de endoscopios.
- De membranas de hemodiálisis.
- En la industria farmacéutica y cosmética.

Es una opción útil, segura y económica que favorece la resolución pronta y efectiva de las infecciones, especialmente en aquellas causadas por *P. aeruginosa*. El ácido acético al 0.05% en heridas quirúrgicas infectadas de abdomen, es eficaz y seguro, en infecciones secundarias. Se comparó la eficacia de la solución de ácido acético a una concentración de 0.05%, la infección superficial del sitio quirúrgico se diagnosticó de acuerdo con las siguientes características:

- 1.- Drenaje purulento de la incisión superficial.
- 2.- Microorganismos aislados de un cultivo obtenido de manera aséptica de líquido o tejido de la incisión superficial.
- 3.- Uno de los signos o síntomas de infección, como: dolor o hipersensibilidad, enrojecimiento.

Se eligieron a 60 pacientes aleatoriamente formando dos grupos: el primer grupo formado por 30 pacientes tratados con solución de ácido acético al 0.05%, y segundo grupo integrado por 30 pacientes tratándose con solución de hipoclorito de sodio al 0.16%. Primero se tipificaron las bacterias aisladas en cultivos de heridas que fueron con mayor frecuencia: *E. coli* (33%) y *P. aeruginosa* (28%). Se realizaron lavadas de

la herida tres veces al día, hasta que desaparecieron los signos de infección y el cultivo fue negativo. Se observó que el proceso de curación fue más rápido en pacientes tratados con la solución de ácido acético (Cárdenas, 2005)

El permanganato de potasio es el más utilizado como antiséptico oxidante a lo largo de la historia. Libera oxígeno de los detritus, tiene una acción antibacteriana enérgica, actúa sobre la proteína microbial, activo frente a la mayoría de especies microbianas (bacterias, hongos y algunos virus).

El permanganato de potasio a la concentración de 1:10 000 es activo frente a la mayor parte de las especies microbianas. Se ha usado al 1% como antiséptico uretral y en dermatología por su propiedad antifúngica. El cual se aplica en forma de baños al 1:30 000, o en fomentos de 1:5 000 y a 1:10 000 como antiséptico en dermatosis extensas, produce estimulación de la granulación en las úlceras tórpidas, es irritante a concentraciones de 1:5 000 e inactivo en presencia de materia orgánica (Sánchez, 2005).

En México tiene aceptación la aplicación del permanganato de potasio en una dilución de 1:10 000, cuyo efecto fundamental es como un potente agente oxidante, seca la lesión y tiene cierto efecto fungicida (Islas, 1999).

En el caso de las lesiones de eczema agudo, que se caracteriza por vesiculación y exudación serosa, lo primero que se hace es secar el exudado con permanganato de potasio, si se encuentra sobre manos o pies, deben ser bañados en un recipiente de agua tibia con permanganato de potasio diluido 1:10 000 o 20 000 durante 10 minutos 2 veces al día hasta que el eczema ha secado ([http://www.galderma.com.mx/pac/Pac5/d5\\_p43.htm](http://www.galderma.com.mx/pac/Pac5/d5_p43.htm)).

Los compuestos yodados (solución de yodo al 5%, tintura de yodo, yodopovidona), desde su descubrimiento como elemento natural en 1811, por el químico Bernard Courtois, han sido usados ampliamente para la prevención de las infecciones y el tratamiento de heridas. El primer reporte del uso del yodo en el tratamiento de heridas fue dado por Davies en 1839, y posteriormente fue usado en la guerra civil americana, aún hoy se usa la tintura de yodo como antiséptico en cirugía, sin embargo el yodo molecular suele ser muy tóxico para los tejidos, causando dolor, irritación y decoloración de la piel, por lo que se han desarrollado los yodóforos desde 1949, siendo más seguros y menos dolorosos.

Los agentes oxidantes, se combina irremediablemente con residuos tirosina de las proteínas, precipitan las proteínas bacterianas y ácidos nucleicos, alteran la membrana celular al unirse a los enlaces C=C de los ácidos grasos, pero este mecanismo de acción es más complejo que en los otros halógenos, ya que la formación de ácido hipoyodoso ocurre a temperatura ambiente a velocidad considerable, mientras que con los demás halógenos requiere altas temperaturas. Además se forman iones triyodo e incluso pentayodo que incrementan el poder microbicida, aunque su concentración sea muy baja. Actúa disminuyendo los requerimientos de oxígeno de los microorganismos aerobios, interfiriendo la cadena respiratoria por bloqueo del transporte de electrones a través de reacciones electrolíticas con enzimas. Tiene una poderosa actividad germicida, ataca bacterias grampositivas y gramnegativas, micobacterias, esporas, hongos, virus, quistes y protozoos.

Existen los oxidantes (peroxígenos), son productos que liberan oxígeno, considerados como compuestos bactericidas útiles, su mecanismo de acción consiste en la inactivación de proteínas enzimáticas actuando sobre los grupos  $\text{-SH}$  de las proteínas de estructura y de las proteínas de las bacterias, su efecto generalmente es breve, porque el oxígeno liberado se combina rápidamente con toda materia orgánica, volviéndose inactivo, el espectro de actividad es sobre bacterias vegetativas, virus, micobacterias y esporas (Sánchez, 2005).

El peróxido de hidrógeno, conocido como agua oxigenada, es un agente químico líquido incoloro a temperatura ambiente, con sabor amargo, posee propiedades antisépticas y es el más utilizado en formulaciones del 5% al 20%. Se ha empleado como desinfectante y esterilizante químico por inmersión. Recientemente, se ha desarrollado tecnología que utiliza este agente para esterilizar a baja temperatura que consiste en un equipo que esteriliza por medio de plasma de peróxido de hidrógeno.

Tiene efectos oxidantes por producir  $\text{OH}$  y radicales libres, los cuales atacan a los componentes esenciales de los microorganismos como lípidos, proteínas y ADN. Se degrada rápidamente en oxígeno y agua, por lo que precisa estabilizadores para su conservación. Tiene un efecto fugaz por ser descompuesto por la catalasa de los tejidos (Sánchez, 2005).

Es activo frente a bacterias y virus, según la concentración y condiciones de utilización. Experimentos *in vitro* han mostrado un amplio espectro de eficacia con soluciones de peróxido de hidrógeno al 3%, con una mayor actividad frente a bacterias grampositivas. Estudios en humanos y animales han mostrado que no tiene efectos negativos sobre la curación de heridas. Rodeheaver y Gruber no encontraron retardo de la reepitelización después de la irrigación con peróxido de hidrógeno al 3% sobre la herida, sin embargo, se sugiere evitar el agua oxigenada en epitelio en formación ya que observo aceleración de la reepitelización en modelos de ratas. En otro estudio se ha encontrado esta sustancia incrementa el flujo sanguíneo en las úlceras isquémicas, este incremento del flujo sanguíneo puede ser debido a la formación de nuevos vasos a través de la activación de las metaloproteinasas. La conclusión de estos realizados con el peróxido de hidrógeno es que no influye negativamente sobre la curación de heridas, pero es inefectivo en reducir la cantidad de bacterias, sin embargo este compuesto puede ser útil como agente químico debridante (Cárdenas, 2000).

### **Métodos para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos**

Existen tres métodos generales para detectar y evaluar la susceptibilidad y resistencia bacteriana frente a diferentes agentes antimicrobianos.

- 1.- Los que miden directamente la actividad de uno o más agentes antimicrobianos contra un aislamiento bacteriano.
- 2.- Los que detectan directamente la presencia de un mecanismo de resistencia específica en un aislamiento bacteriano.
- 3.- Métodos especiales, que inhiben las complejas interacciones antimicrobiano microorganismo.

### **Métodos que miden directamente la actividad de antimicrobianos en forma directa**

Los métodos que miden en forma directa la actividad de los antimicrobianos incluyen la reunión de los agentes antimicrobianos en estudio y la bacteria infectante en el mismo, para determinar el impacto de la presencia del fármaco sobre el desarrollo o viabilidad bacteriana. Se mide e interpreta el nivel de impacto sobre el desarrollo bacteriano, de forma que puede informar la resistencia o la disminución de la

sensibilidad del microorganismo a cada agente. Las mediciones directas de la actividad antimicrobiana se hacen mediante:

- Métodos de prueba de sensibilidad convencionales como dilución en caldo, dilución en agar y difusión con discos.
- Sistemas comerciales de pruebas de sensibilidad.

### **Consideraciones generales para métodos de prueba**

#### Métodos de prueba convencionales: dilución en caldo

La prueba por dilución en caldo consiste en inhibir o destruir el microorganismo de interés con agentes antimicrobianos en un medio líquido (caldo de cultivo) y por difusión en agar por medio de discos impregnados o cilindros con una concentración de la solución del antiséptico. Cada agente antimicrobiano se prueba en un rango de concentraciones que habitualmente se expresa en microgramos de fármaco activo/mL de caldo ( $\mu\text{g/mL}$ ).

El rango típico de concentración probado para cada antibiótico es una serie de diluciones al medio; la menor concentración de antimicrobianos que inhibe por completo el desarrollo bacteriano visible se registra como concentración inhibitoria mínima (CIM) y las que obtienen el 99.9% de inhibición se conoce como concentración mínima bactericida (CBM), por el método de dilución en caldo y por zonas de inhibición en el método de difusión en agar.

Medios y agentes antimicrobianos. Para cualquier método de prueba de sensibilidad *in vitro*, es necesario alterar ciertas condiciones de probar y determinar los tipos de microorganismos, con la finalidad de optimizar el desarrollo de algunas bacterias exigentes y facilitar la expresión de la resistencia bacteriana, el medio de cultivo estándar más utilizado para la mayoría de las pruebas es Müller Hinton.

La prueba por dilución en caldo se divide en dos categorías: **microdilución** y **macrodilución**. Los principios de las pruebas son iguales: la única diferencia es el volumen de caldo en el que se realiza la prueba. Para la prueba por microdilución el volumen total de caldo es de  $50\mu\text{L}$  a  $100\mu\text{L}$  y para la prueba por macrodilución los volúmenes habituales de caldo son de  $100\mu\text{L}$  o más.

Inoculación e incubación. Las suspensiones bacterianas estandarizadas, con un grado de turbidez igual al estándar 0.5 de McFarland, se usan habitualmente como punto de partida de diluciones que alcanzan finalmente la concentración bacteriana estándar de  $5 \times 10^8$  UFC/mL. Es importante recalcar que el inóculo estándar debe

prepararse a partir de un cultivo puro y fresco (18 a 24 hrs) de los microorganismos a probar.

Las placas sembradas se incuban en condiciones atmosféricas que optimicen el desarrollo bacteriano y que no interfieran con la actividad antimicrobiana.

La prueba por dilución en caldo permite la opción de proporcionar resultados cuantitativos y cualitativos (la interpretación por categorías), (Foselie, 2004).

## **JUSTIFICACION**

Se ha determinado que el uso indiscriminado de antibióticos generan una susceptibilidad adversa en diabéticos que presentan ulceraciones en las extremidades inferiores dando origen a pie diabético, debido a que estos pacientes no pueden tener ingesta de dosis elevadas de antibióticos por las complicaciones, como la insuficiencia renal aunando el proceso de granulación que favorece la presencia de las infecciones las cuales pueden ser inofensivas o severas, por lo que es necesario emplear alternativas como el uso de antisépticos de forma tópica.

La evaluación de la sensibilidad de los antisépticos ayuda a la elección del compuesto adecuado para el tratamiento de una infecciones bacterianas como puede ser el caso de soluciones diluidas de diferentes agentes quimioterápicos (permanganato de potasio, ácido acético, yodo y agua oxigenada).

## **HIPÓTESIS**

El uso de agentes antimicrobianos de forma tópica podrían ser una alternativa efectiva para disminuir infecciones bacterianas como los antibióticos de forma oral.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a diferentes agentes antimicrobianos.

## OBJETIVOS PARTICULARES

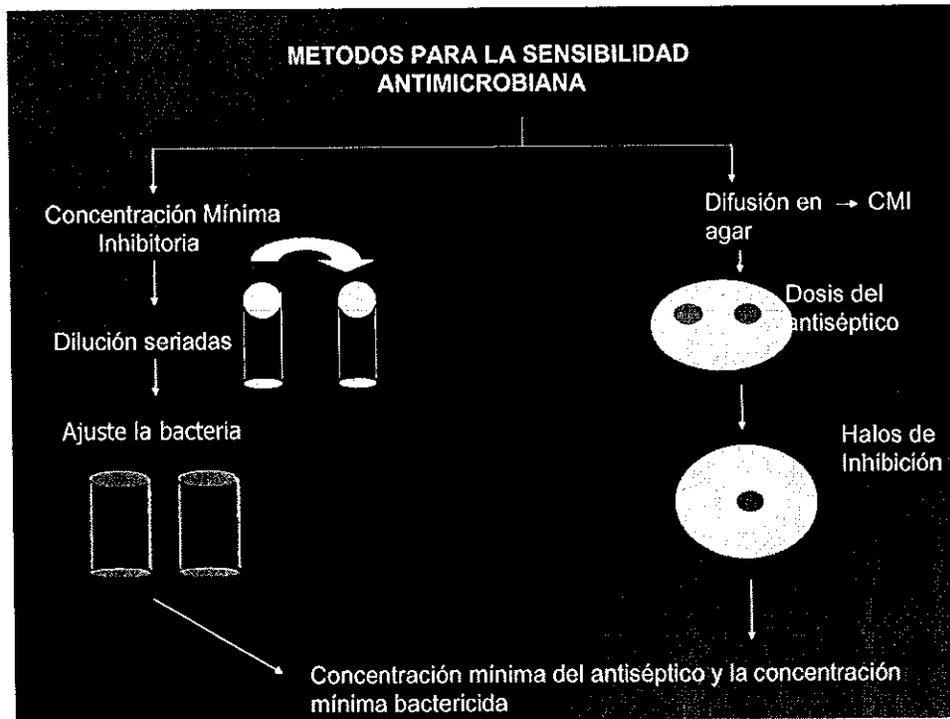
- 1.-Determinar la concentración mínima inhibitoria de diferentes agentes antimicrobianos contra *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético.
- 2.- Determinar la concentración mínima bactericida de permanganato de potasio, agua oxigenada, yodo y ácido acético contra *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético .
- 3.- Evaluar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético por el método de difusión en agar a diferentes agentes microbianos.
- 4.-Comparar y evaluar los métodos de dilución en caldo y difusión en agar para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético a diferentes agentes antimicrobianos.
- 5.-Valorar el agente antimicrobiano más eficaz contra *Staphylococcus aureus* aislado de pie diabético a diferentes concentraciones.

## METODOLOGIA

### **Cepa de *Staphylococcus aureus***

Las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* fueron proporcionadas por el Hospital General Regional No 46 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Guadalajara, Jalisco y el Antiguo Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", las muestras fueron procedentes de pacientes con Diabetes Mellitus y Pie Diabético y la cepa de nasofaríngeo (estándar de referencia) que se procesaron y tipificaron en el Laboratorio de Bacteriología de cada institución, posteriormente la cepa fue facilitada en agar sangre al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Biología Celular y Molecular en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara para realizar las pruebas de sensibilidad de *Staphylococcus aureus* con diferentes concentraciones de antimicrobianos (permanganato de potasio, agua oxigenada, yodo y ácido acético) por el método de dilución en tubo para determinar la CMI y CMB, además el método de difusión en agar y a su vez determinar las concentraciones de los diferentes agentes antimicrobianos (Fig. 4).

La muestra de *Staphylococcus aureus* proporcionada fue inoculada en agar salado manitol, una vez que se tiene la cepa se realizó una tinción de Gram y se inoculó en agar soya tripticaseína y caldo soya tripticaseína, se incubaron por 24 horas a 37°C, las cuales fueron utilizadas para realizar las diferentes pruebas y se emplearon diluciones del cultivo equivalente al estándar 0.5 de McFarland determinando la concentración de bacterias  $5 \times 10^8$  (UFC/mL).



**Fig. 4** Métodos para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana

### Preparación de concentraciones de antimicrobianos

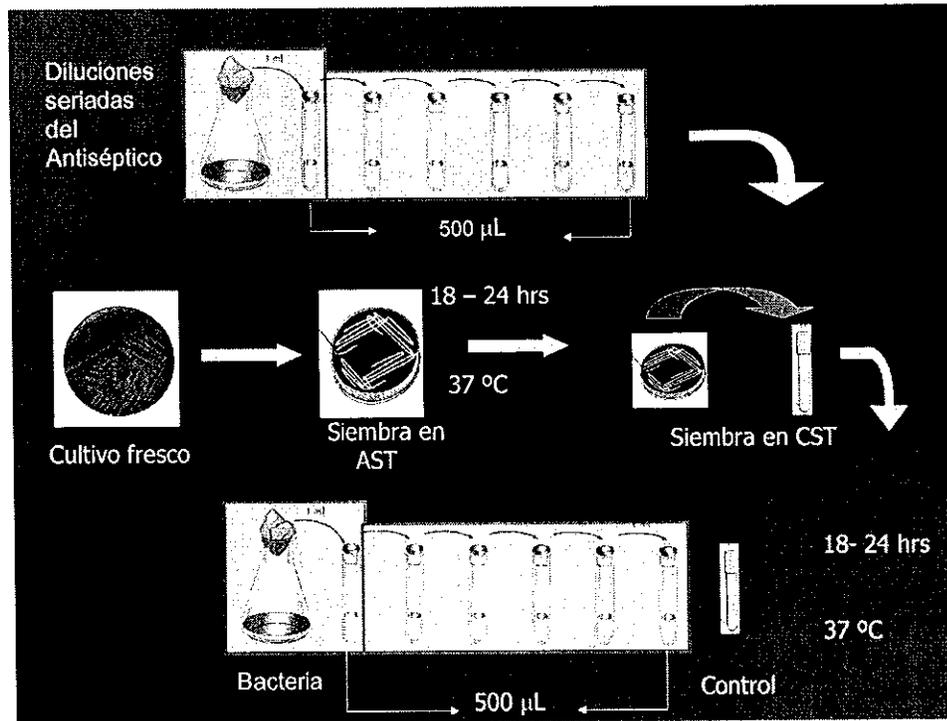
Se realizaron diferentes concentraciones de antimicrobianos: permanganato de potasio de 25% hasta 0.024%, agua oxigenada 20% a 0.15%, ácido acético de 50% al 1.56% el yodo del 10% a 0.0097%, todas las soluciones fueron diluidas en agua estéril.

### Determinación de la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de antimicrobianos, por el método de dilución en caldo

Se prepararon 2 series de 6 tubos de permanganato de potasio que fueron rotulados del 1 al 5, cada tubo contenía 500  $\mu$ L de medio de cultivo de caldo soya tripticaseína. Se realizaron por duplicado diluciones seriadas, en el tubo 1 se colocaron 500  $\mu$ L de la concentración de permanganato de potasio de 25% se homogenizó con vortex y posteriormente del tubo 1 se transfirieron 500  $\mu$ L al tubo dos, se homogenizó y así sucesivamente se continuó con los demás tubos, las diluciones finales fueron 25, 12.5, 6.25, 3.125 y 1.562 % hasta el tubo 5 se eliminaron los últimos 500  $\mu$ L, el tubo

6 se reserva solo con el medio de cultivo que será el tubo control que no contiene ningún tipo de antimicrobiano.

Después a cada uno de los tubos se le adicionó 500  $\mu\text{L}$  de la suspensión bacteriana de *Staphylococcus aureus* ( $5 \times 10^8$  UFC/mL), quedando finalmente un volumen de 1 mL, posteriormente fueron incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas (Fig. 5).



**Fig. 5** Método de Concentración Mínima Inhibitoria

Por otra parte, este procedimiento se realizó por duplicado para cada uno de los agentes antimicrobianos utilizando diferentes concentraciones, se prepararon 8 tubos para agua oxigenada iniciando con la concentración del 20%, y 6 tubos con ácido acético al 50% y por último 7 tubos de yodo, con una concentración del 10%, quedando finalmente las siguientes concentraciones por mililitro de cada uno de los agentes antimicrobianos (Tabla 7):

Después de la incubación se comparó la turbidez del crecimiento bacteriano de los tubos experimentales con agente antimicrobiano y el grupo control.

Posteriormente para determinar el porcentaje de inhibición de cada uno de los agentes antimicrobianos a sus diferentes concentraciones, se seleccionaron los tubos que presentaron un menor crecimiento comparado con el grupo control, los

cuales se inocularon por extensión en placa en cajas con agar soya tripticaseína colocando 250µL de cada una de las concentraciones de los antimicrobianos. Se incubaron a 37°C por 24 horas. Después se cuantificó la cantidad de UFC en cada una de las muestras en un contador de colonias de Québec. Posteriormente se determinó el porcentaje de inhibición y crecimiento, tomando como el 100% las UFC determinadas en el grupo control. Después se estableció la CMI y CMB de cada antimicrobiano, y se comparó la actividad de sensibilidad de cada antimicrobiano (Fig. 6).

No de Tubo	Concentración de Permanganato de potasio (%/mL)	Concentración de agua oxigenada (%/mL)	Concentración de ácido acético (%/mL)	Concentración de yodo (%/mL)
1	25	10	25	5
2	12.5	5	12.5	2.5
3	6.25	2.5	6.25	1.25
4	3.125	1.25	3.125	0.625
5	1.562	0.625	1.56	0.312
6	CONTROL	0.312	CONTROL	0.15
7		0.15		CONTROL
8		CONTROL		

**Tabla 7:** Concentración de diferentes agentes microbianos utilizados para CMI

Para determinar la CMI es la cantidad mínima del antiséptico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, y por otra parte la CBM que es la concentración del antiséptico capaz de provocar un 99.9% de inhibición del crecimiento bacteriano (Toribio, 2005).

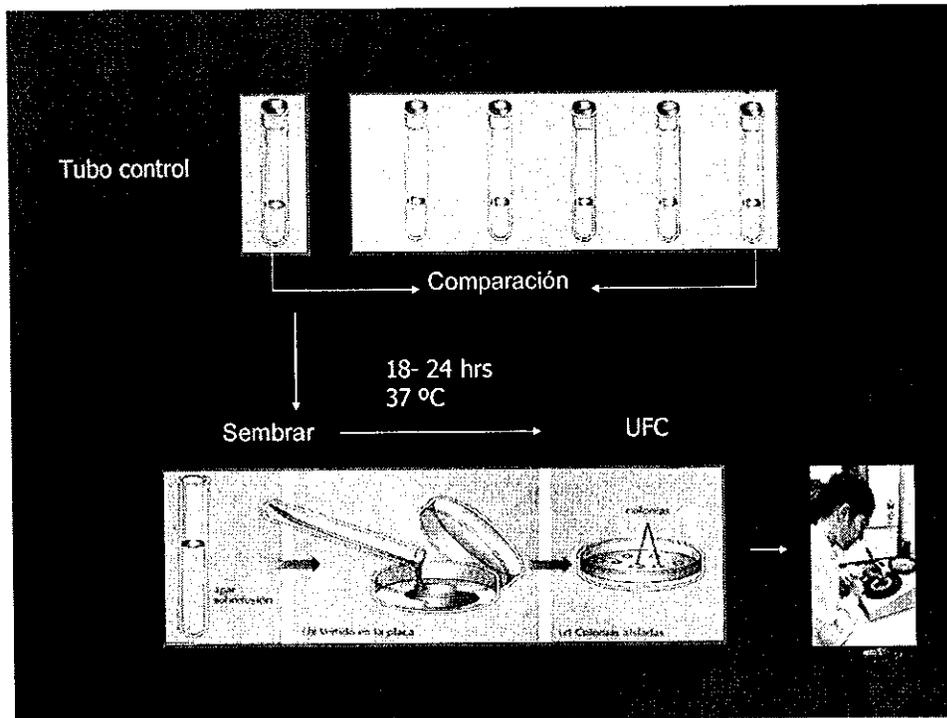


Fig. 6 Cuantificación de UFC

### Determinación de sensibilidad de *Staphylococcus aureus* por el método de difusión en agar a diferentes concentraciones de antimicrobianos

Se prepararon cajas con 21 mL de agar Müeller Hinton de acuerdo a las especificaciones del proveedor, Se inoculo uniformemente por toda la placa con un hisopo (previamente esterilizado) una concentración conocida de  $5 \times 10^8$  UFC/mL (comparada al equivalente a 0.5 de la escala de MacFarland de acuerdo a las especificaciones del método de Kirby –Bauer), se dejan reposa por 5 minutos.

Se colocaron los cilindros de acero inoxidable con pinzas (previamente esterilizadas), posteriormente se coloco 250  $\mu$ L de cada una de las diferentes concentraciones de acuerdo con los empleados anteriormente en el método de dilución en tubo, se uso como referencia estándar la gentamicina. Se dejaron las placas 15 minutos a temperatura ambiente para comenzar la difusión de los antisépticos (Fuselier, 2004).

Se incubaron las placas a 37 °C durante 18-24 horas y posteriormente se midió las zonas de inhibición reportando los datos en mm de la lectura de cada halo de inhibición (Fig. 7).

## RESULTADOS

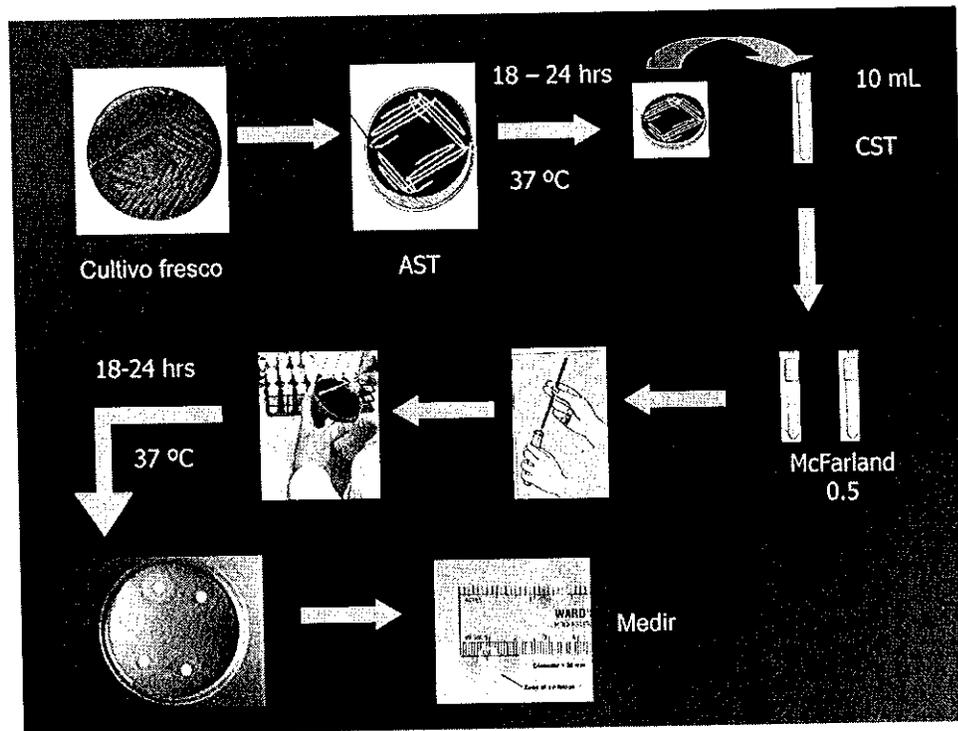
El método de dilución en caldo nos proporciona información sobre la CMI que es la mínima concentración del antiséptico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, y la CMB es la concentración que inhibe el 99.9% de crecimiento.

Después de determinar la concentración mínima inhibitoria para la estandarización con una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de enfermedades nasofaríngeas con los diferentes agentes antimicrobianos: yodo, ácido acético, permanganato de potasio y agua oxigenada. Se observó que con el yodo a diluciones seriadas de 5%, a 0.625% logró una inhibición del 99.9% en todos los casos, sin embargo, a más baja concentración de 0.312% no logró disminuir el crecimiento en comparación con el grupo control (Fig. 8). En las diferentes concentraciones probadas el ácido acético (25%, 12.5%, 6.25%, 3.12% y 1.56%) se logró disminuir en todos los casos un porcentaje de inhibición del 99.9% (Fig. 9).

En la fig. 10 se muestra que el permanganato de potasio 12.5, 6.25, 3.12 y 1.562% mostró una inhibición del 91.5%, 97.9%, 92.9% y 89.5% respectivamente. En las soluciones de agua oxigenada 10% presentó un crecimiento bacteriano del 3.4% por lo tanto, una inhibición del 96.6% en relación con el grupo control, en el 5% presentó el 7% de desarrollo bacteriano y a 2.5 % de agua oxigenada por mililitro solo inhibió el 66%, ver fig. 11. A bajas concentraciones de 1.25% presentó mayor crecimiento bacteriano que el control.

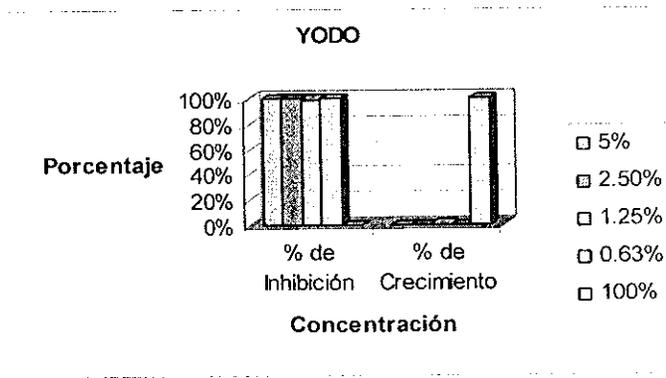
Las soluciones antisépticas que mostraron CMB fueron: el yodo de 5% a 0.63% y el ácido acético de 25% a 1.56% en la cepa de *S. aureus* de enfermedades nasofaríngea, la cual fue utilizada como estándar de referencia.

Los datos fueron analizados por comparación de grupos para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* por el método de difusión en agar y CMI a diferentes concentraciones de antimicrobianos.

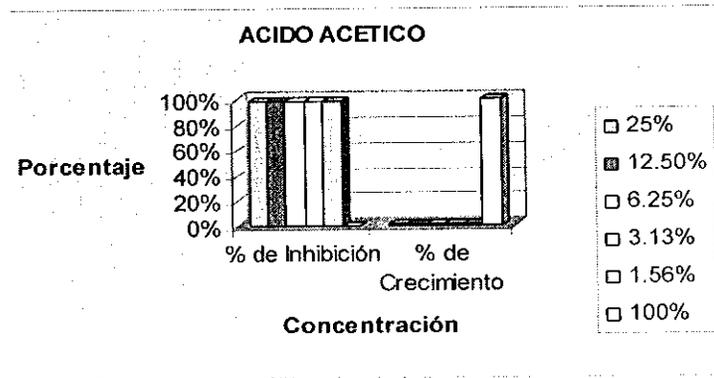


**Fig. 7** Método de difusión en agar

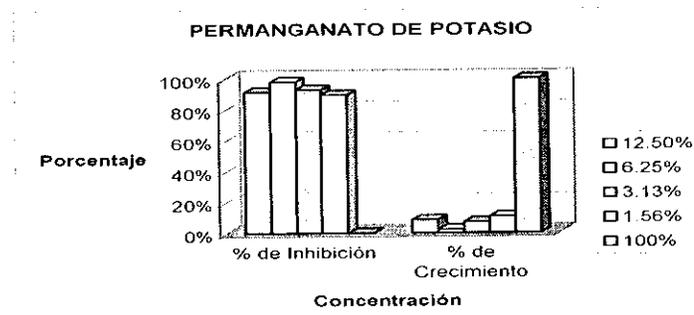
Los datos generados en los dos métodos fueron analizados con los dos tipos de cepas, para determinar el antiséptico más eficaz y la dosis efectiva de cada antiséptico de *Staphylococcus aureus*.



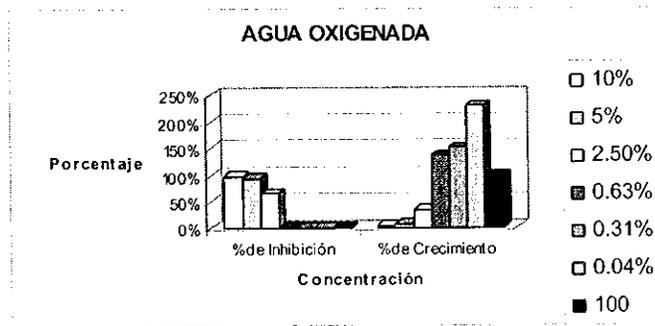
**Fig. 8** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de yodo por el método de dilución en tubo



**Fig. 9** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de ácido acético por el método de dilución en tubo



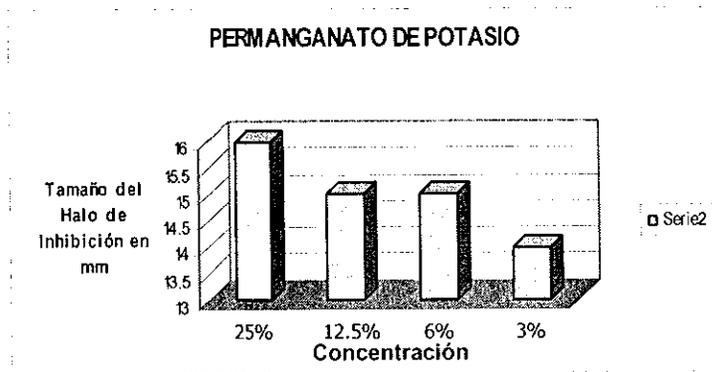
**Fig. 10** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de permanganato de potasio por el método de dilución en tubo



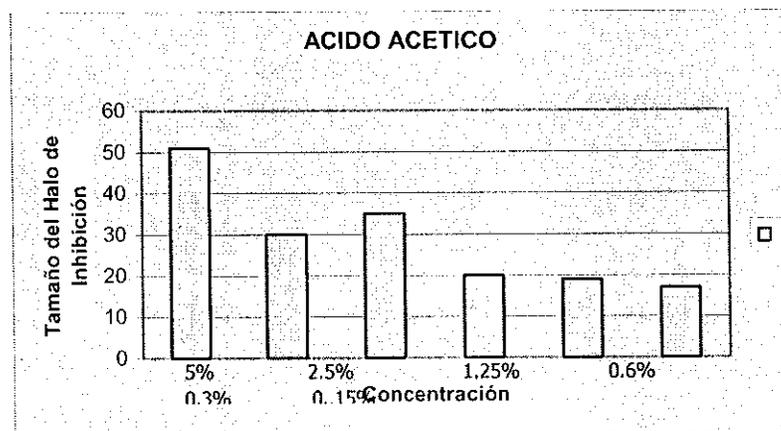
**Fig. 11** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de agua oxigenada por el método de dilución en tubo

El fundamento del método por difusión en agar se basa en colocar diferentes soluciones del agente antimicrobiano en cilindros de acero inoxidable en caja de petri con agar Müller-Hinton el cual ha sido previamente sembrado con la bacteria estandarizada de acuerdo a la escala de McFarland ( $1 \times 10^8$ ) y después se incubó por 24 horas a  $37^\circ\text{C}$ , se observa y mide el halo de inhibición para determinar la sensibilidad de cada solución a la cepa de *S. aureus*.

Los agentes antimicrobianos probados en este estudio fueron yodo, ácido acético, permanganato de potasio y agua oxigenada a diferentes concentraciones por el método de difusión en placa, se observó que en el permanganato de potasio existe una relación a mayor concentración 25, 12.5, 6.25 y 3.17% mayor halo de inhibición, el cual corresponde a 16, 15, 15 y 14 mm (Fig.12), en ácido acético 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.312% y 0.156% se logró un halo de inhibición de 51, 30, 35, 20, 19 y 17 mm respectivamente (Fig. 13).

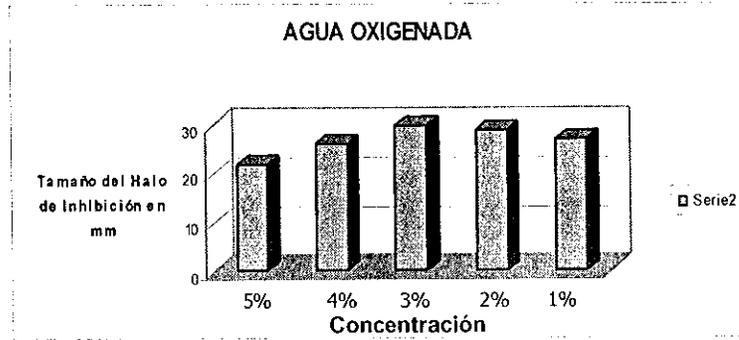


**Fig. 12** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del permanganato de potasio por el método de difusión en agar

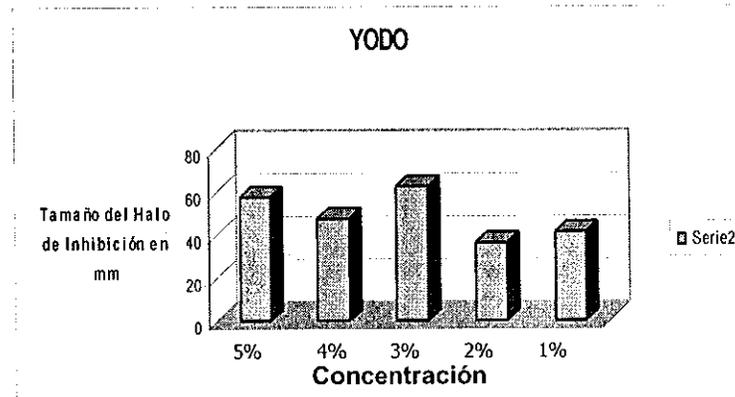


**Fig. 13** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del ácido acético por el método de difusión en agar

El agua oxigenada a concentraciones del 5%, 4%, 3%, 2% y 1%, presentaron un halo de inhibición de 22, 26, 30, 29 y 27 mm en cada una de las concentraciones (Fig. 14). Finalmente el yodo 5%, 4%, 3%, 2% y 1% halos de inhibición de 57, 47, 62, 36 y 41 mm respectivamente (Fig. 15).



**Fig 14** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del agua oxigenada por el método de difusión en agar



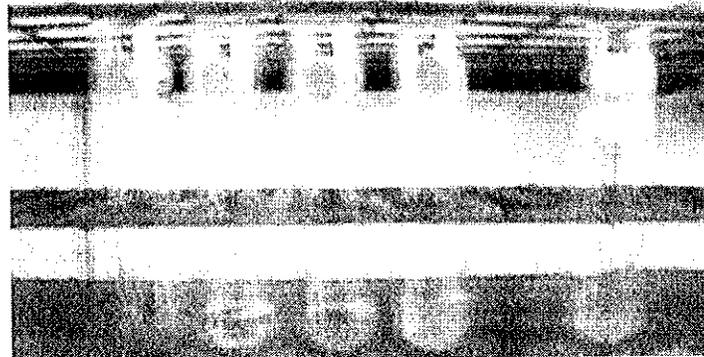
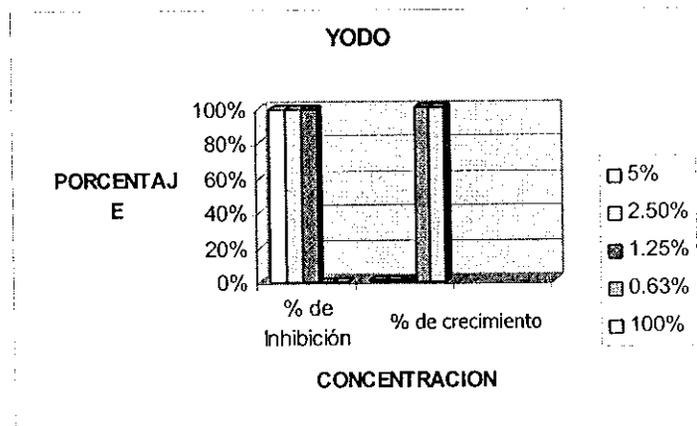
**Fig 15** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del yodo por el método de difusión en agar

Una vez determinada las concentraciones de los diferentes agentes antimicrobianos se determinó la sensibilidad de *S. aureus* aislado de pacientes con pie diabético en la cual fueron analizadas 3 muestras por duplicado y probadas para los diferentes agentes antimicrobianos: yodo, ácido acético, permanganato de potasio y agua oxigenada y se obtuvo los siguientes datos.

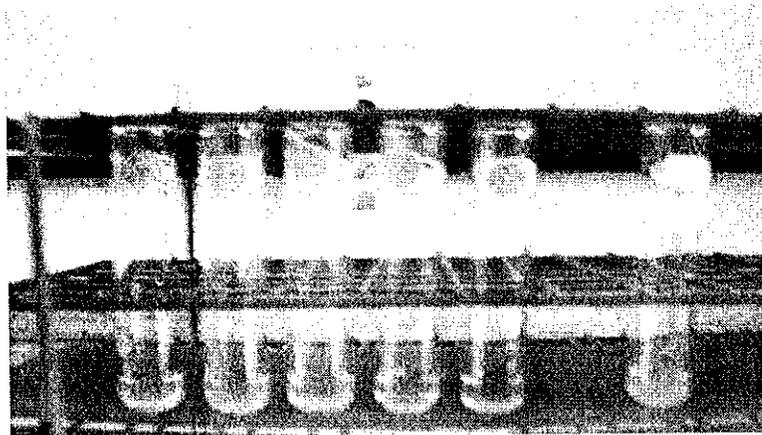
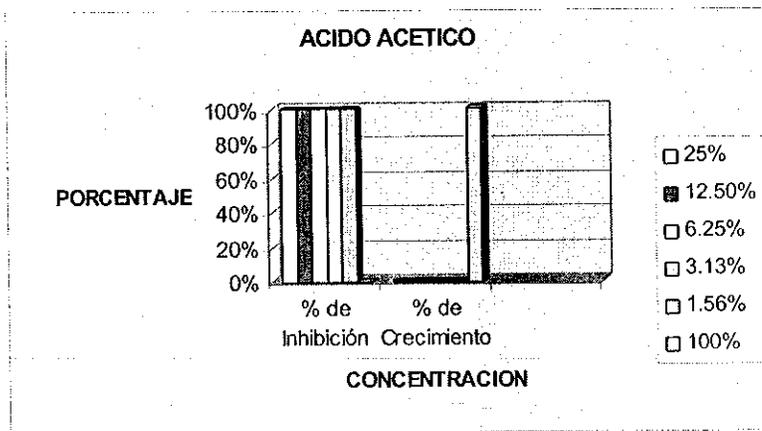
En pacientes con pie diabético se observó que el yodo a concentración del 5%, 2.5%, 1.25%, en diluciones seriadas de ácido acético 25% a 1.56% mostró para ambos agentes antibacterianos un crecimiento del 0.1% y una inhibición del 99.9% en todas

las concentraciones probadas excepto en yodo a concentraciones bajas de 0.625% no presentaron inhibición comparado con el grupo control (Fig. 16 y 17).

El permanganato de potasio a las concentraciones de 25, 12.5%, logró disminuir un 99.9% y a 6.25% inhibió 99.8%, sin embargo, a 3.12% solamente inhibió el 67% comparados con el grupo control crecimiento de *S. aureus*, (Fig 18) y a mas bajas concentraciones de 1.56% no logró disminuir el crecimiento bacteriano, con actividad bactericida solamente a las concentraciones de 25% y 12.5%.

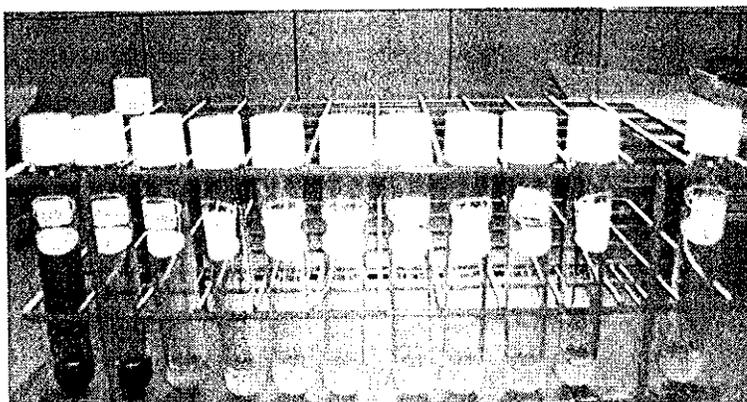
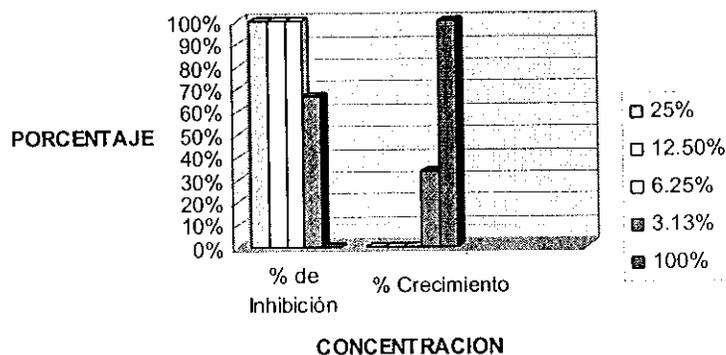


**Fig. 16** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* aislada de pacientes con PD a diferentes concentraciones del yodo por el método de dilución en caldo



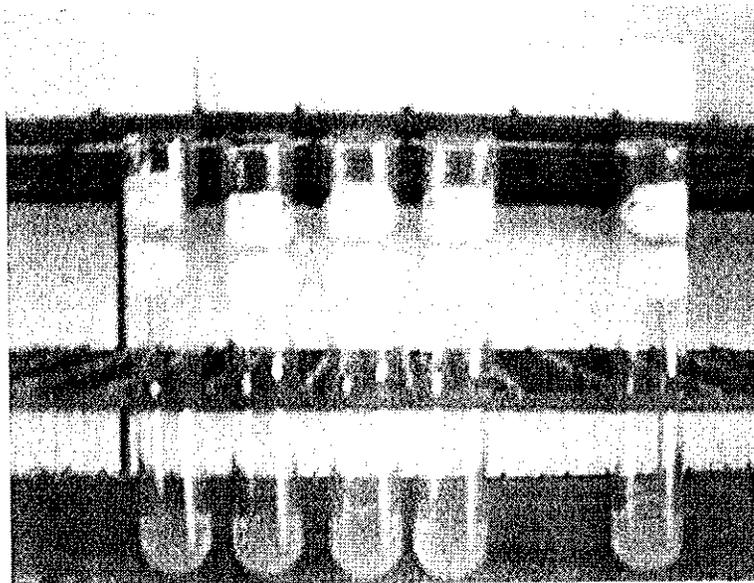
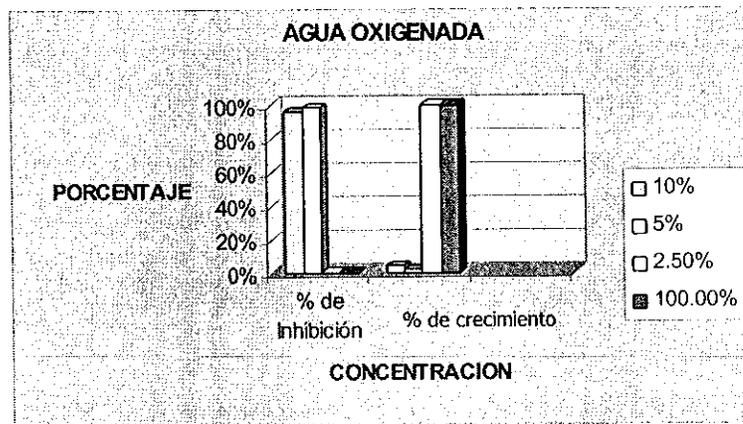
**Fig 17** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* aislada de pacientes con PD a diferentes concentraciones de ácido acético por el método de dilución en caldo

### PERMANGANATO DE POTASIO



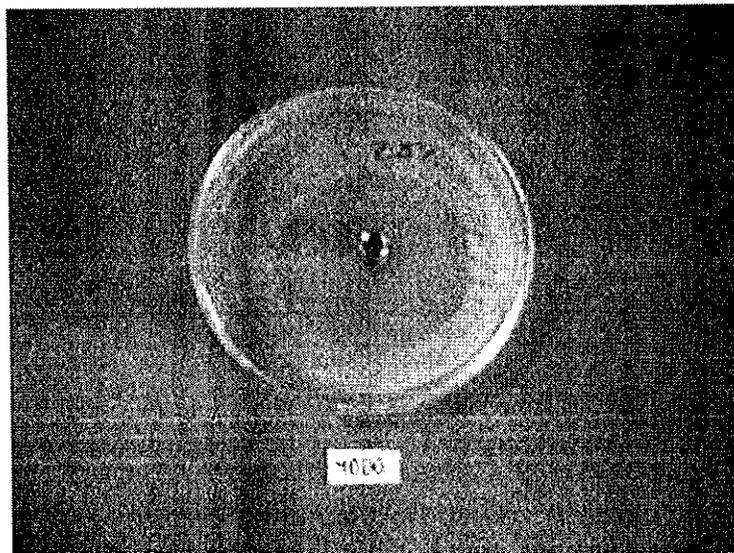
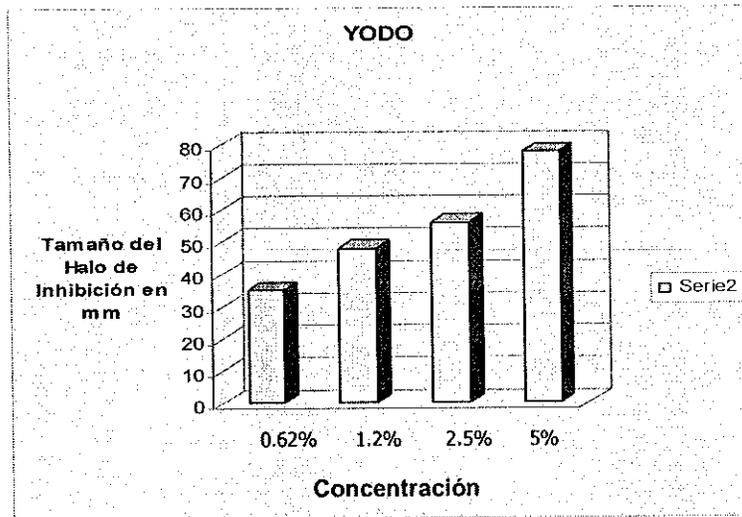
**Fig. 18** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* aislado de pacientes con PD a diferentes concentraciones de permanganato de potasio por el método de dilución en caldo

El agua oxigenada 10% y 5% se obtuvo una disminución a un 97.1% y 98.0% respectivamente en relación con el control y a la concentración de 2.5% la bacteria *S. aureus* mostró un crecimiento bacteriano similar al control (Fig 19).

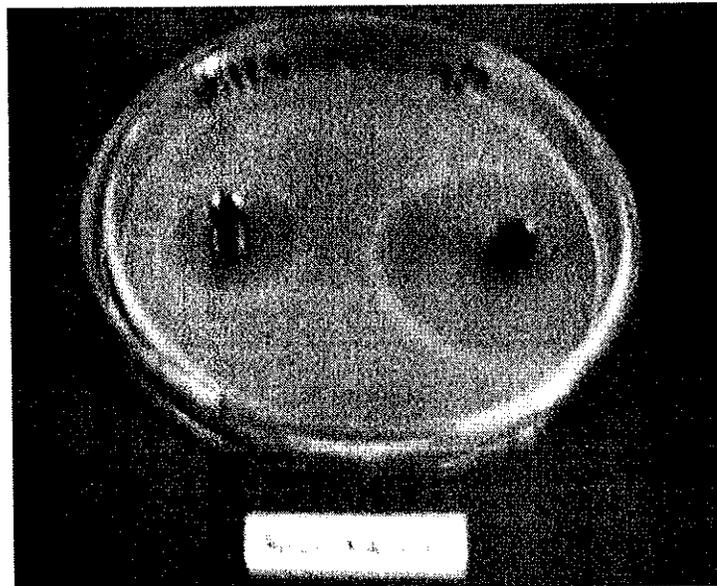
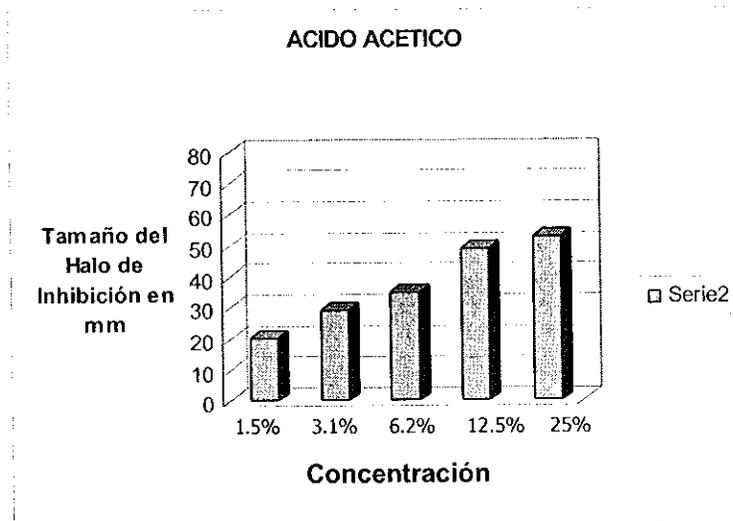


**Fig. 19** Determinación del porcentaje de inhibición y crecimiento de *Staphylococcus aureus* aislada de pacientes con PD a diferentes concentraciones de agua oxigenada por el método de dilución en caldo

Por el método de difusión en agar en la cepa aislada de pacientes con pie diabético se obtuvieron los siguientes datos con los diferentes agentes antimicrobianos. Se observó que con el yodo una relación a mayor concentración mejor halo de inhibición con las diferentes concentraciones aplicadas en este experimento 5%, 2.5%, 1.25% y 0.625%, se obtuvo un halo de inhibición de 78, 56, 48 y 35 mm (Fig. 20), con el ácido acético 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% y 1.56% la lectura obtenida del halo de inhibición son en relación a su concentración de 49, 43, 34, 26 y 20 mm respectivamente (Fig. 21).

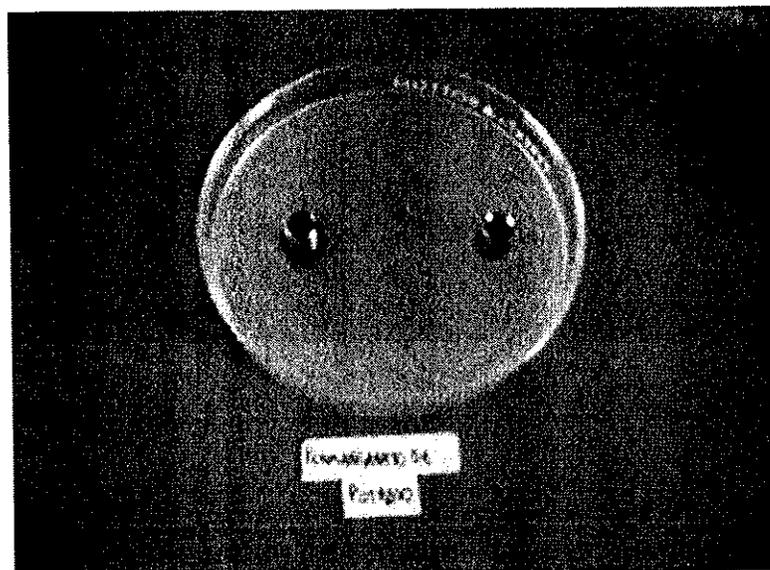
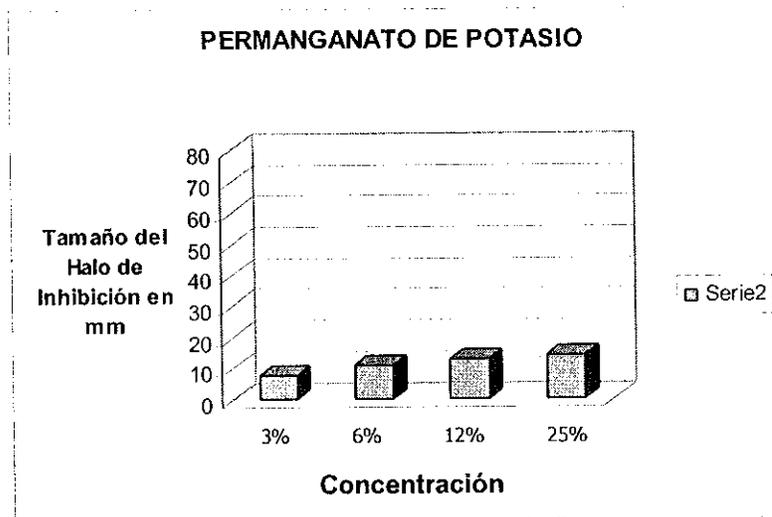


**Fig. 20** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* aislado de paciente con PD a diferentes concentraciones del yodo por el método de difusión en agar

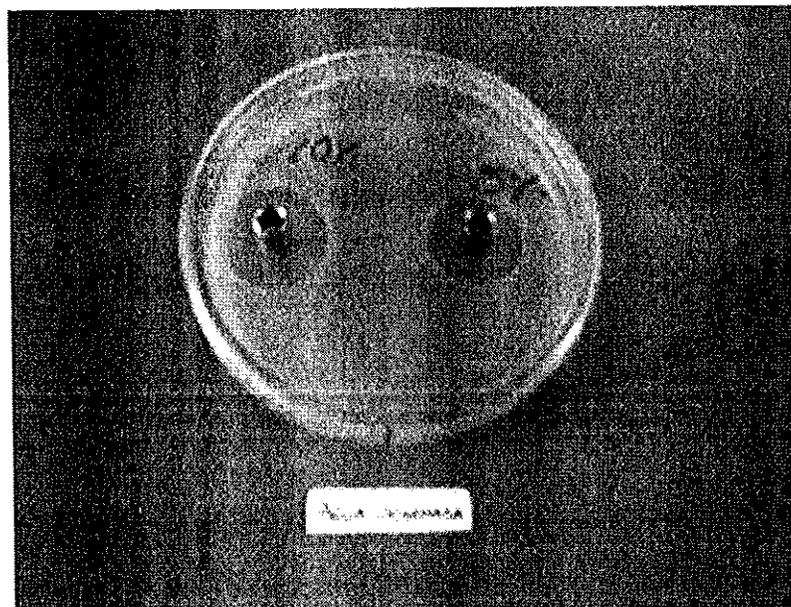
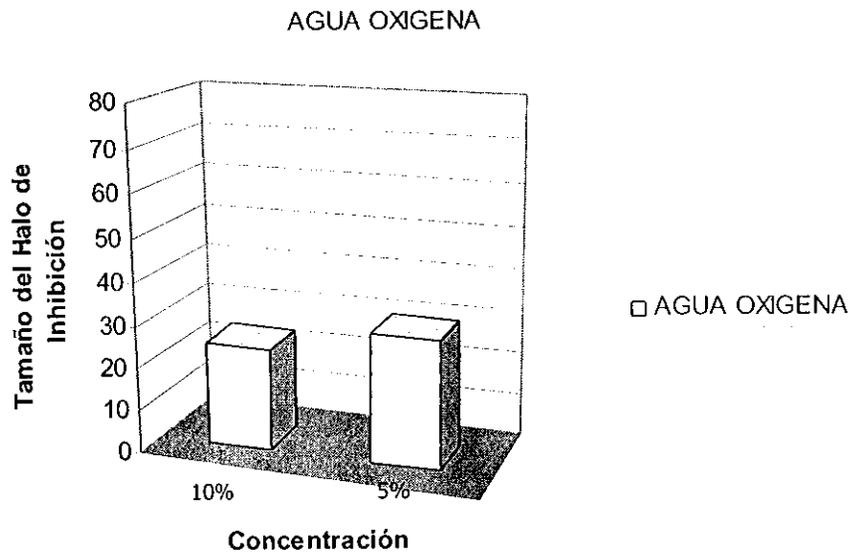


**Fig. 21** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* aislado de paciente con PD a diferentes concentraciones del ácido acético por el método de difusión en agar

Por otra parte los halos de inhibición al probar la bacteria de *S. aureus* aislada de pie diabético con permanganato de potasio 25, 12.5, 6.25 y 3.125% se obtuvo un halo de inhibición de 14, 13, 10 y 5 mm y el agua oxigenada 10% y 5% mostró una inhibición con halos de 24 y 30 mm (Fig. 22 y 23).



**Fig. 22** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* aislado de paciente con PD a diferentes concentraciones del permanganato de potasio por el método de difusión en agar



**Fig. 23** Determinación del halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* aislado de paciente con PD a diferentes concentraciones del agua oxigenada por el método de difusión en agar.

## DISCUSION

Los fenómenos de transferencia genética y la aparición de mutantes en las bacterias gram-positivas y gram-negativas, han dado lugar a la aparición de cepas resistentes a uno o varios antimicrobianos tanto en población general como en el ambiente hospitalario ha incrementado tal fenómeno (Toribio, 2005). Esto lleva a la necesidad de conocer el patrón de susceptibilidad de las cepas aisladas en los casos clínicos frente a los antimicrobianos disponibles, teniendo en consideración que tal patrón varía ampliamente, dependiendo del género, la especie y aún del sitio donde se aísla el microorganismo. Entre los grupos de bacterias que presentan patrones variables de susceptibilidad se encuentran las enterobacterias, bacilos gram negativos no fermentadores, los estafilococos, enterococos y *Pseudomonas*.

La sensibilidad de una bacteria a un antibacteriano determinado viene dada por la concentración mínima inhibitoria, que se define como la menor concentración de antimicrobiano capaz de inhibir el desarrollo de una cepa bacteriana dada. En las determinaciones de la CMI mediante métodos de dilución en caldo, se observa que a concentraciones altas del antiséptico no hay desarrollo de microorganismos por la ausencia de turbidez y al ir disminuyendo la concentración de este existe desarrollo bacteriano.

Los agentes quimioterapicos por ejemplo yodo, ácido acético, permanganato de potasio y agua oxigenada tienen una gran aplicación en heridas de forma tópica, los cuales son usados con frecuencia en hospitales como una alternativa en conjunto con los antibióticos para el tratamiento de infecciones entre ellas enfermedades de pie diabético, nuestros datos mostraron que a bajas concentraciones de yodo de 0.63%/mL en *S. aureus* aislado de pie diabético muestra un desarrollo bacteriano, sin embargo, a altas concentraciones de 1.25, 2.5 y 5% se obtuvo, una inhibición del 99.9%. Datos similares fueron reportados por Sánchez (2005) de la utilización de yodóforos desde 1949 que suelen ser compuestos en soluciones de yodo al 5% en prevención de infecciones y el tratamiento de heridas, actualmente son usados en cirugías por ser soluciones seguras y menos dolorosas.

Por otra parte, Manuj (2006) evaluó las características de la desinfección con soluciones estériles multipropósito utilizando el Betadine (yodo al 5%) contra *P.*

*aeruginosa* y *S. aureus.*, reportando que a esta concentración tiene una eficacia de un 5% de inhibición bacteriana por 72 horas.

El ácido acético es una sustancia útil, segura y de bajo costo, en nuestro estudio los datos mostraron que tiene gran actividad inhibitoria contra las cepas de *S. aureus* siendo uno de los más efectivos, logrando disminuir un 99.9% a las diferentes concentraciones probadas entre 25% al 1.56%, lo cual es comparable con Cárdenas (2000) donde lograron revertir los signos de infección por lo tanto los cultivos fueron negativos cuando se utilizaron lavados de tres veces al día sobre la herida con soluciones de ácido acético al 0.05%.

Sin embargo, hasta el momento han sido pocos estudios descritos sobre la utilidad del ácido acético en el tratamiento de infecciones lo más reportado es con *Pseudomonas aeruginosa*. Cárdenas y Ramírez reportan la utilización del ácido acético por algunos investigadores, se ha usado esta solución a una concentración del 1% para el manejo de heridas infectadas desde 1916 al ser empleado para la eliminación de *Bacillus piocyanus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Posteriormente Phillips en 1968 demostró su eficacia con ácido acético al 5% en tratamiento de heridas superficiales infectadas por *Pseudomonas aeruginosa*. Durante la guerra del Golfo Pérsico en 1993 se informó del tratamiento exitoso del ácido acético a concentraciones del 0.5 y 5% en heridas y quemaduras infectadas por esta bacteria. Los estudios *in vitro* indican la susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* a una concentración mínima inhibitoria del 2% del ácido acético (Cárdenas 2002 y Ramírez, 2000).

Ramírez (2000) realizó un estudio con pacientes que se tomaron biopsias del tejido infectado para realización de cultivo y cuantificación de unidades formadoras de colonias por gramo de tejido (UFC/gr). Algunos fueron tratados con ácido acético al 0.05% comparados con la solución de Dakin a 0.16%.

Se realizaron aislamiento y tipificación de cepas a partir de las heridas, se identificaron las siguientes: *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Concluyeron de acuerdo a lo observado que el ácido acético al 0.05% requiere menor tiempo para negativizar el cultivo, además es un antiséptico eficaz y seguro para el tratamiento de las infecciones del sitio incisional superficial, independientemente del agente infectante.

Hansson, (1995), realizó un experimento en úlceras en la pierna donde se aplicaron diferentes antisépticos por 15 minutos entre ellos: permanganato de potasio 0.015% y ácido acético 0.25%. El microorganismo presente con mayor frecuencia fue *Staphylococcus aureus* (79%). El permanganato de potasio reduce aproximadamente el 80% de bacteria en la úlcera (desde  $4.4 \times 10^6$  a  $0.9 \times 10^6$ ) y el ácido acético aproximadamente el 96% (desde  $6.3 \times 10^6$  a  $2.6 \times 10^5$ ), lo cual es comparado con nuestros datos donde encontramos que el ácido acético es efectivo con una concentración mínima inhibitoria y bactericida del 99.9%, utilizando concentraciones seriadas desde 25% hasta 1.56%, sin embargo, en un estudio preliminar a concentraciones más bajas de 1.25% hasta  $9 \times 10^{-3}$  no se logró una inhibición.

Benassatti (1994), demuestra que la solución del ácido acético al 0.5% durante 2 horas es eficaz para eliminar el 100% de *E. coli* en elementos semicríticos (pinzas y tetinas).

Posteriormente se determinó la concentración más efectiva para el permanganato de potasio desde 25 a 3.12% con un 99.9% a un 67% de inhibición en la cepa *S. aureus* aislada de pie diabético que mostró crecimiento a bajas concentración de 1.56% hubo desarrollo bacteriano, lo que hace suponer que las bacterias aisladas de pacientes diabéticos son mas sensibles a las concentraciones de permanganato de potasio que la cepa de referencia aislada de enfermedades nasofaríngeas que fue de 97.9 a 91.5% de inhibición y a 1.56% fue de 89.5%, sin embargo con este tipo de soluciones se tiene poca información sobre la aplicación, por lo tanto las concentraciones sobre heridas reportadas son de 1:5 000 y 1:10 000 como antisépticos de dermatosis (Sánchez, 2005), e Islas (1999) menciona la aplicación en diluciones 1:10 000 con efecto fungicida del permanganato de potasio.

Finalmente, el agua oxigenada en nuestro estudio fue el agente quimioterápico que presentó un menor efecto inhibitor de 98 al 97.1%, en las cepas bacterianas de *S. aureus*, las concentraciones mínimas inhibitorias probadas en este estudio fueron 5% y 10% respectivamente, no logró disminuir el crecimiento bacteriano a concentraciones menores de 2.5%. Esta solución posee propiedades antisépticas y generalmente se usan en formulaciones del 5 al 20%, este efecto se ve reflejado por ser un desinfectante químico por inmersión ya que se degrada rápidamente en oxígeno y agua, es menos eficaz al ser descompuesto por la catalasa de los tejidos.

Todos los agentes antimicrobianos son efectivos pero se observó una mayor eficacia con el ácido acético seguido por yodo y posteriormente permanganato de potasio y finalmente agua oxigenada, todos ellos actúan como antisépticos de tipo oxidante y desnaturalizan las proteínas de las células bacterianas.

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* pueden ser cuantitativas (se mide la mínima concentración capaz de inhibir el desarrollo de las bacterias) o semicuantitativas (las cepas se clasifican en resistencia o sensibilidad). Para propósitos prácticos, las pruebas semicuantitativas de difusión en agar proporcionan la información suficiente para servir de guía en el tratamiento.

Las pruebas más utilizadas para evaluar la sensibilidad de una bacteria a un agente antibacteriano están basadas en el enfrentamiento *in vitro* de la bacteria con distintas concentraciones del agente, en el micrométodo por difusión en placa de agar donde el antiséptico se difunde en el medio produciendo un gradiente de concentraciones. El crecimiento bacteriano se suprime dentro de una zona circular cuyo diámetro es función de la concentración mínima inhibitoria de la misma solución a probar.

En este método no existen referencias en relación con los quimioterápicos utilizados en este trabajo, sin embargo la mayoría de los estudios realizados han sido con antibióticos de uso en animales. De acuerdo con García (2002) menciona que los métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos pueden ser comparables. Ya que tan pronto el disco impregnado con el antibiótico o cilindro que contenga la solución antiséptica o antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar y la solución se difunde sobre el agar, formándose un gradiente de concentración, una vez transcurrido 18 a 24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria obtenida por el método de dilución.

Por lo tanto, existen datos utilizados en antibióticos los cuales son determinados con halos de inhibición con antibiogramas reportando en criterios de resistencia y sensibilidad para ciertos grupos de bacterias.

En base en esta información se tomó como criterio determinar cual es el agente quimioterápico más activo después de realizar las pruebas del ácido acético al 5%, mostró datos similares con los halos de inhibición de gentamicina a concentración

de 10 µgr. Nuestros datos de las pruebas con la cepa aislada de pie diabético fue más sensible que la gentamicina y la cepa de referencia de enfermedades nasofaríngeas.

Todos los antisépticos son efectivos por su actividad como agente oxidante, el de mayor actividad inhibitoria fue el ácido acético, yodo y posteriormente el permanganato de potasio, esta propiedad se debe a que estos quimioterápicos tienen la capacidad de alterar grupos funcionales y actuar directamente en las proteínas de los microorganismos. El menos efectivo es fue el agua oxigenada a pesar de ser un antiséptico que va directamente sobre lípidos y proteínas de las bacterias (Sánchez, 2005), pero quizá su baja acción inhibitoria se debe a que se degrada rápidamente en oxígeno y agua, además Cárdenas (2000) afirma que no influye negativamente sobre la curación de heridas ya que es útil como agente debridante, no se conoce que inhiba significativamente el desarrollo bacteriano.

Los dos tipos de métodos son efectivos, el macrométodo por diluciones seriadas nos proporciona la concentración mínima inhibitoria de cada uno de los agentes antimicrobianos como ha sido explicado con anterioridad y a su vez haciendo la inoculación de cada una de las cepas podemos determinar la concentración mínima bactericida y determinar el porcentaje de inhibición o crecimiento de la cepa utilizada para el ensayo.

Sin embargo, el micrométodo aporta información de resistencia o sensibilidad de cada agente quimioterápico. Los que puede ser de gran aplicación en soluciones que son utilizadas de forma cotidiana en nuestro medio, no existe la suficiente información sobre la aplicación en pacientes con infecciones bacterianas debido al uso indiscriminado de los antibióticos que repercuten con efectos secundarios en su salud y por lo que es necesario hacer uso de soluciones de forma tópico sobre las heridas como el es caso de pacientes con diabetes mellitus (DM).

En este momento, las causas más importantes de morbimortalidad, son las complicaciones crónicas de la Diabetes, en todo el mundo se le identifica como un problema de alta prioridad ya que afecta a un porcentaje considerable de la población, dentro de las mismas se encuentra el pie diabético que se presenta de un 15 a un 20%, en México la diabetes mellitus es la tercer causa de muerte (INEGI, 2005) y más del 80% de las amputaciones en miembros inferiores son por causa de DM (Sarmiento, 2005). Existen datos epidemiológicos que habla de la incidencia del

pie diabético, entre el 50 y 95% de los casos de amputaciones de extremidades inferiores de causa no traumática (Della, 1994), La mitad de los diabéticos sufre un episodio de infección en sus pies durante su vida, así como la gangrena es 60 veces mas frecuente en la población no diabética por arriba de los 50 años: las angiopatias se presentan en 80% de los casos con más de 10 años de evolución diabética.

Los principales microorganismos que causan infección en pie diabético son: *S.aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, los cuales han desarrollado resistencia algunos antibióticos, por con secuencia existe la facilidad de reinfección (Delaat, 1983 y Sarmiento, 2005), por lo que es necesario conjuntar el uso de estos compuestos con los antisépticos de forma tópica.

A pesar de que se han buscado alternativas, en México se carece de estadísticas confiables respecto a la frecuencia de esta complicación (Islas, 1999). La encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas demostró una prevalencia de 0.8% de amputaciones y en el grupo de edad de 60 a 69 años de 20.7% para pacientes con diabetes mellitus, en donde el riesgo de complicaciones vasculares o infecciosas a nivel del pie se incrementan considerablemente.

Se confirma en nuestro medio que más de la mitad de los pacientes ingresados en un servicio de cirugía vascular sufre de diabetes, por ejemplo en hombres menores de 80 años existe un porcentaje del 67% y el 80% en mujeres con gangrena arteriosclerótica debidas a esta enfermedad (Della, 1994).

Una de cada cinco admisiones hospitalarias de pacientes diabéticos es debida a lesiones en el pie, y se calcula que el costo de atención se incrementa notablemente, ya que, se amplía el tiempo de hospitalización por encima de cualquier otra complicación de la diabetes. El riesgo de amputaciones es 15 veces mayor que en pacientes no diabéticos, ocupa un 50 a 70% de las amputaciones no traumáticas que se efectúan en hospitales generales (Islas, 1999).

## CONCLUSIONES

- La concentración mínima inhibitoria de cada antimicrobiano contra *S. aureus* aislado de pie diabético fue de:  
**Ácido acético (0.25%), yodo (0.6%), permanganato de potasio (3%) y agua oxigenada (2.5%).**
- La cepa de *S. aureus* aislado de pacientes con pie diabético fue sensible a:  
**Ácido acético** a concentraciones de 25%, 12.5%, 6.25% 3.125% y 1.56%,  
**yodo** 5%, 2.5%, 1.25% y 0.625%, **agua oxigenada** 10%, 5% y  
**permanganato de potasio** 25 a 3.12%,
- La concentración mínima bactericida de *S. aureus* aislado de pacientes con pie diabético fue para el **permanganato de potasio** a las concentración 25 y 12.5%, **ácido acético** a 25% a 1.56%, **yodo** de 5 y 0.6%. En **agua oxigenada** no se logró determinar CMB.
- Los dos métodos utilizados, concentración mínima inhibitoria y por difusión en agar son confiables para determinar la sensibilidad de *S. aureus* aislado de pacientes con pie diabético.
- El antimicrobiano a las concentraciones probadas el más sensible a la cepa de *S. aureus* aislado de pacientes con pie diabético fue al **ácido acético** y al más resistente fue al **agua oxigenada**.

## RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

Con base a los resultados obtenidos en cada uno de los métodos de la sensibilidad de *S. aureus* y tomando en cuenta que es uno de los agentes causales de infecciones cutáneas principalmente en pacientes con pie diabético, se recomienda la aplicación de forma tópica en las heridas de los diferentes antisépticos probados en este estudio: yodo, ácido acético, agua oxigenada y permanganato de potasio.

Por lo que resulta necesario implementar en los laboratorios de microbiología la identificación de características de la actividad antimicrobiana de los quimioterápicos empleados en nuestro medio.

Lo cual confirma la utilización de agentes antimicrobianos aunado a recomendaciones específicas para prevenir las infecciones bacterianas como son:

- 1.- Los niveles de glucosa sanguínea.
- 2.- Higiene y cuidado de pies (temperatura, no usar sustancias químicas, zapato cómodo).
- 3.- Revisión periódica de posibles focos de infección en los pies.

La práctica de medidas preventivas simples que incluyen la evaluación clínica periódica del paciente y su educación en una rutina de cuidados, mejora la calidad de vida, así mismo reduce de manera importante la frecuencia de los problemas graves como el proceso de infección y amputación de las extremidades inferiores (Alpizar, 2003).

## BIBLIOGRAFIA

- Alpizar, S.M., (2003), Guía para el manejo integral del paciente diabético, 2ª edición, El Manual Moderno, México, Pag. 147-164.
- Aragón, S., J., F., (2002), El pie diabético, 2ª edición, Masson, S.A., España, Pag., 99-115.  
Argentina,
- Benassatti, Haydée, E., Marfil., Margarita, L., y Marcelo, O., (1994), Ácido acético: su capacidad desinfectante, 28(3):411-4119.
- Cárdenas, L., L., E., Delgadillo., V., C., Athié, A., A., J., Caloca, V., J., y García, D., T., (2000), Estudio comparativo de la solución de Dakin modificada vs yodopovidona en el tratamiento de las heridas infectadas de pacientes con apendicectomía, Cirujano General 22(3): 207-211.
- Cárdenas, L., L., y Ramírez, S., M., (2002), Eficacia del ácido acético en el tratamiento de las infecciones del sitio quirúrgico después de cirugía abdominal, Revista Gaceta Médica, Vol 1;1 <http://www.gacetamedica.8m.com/cirugia5.htm>.
- Ciró, O., R., (2003), Enfermería Moderna, 1ª edición, El ateneo, Argentina, Pag., 271.
- Contran S. Ramzi, Vinay, K., M., D., Path, F., R., C., y Tucker, C., R., F.,(2000), Patología Estructural y Funcional, 6º edición, McGrawHill, Colombia, Pag. 960-966.
- Delaat, A.N.C., (1983), Microbiología, 2º edición, Nueva Editorial Interamericana, México, Pag. 117- 122.
- Della, B., G., (1994), Pie diabético, Revista de la sociedad de medicina interna de Buenos Aires, 331:854-60.
- Díaz, R., Gamazo, C., y López, G., I., (2003), Manual Práctico de Microbiología, 2º edición, Masson, Pag. 136-145.
- Fuselier, A., P., García., S., L., Procop., W., G., Thomson., B., R., y Cork K., M., (2004), 11 edición, Diagnóstico microbiológico, Médica Panamericana, S.A., Argentina., Pag., 221- 267.

- García R., J., A., Cantón, R., García, S., J., E., Gómez-Lus., M., L., Martínez, M., L., Rodríguez-Avial, C. y Vila, J., (2000), Procedimientos en microbiología clínica, recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, <http://ingenieria.udea.edu.co/grupos/microbiol/control2.ppt#61>.
- Gill V., G., Pickup, C.J. Y Williams, G., (2001), Diabetes aspectos difíciles y controvertidos, sin edición, Ars Médica, España, Pag. 129-146.
- Granados, P. R., y Villaverde, P. M.C., (1997), Microbiología, Paraninfo,
- Hansson, c., Faergemann, J., (1995), The effect of antiseptic solutions on microorganisms in venous leg ulcers, *Acta Derm Venereol*, 75(1): 31-33.
- [http://www.galderma.com.mx/pac/Pac5/d5\\_p43.htm](http://www.galderma.com.mx/pac/Pac5/d5_p43.htm)
- <http://www.piediabético.com>
- Ingraham, J.L., Ingraham, C.A., y Prentiss Harriett, (1998), Introducción a la Microbiología, Reverté, S.A., España, Pag. 644.
- Instituto nacional de estadística geográfica e informática (INEGI), en el anuario de estadística de los estados unidos mexicanos, estadísticas demográficas de cuadernos No 16, Defunciones generales, Edición 02 de noviembre del 2005, Pag. 1.
- Islas, A.S., y Lifshitz, G.A., (1999), Diabetes Mellitus, 2ª edición, McGraw-Hill Interamericana, México, Pag. 277-291.
- Kozier, B., Erb., G., Blais, K., Jomson, Y., J., y Temple, S., J., (2000), Técnicas en enfermería clínica, 2ª edición, McGrawHill, España, Pag., 273.
- Manuj, K., Gunderson, C., Trouppe, J., y Auber, M., (2006), Efficacy of contac lens disinfecting solutions against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Eye Contac Lens*, 34(4): 216-218.
- Ramirez, S., M., E., Cárdenas, L., L., E., torres, G., B., Domínguez, J., G., L., Athie, A., a., J., Mijares, G., J., M., (2000), Estudio comparado de la utilidad del ácido acético vs solución de Dankin modificada en infecciones del sitio incisional, 22(4); 325-328.
- Sánchez, S.L. y Sáenz, A.E., (2005), Antisépticos y Desinfectantes, *Dermatología Peruana*, Vol., 15;82-103.

- Sarmiento, G.D., Bracamonte, M., Carmargo, M. y Hurazo, J., (2005), Gérmenes más frecuentes encontrados en pacientes con pie diabético en el hospital IVSS Dr. Rafael Calles Sierra en los años 1987-2000 Punto Fijo, Estado Falcón, Revista Venezolana [http://www.indexmediso.com/publicaciones/journal/revistas/venezuela/cardon/edicion4/pie\\_diabetico.htm](http://www.indexmediso.com/publicaciones/journal/revistas/venezuela/cardon/edicion4/pie_diabetico.htm).
- Schaechter., M., Ph., D., Medoff, G., M., D., Eisenstein, I., B., M., D., y Guerra, M., (1994), Microbiología mecanismos de las enfermedades infecciosas, 2º edición, Panamericana, Argentina, Pag. 207.
- Tortora, J., Garard y Reynolds S., G., (2002), Principios de anatomía y fisiología, 9ª edición, Oxford, México, Pag. 611.
- Toribio, M., S., Oriani, D., S., Fernandez, J., G. y Skliar, M., I., (2005), Actividad antimicrobiana de *Verbesina encelioides*, In. Veterinary, vol 7(1):41-45.
- Wagner FW (1981). The dysvascular foot, a system for diagnostics de treatment. Foot Ankle;2: 64-122.

BIBLIOTECA CUCBA